



Universidad de Valladolid

**PROGRAMA DE DOCTORADO EN INVESTIGACIÓN EN
CIENCIAS DE LA SALUD**

TESIS DOCTORAL:

**FACTORES AMBIENTALES E
INMUNOLÓGICOS ASOCIADOS A LA
GRAVEDAD DE LA INFECCIÓN POR
VIRUS RESPIRATORIO SINCITAL EN
PEDIATRÍA**

Presentada por María del Carmen Goetz Sanz
para optar al grado de

Doctora por la Universidad de Valladolid

Dirigida por Salvador Resino García, Isidoro
Martínez González y Vanesa Matías del Pozo.

Agradecimientos

En estas líneas pretendo sintetizar mi sincera gratitud a todas aquellas personas que han contribuido de algún modo a la elaboración de esta tesis doctoral.

En primer lugar, quiero expresar mi agradecimiento a los directores de la misma, Salvador, Isidoro y Vanesa. A Vanesa por confiar en mí para este trabajo y ofrecerme la posibilidad de desarrollar esta tesis. A los tres por sus consejos, su accesibilidad y disponibilidad. Gracias por iniciarme en la investigación.

A todos los niños y padres que han participado en este estudio, gracias por hacerlo posible.

A todos los compañeros de residencia, en especial a Silvia, Alejandra y Lourdes, por vuestra colaboración en este trabajo y por todos los buenos momentos juntas. A Elsa, Elena Pérez, Merche Garrido y Marisa, por enseñarme gran parte de la especialidad y ejemplificar la pediatría que me gustaría ejercer. A mis actuales compañeras de trabajo, María y Chus, por la posibilidad de desarrollar mi investigación trabajando con vosotras. A Merche, por su cariño e ilusión. Gracias a las tres por hacer que los inicios de mi etapa de pediatra hayan sido de la mejor manera.

A mis amigos, especialmente a Bea, Rocío, Marta, Nico, Cris, Martín e Irene, por estar presentes durante este proyecto y celebrar cada logro.

A mis padres, Mari Carmen y Eduardo por su incansable esfuerzo para darnos la posibilidad de cumplir nuestros objetivos, por anteponernos siempre y por el sacrificio que han hecho todos estos años por nosotros. A mis hermanos Javi y Jimmy, por animarme en estos años, apoyarme e interesarse por este trabajo. A mis abuelos, a mis tíos y a mis primos. Con especial cariño esta tesis es para la Lala, por ser, junto a mi madre, el mejor ejemplo que se pueda tener, por el cariño, cuidados, educación y valores que me ha transmitido. Al Lalo, por ser referente de trabajo y esfuerzo, por su compromiso.

A Rodri, por recorrer este y muchos otros caminos juntos. Por hacer que alcanzar mis metas sea más fácil y por acompañarme y alentarme en muchos proyectos. Por tu apoyo y tu cariño.

Gracias a todos de corazón.

Índice

Abreviaturas	1
Índice de tablas	7
Índice de figuras	11
Resumen.....	15
Abstract	21
1. Introducción	27
1.1. Virus respiratorio sincitial: microbiología	29
1.1.1. Clasificación	29
1.1.2. Genoma	30
1.1.3. Morfología y proteínas	31
1.1.4. Ciclo replicativo.....	32
1.2. Transmisión	33
1.3. Respuesta inmune.....	34
1.3.1. Respuesta inmune innata	34
1.3.2. Respuesta inmune adaptativa	36
1.3.3. Inmunopatología	37
1.3.4. Polimorfismos en genes inmunes que afectan a la gravedad de la infección.....	39
1.4. Epidemiología.....	39
1.4.1. Factores ambientales.....	41
1.4.2. Factores individuales	41
1.5. Clínica	45
1.6. Métodos diagnósticos	48
1.7. Tratamiento.....	48
1.8. Prevención.....	49
1.8.1. Medidas higiénicas o no farmacológicas	49
1.8.2. Vacunas.....	50
1.8.3. Anticuerpos monoclonales	50
1.9. Importancia de los factores de riesgo y biomarcadores en la gravedad de la infección	51
2. Hipótesis.....	53
3. Objetivos	57
4. Material y métodos	61
4.1. Población de estudio.....	63
4.1.1. Población 1: Ámbito poblacional.....	63
4.1.2. Población 2: Ámbito hospitalario	63
4.2. Fuentes de datos.....	65

4.2.1.	Conjunto mínimo de datos básico	65
4.2.2.	Agencia Española de Meteorología	66
4.2.3.	Datos clínicos	67
4.3.	Escalas de gravedad	67
4.3.1.	Puntuación de Bronquiolitis de Sant Joan de Déu.....	68
4.3.2.	Puntuación de Wood Downes	69
4.4.	Ensayos de laboratorio.....	69
4.5.	Análisis estadístico	70
4.5.1.	Asociación entre factores ambientales e ingreso hospitalario	70
4.5.2.	Asociación entre expresión génica y severidad de la bronquiolitis (hipoxemia y progresión desfavorable)	71
5.	Resultados.....	73
5.1.	Artículo 1: Environmental factors linked to hospital admissions in young children due to acute viral lower respiratory infections: A bidirectional case-crossover study.....	75
5.2.	Artículo 2: Reduced antiviral gene expression and elevated CXCL8 expression in peripheral blood are associated with severe hypoxemia in RSV-infected children.....	78
5.3.	Artículo 3: Low peripheral blood CCL5 and TNF α gene expression is associated with unfavorable progression of respiratory syncytial virus bronchiolitis in infants.....	81
6.	Discusión	85
6.1.	Ámbito poblacional	88
6.1.1.	Previo al ingreso: Riesgo de ingreso hospitalario	88
6.2.	Ámbito hospitalario.....	91
6.2.1.	En el momento del ingreso: Riesgo de hipoxemia	91
6.2.2.	Durante el ingreso: Riesgo de evolución desfavorable	94
6.3.	Sinopsis.....	96
6.4.	Limitaciones de la investigación.....	98
7.	Conclusiones	101
8.	Bibliografía	105
9.	Anexos.....	121
9.1.	Anexo 1. Hoja de recogida de datos.....	123

Abreviaturas

- AAP:** Academia Americana de Pediatría, del inglés *American Academy of Pediatrics*
- AEMET:** Agencia Española de Meteorología
- APC:** Células presentadoras de antígeno, del inglés *antigen-presenting cell*
- ARN:** Ácido ribonucleico
- ARNm:** Ácido ribonucleico mensajero
- BRAS:** Escala de riesgo de ingreso por bronquiolitis, del inglés *Bronchiolitis Risk of Admission Score*.
- BROSJOD:** Escala de bronquiolitis de Sant Joan de Déu, del inglés *Bronchiolitis Score of Sant Joan de Déu*
- CCL5:** citoquina (motivo C-C) ligando 5, también denominada RANTES
- CCL3:** citoquina (motivo C-C) ligando 3, también denominada MIP-1 α
- CCL4:** citoquina (motivo C-C) ligando 4, también denominada MIP-1 β
- CIE-9-MC:** Clasificación Internacional de Enfermedades 9ª edición; Modificación Clínica
- CMBD:** Conjunto Mínimo Básico de Datos
- CO:** Monóxido de carbono
- Ct:** Umbral de ciclo, del inglés *cycle threshold*
- CXCL8:** Citoquina (motivo C-X-C) ligando 8, también denominado IL8.
- EDTA:** Ácido etilendiaminotetraacético, del inglés *ethylenediamine tetraacetic acid*
- EGFR:** Factor epidérmico de crecimiento, del inglés *epidermal growth factor*
- EMA:** Agencia Europea de Medicamentos, del inglés *European Medicines Agency*
- F:** Proteína de fusión del virus respiratorio sincitial
- FDA:** Administración de Alimentos y Medicamentos, del inglés *Food and Drug Administration*
- FiO₂:** Fracción inspirada de oxígeno
- G:** Proteína de unión al receptor del virus respiratorio sincitial
- HGF:** Factor de crecimiento de hepatocitos, del inglés *hepatocyte growth factor*
- HSPGs:** Proteoglicanos de heparán sulfato, del inglés *heparan sulfate proteoglycans*
- IC:** Intervalo de confianza
- ICAM-1:** Molécula de adhesión intracelular 1, del inglés *intercellular adhesion molecule 1*

IFIT: Proteína inducida por interferón con repeticiones tetratricopeptídicas, del inglés *IFN-induced protein with tetratricopeptide repeats*.

IFN: Interferón

IFNAR: Receptor de interferón alfa y beta, del inglés *interferon alpha and beta receptor*

IL: Interleuquina

IRF: Factor regulador de interferón, del inglés *interferon regulatory factor*

IRAB: Infección respiratoria aguda del tracto inferior, siglas de infección respiratoria aguda baja.

ISGs: Genes estimulados por interferón, del inglés *interferon-stimulated gene*.

JCR: Journal Citation Reports.

L: ARN polimerasa del virus respiratorio sincitial

LPM: Latidos por minuto

LTC4: Leucotrieno 4

LRTI: Infección respiratoria del tracto inferior, del inglés *lower respiratory tract infection*.

M: Proteína de la matriz del virus respiratorio sincitial

MIP-1 α : Proteína inflamatoria de macrófagos 1 alfa, del inglés *macrophage inflammatory protein-1 alpha*

MIP-1 β : Proteína inflamatoria de macrófagos 1 beta, del inglés *macrophage inflammatory protein-1 beta*

M-WCAS: Escala clínica de asma de Wood modificada, del inglés *Modified Wood's Clinical Asthma Score*

N: Nucleoproteína del virus respiratorio sincitial

NET: Trampas extracelulares de neutrófilos, del inglés *neutrophil extracellular traps*

NF- κ B: Factor nuclear- κ B, del inglés *nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells*

NLRs: Receptores tipo NOD, del inglés *NOD-like receptors*

NO₂: Dióxido de nitrógeno

NS: Proteínas no estructurales del virus respiratorio sincitial

O₃: Ozono

OMS: Organización Mundial de la Salud

OPLS-DA: Análisis discriminante de mínimos cuadrados parciales ortogonales, del inglés *orthogonal partial least squares-discriminant analysis*

OR: Odds ratio

P: Fosfoproteína del virus respiratorio sincitial

PCR: Reacción en cadena de la polimerasa, del inglés *polymerase chain reaction*

PD-1: Proteína de muerte celular programada 1, del inglés *programmed cell death protein 1*

PERN: Red de Investigación de Emergencias Pediátricas, del inglés *Paediatric Emergency Research Network*

PLAUR: Receptor del activador del plasminógeno tipo uroquinasa, del inglés *plasminogen activator, urokinase receptor*.

PM: Partículas en suspensión, del inglés *particulate matter*

PM2.5: Partículas en suspensión de hasta 2.5 µm de tamaño, en inglés *particulate matter 2.5*

PM10: Partículas en suspensión de hasta 10 µm de tamaño, en inglés *particulate matter 10*

PRP: Receptores de reconocimiento de patrones, del inglés *pattern recognition receptor*

QPCR: PCR cuantitativa, del inglés *quantitative polymerase chain reaction*

RANTES: Citoquina CCL5, del inglés *regulated and normal T cell expressed and secreted*

RCS: Escala Clínica Respiratoria, del inglés *Respiratory Clinical Score*

RIG-I: Gen I inducible por ácido retinoico, del inglés *retinoic-acid-inducible gene I*

RLRs: Receptores tipo RIG-I, del inglés *RIG-I like receptors*

RPM: Respiraciones por minuto

RS: Escala Respiratoria, del inglés *Respiratory Score*

RSS: Escala de Severidad Respiratoria, del inglés *Respiratory Severity Score*

RT-PCR: Reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real, del inglés *real time polymerase chain reaction*

SH: Proteína pequeña hidrófoba del virus respiratorio sincitial

SNS: Sistema Nacional de Salud

SO₂: Dióxido sulfúrico

SP-D: Proteína de surfactante D, del inglés *surfactant protein D*

SpO₂: Saturación de oxígeno periférico, del inglés *peripheral capillary oxygen saturation*

TLRs: Receptores tipo toll, del inglés *toll-like receptors*

TNF α : Factor de necrosis tumoral alfa, del inglés *tumor necrosis factor α* .

VIP: Importancia de la variable en la proyección, del inglés *variable importance in projection*

VRS: Virus respiratorio sincitial

WDS: Escala de Wood-Downes, del inglés *Wood-Downes Score*

Índice de tablas

Tabla 1: Escala de Bronquiolitis de Sant Joan de Déu (BROSJDD).

Tabla 2: Escala de Wood Downes (WDS).

Índice de figuras

Figura 1. Taxonomía del VRS.

Figura 2. Mapa del genoma a escala aproximada del VRS en sentido 3'-5'.

Figura 3. Representación esquemática de la estructura del VRS.

Figura 4. Ciclo replicativo del VRS.

Figura 5. Viabilidad del VRS en distintas superficies.

Figura 6. Principales vías activadas en la respuesta inmune innata temprana frente a la infección por VRS

Figura 7. Representación esquemática de las fases clínicas de la infección por VRS

Figura 8 Complicaciones de la infección severa por VRS, ordenadas de la más comúnmente observada a la menos común

Figura 9 Representación esquemática de los resultados obtenidos

Resumen

Introducción:

El virus respiratorio sincitial (VRS) es la principal causa de infección respiratoria aguda del tracto inferior (IRAB) en niños menores de dos años. Diversos factores, intrínsecos y extrínsecos al individuo condicionan la gravedad del cuadro.

Objetivos:

- 1.- Evaluar la asociación de las condiciones meteorológicas y la contaminación con los ingresos hospitalarios por IRAB virales en niños menores de dos años.
- 2.- Analizar si la expresión de genes inflamatorios y antivirales en sangre periférica de niños menores de dos años con bronquiolitis por VRS se asocia con hipoxemia y con progresión de la enfermedad.

Material y métodos:

Se diseñaron tres estudios:

- 1.- Factores ambientales y contaminantes: Se llevó a cabo un estudio bidireccional cruzado con casos de IRAB viral en 30.445 niños menores de dos años, utilizando datos del Conjunto Mínimo Básico de Datos (CMBD) entre 2013 y 2015. Los datos ambientales se obtuvieron de la Agencia Estatal de Meteorología (AEMET). La asociación se evaluó mediante regresión logística condicional.
- 2.- Expresión de genes inflamatorios y antivirales e hipoxemia: Se realizó un estudio transversal con 121 niños infectados por VRS que precisaron ingreso hospitalario entre 2015 y 2023. Se extrajo ARN total de muestras de sangre y se cuantificó la expresión génica (*IL-6*, *TNF α* , *CXCL8*, *ISG15*, *IFIT1*, *RIGI*, *IFN β* , *CCL5* y *CXCL10*) mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR). La variable de resultado fue tener hipoxemia grave (saturación de oxígeno periférico (SpO₂) \leq 90%) en el momento del ingreso hospitalario. El análisis de asociación se realizó mediante un gráfico de volcán, regresión logística ajustada por variables clínicas relevantes y análisis discriminante de mínimos cuadrados parciales ortogonales (OPLS-DA).
- 3.- Expresión de genes inflamatorios y antivirales y progresión de bronquiolitis: Se diseñó un estudio prospectivo con 117 niños menores de dos años entre 2015 y 2023. Los niveles de expresión de nueve genes inflamatorios y antivirales se cuantificaron mediante PCR. Los pacientes se clasificaron según su evolución durante el ingreso en

dos grupos: (i) no progresión (n=74) y (ii) progresión desfavorable (n=43). El análisis de asociación se realizó mediante regresión logística, ajustado por edad, sexo, prematuridad y gravedad.

Resultados:

Estudio 1: Temperaturas más bajas una semana antes del ingreso hospitalario ($q=0,012$) y una mayor humedad relativa una y dos semanas antes del evento ($q=0,003$ y $q<0,001$, respectivamente) se asociaron con una mayor probabilidad de ingresos. Además, niveles más altos de NO_2 dos semanas antes del evento también se asociaron con ingresos hospitalarios ($q<0,001$). Finalmente, concentraciones más altas el día del evento de SO_2 (en comparación con retraso de una semana ($q=0,026$) y dos semanas ($q<0,001$)), O_3 (en comparación con el retraso de 3 días ($q<0,001$), una semana ($q<0,001$) y dos semanas ($q<0,001$)) y PM_{10} (en comparación con el retraso de dos semanas ($q<0,001$)) se relacionaron con un aumento de las probabilidades de ingresos hospitalarios por IRAB viral.

Estudio 2: Encontramos que *CXCL8* estaba sobreexpresada (>2 veces; $q < 0,05$) en niños con hipoxemia grave, mientras que *ISG15*, *IFIT1*, *RIGI*, *IFN β* , *CCL5* y *CXCL10* estaban infraexpresados (<-2 veces; $q < 0,05$). Estas asociaciones se confirmaron mediante regresión logística ajustada. El análisis OPLS-DA mostró que las expresiones génicas de *CXCL8*, *ISG15*, *IFIT1*, *RIGI* y *CXCL10* tenían valores de importancia variable en proyección (VIP) ≥ 1 , siendo las características más relevantes.

Estudio 3: Modelos logísticos univariantes mostraron que la expresión de *TNF α* y *CCL5* al inicio del estudio se asociaba inversamente con una progresión desfavorable de la bronquiolitis por VRS. Esto se confirmó mediante análisis multivariantes: *TNF α* (aOR=0,8; IC 95%=0,64 - 0,99; $p=0,038$) y *CCL5* (aOR=0,76; IC 95%=0,62 - 0,93; $p=0,007$).

Conclusiones:

1.- La exposición a factores ambientales a corto plazo, como las condiciones climáticas y los contaminantes, está relacionada con un aumento en las hospitalizaciones por IRAB viral.

2.- Un desequilibrio en la respuesta innata que favorece la inflamación sobre la defensa antiviral podría contribuir a la hipoxemia grave en niños infectados por VRS.

3.- Una respuesta inmune inadecuada al VRS, caracterizada por bajos niveles de expresión génica de *CCL5* y *TNF α* en sangre periférica, se asoció con una evolución desfavorable de la bronquiolitis por VRS.

Palabras clave: enfermedad viral del tracto respiratorio inferior, pediatría, factores ambientales, contaminación, virus respiratorios, virus respiratorio sincitial, bronquiolitis, expresión génica, *TNF α* , *CCL5*, inmunidad innata, sangre periférica.

Abstract

Introduction:

Respiratory syncytial virus (RSV) is the main cause of acute lower respiratory tract infection (LRTI) in children under two years of age. Several factors, intrinsic and extrinsic to the patient, determine the severity of the disease.

Objectives:

- 1.- To evaluate the association of meteorological conditions and air pollution with hospital admissions for acute viral LRTI in children under two years of age.
- 2.- To analyze whether the expression of inflammatory and antiviral genes in the peripheral blood of children under two years of age with RSV bronchiolitis is associated with severe hypoxemia and disease progression.

Material and methods:

Three studies were designed:

- 1.- Environmental factors and pollutants: A bidirectional case-crossover study was conducted on 30,445 children with acute LRTI under two years of age, using data from the Minimum Basic Data Set (CMBD) between 2013 and 2015. Environmental data were obtained from the State Meteorological Agency (AEMET). The association was evaluated using conditional logistic regression.
- 2.- Expression of inflammatory and antiviral genes and hypoxemia: A cross-sectional study was conducted on 121 RSV-infected children requiring hospital admission between 2015 and 2023. Total RNA was extracted from blood samples, and gene expression (*IL-6*, *TNF α* , *CXCL8*, *ISG15*, *IFIT1*, *RIGI*, *IFN β* , *CCL5*, and *CXCL10*) was evaluated by quantitative polymerase chain reaction (qPCR). The outcome variable was severe hypoxemia (peripheral oxygen saturation (SpO₂) \leq 90%) at the time of hospital admission. Association analysis was performed using a volcano plot, logistic regression adjusted for relevant clinical variables, and orthogonal partial least squares discriminant analysis (OPLS-DA).
- 3.- Expression of inflammatory and antiviral genes and progression of bronchiolitis: A prospective study was conducted on 117 infants between 2015 and 2023. The

expression levels of nine inflammatory and antiviral genes were quantified by PCR. The infants were classified according to their evolution during admission into two groups: (i) no progression (n=74) and (ii) unfavorable progression (n=43). The association analysis was performed using logistic regression, adjusted for age, sex, prematurity, and severity.

Results:

Study 1: Lower temperatures one week before hospitalization ($q=0.012$) and higher relative humidity one and two weeks before the event ($q=0.003$ and $q<0.001$, respectively) were associated with a higher probability of hospital admission. In addition, higher levels of NO_2 two weeks before the event were also associated with increased hospital admissions ($q<0.001$). Finally, on the event day, higher concentrations of SO_2 (compared with 1-week ($q=0.026$) and 2-week ($q<0.001$) lags), O_3 (compared with 3-day ($q<0.001$), 1-week ($q<0.001$), and 2-week ($q<0.001$) lags), and PM_{10} (compared with 2-week ($q<0.001$) lag) were associated with increased odds of viral LRTI hospital admissions.

Study 2: We found that *CXCL8* was overexpressed (>2 -fold; $q<0.05$) in children with severe hypoxemia, whereas *ISG15*, *IFIT1*, *RIGI*, *IFN β* , *CCL5*, and *CXCL10* were underexpressed (<-2 -fold; $q<0.05$). These associations were confirmed by adjusted logistic regression. OPLS-DA analysis showed that gene expressions of *CXCL8*, *ISG15*, *IFIT1*, *RIGI*, and *CXCL10* had variable importance in projection values (VIP) ≥ 1 , being the most relevant features.

Study 3: Univariate logistic models showed that low *TNF α* and *CCL5* expression levels at baseline were associated with unfavorable RSV bronchiolitis progression. This was confirmed by multivariate analysis: *TNF α* (aOR=0.8; 95% CI=0.64 - 0.99; $p=0.038$) and *CCL5* (aOR=0.76; 95% CI=0.62 - 0.93; $p=0.007$).

Conclusions:

1.- Short-term exposure to environmental factors, such as weather conditions and pollutants, is related to increased hospitalizations in children with acute LRTI under two years of age.

2.- An imbalance in the innate response that favors inflammation over antiviral defense could contribute to severe hypoxemia in RSV-infected children.

3.- An inadequate immune response against RSV, characterized by low levels of *CCL5* and *TNF α* gene expression in peripheral blood, was associated with an unfavorable evolution of RSV bronchiolitis.

Keywords: lower respiratory tract viral disease, pediatrics, environmental factors, contamination, respiratory viruses, respiratory syncytial virus, bronchiolitis, gene expression, *TNF α* , *CCL5*, innate immunity, peripheral blood.

1. Introducción

1.1. Virus respiratorio sincitial: microbiología

El virus respiratorio sincitial (VRS) se aisló por primera vez en 1955 en chimpancés con síntomas de infección respiratoria. Un año más tarde Robert M. Chanock aisló este virus en un paciente que padecía bronquiolitis (1). En 1975 se le denominó “virus respiratorio sincitial” por la formación de sincitios en cultivos celulares in vitro (2).

1.1.1. Clasificación

Este virus pertenece al orden *Mononegavirales*, familia *Pneumoviridae*, genero *Orthopneumovirus* (Figura 1).

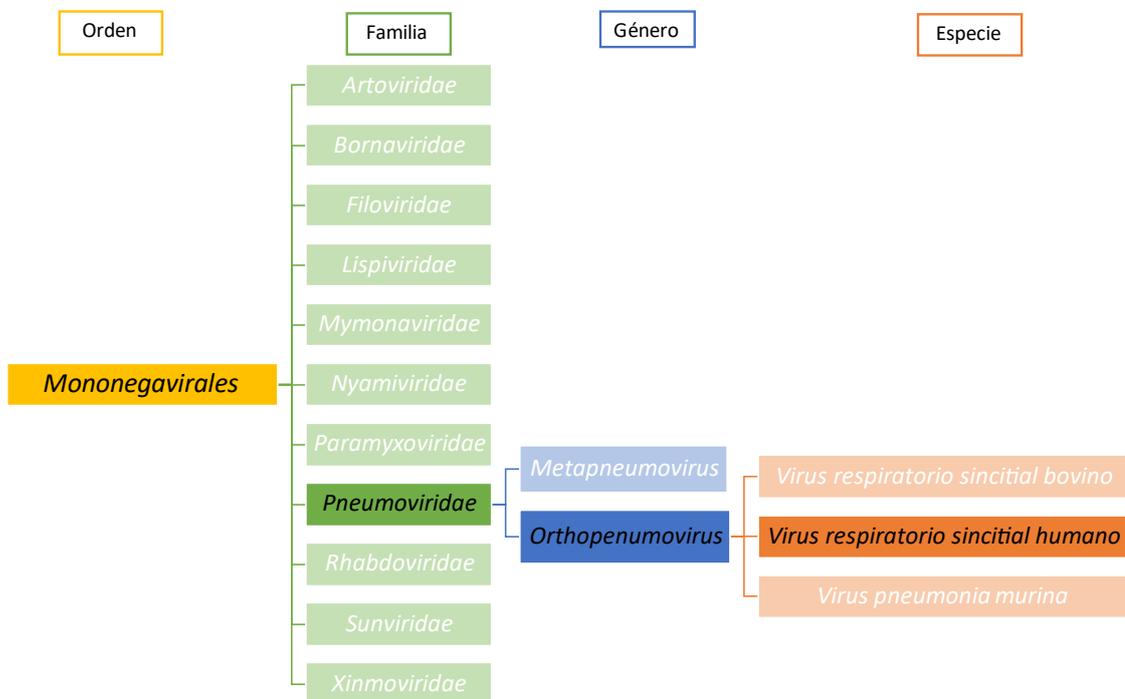


Figura 1. Taxonomía del VRS.

1.1.2. Genoma

El VRS es un virus cuyo genoma es una cadena simple de ácido ribonucleico (ARN) no segmentado y polaridad negativa de 15.222 nucleótidos (1). El genoma consta de 10 genes (**Figura 2**), que en sentido 3'-5' son: *NS1* - *NS2* (proteínas no estructurales) - *N* (nucleoproteína) - *P* (fosfoproteína) - *M* (proteína de la matriz) - *SH* (proteína pequeña hidrofóbica) - *G* (proteína de unión al receptor celular) - *F* (proteína de fusión) - *M2* (proteína de la matriz 2) - *L* (ARN polimerasa), que pueden ser transcritos a 11 ARN mensajeros (ARNm). Estos ARNm dan lugar a 11 proteínas virales. Cada gen codifica un ARNm excepto el *M2*, que codifica dos, que dan lugar a las proteínas M2-1 y M2-2 (1, 3, 4).



Figura 2. Mapa del genoma a escala aproximada del VRS en sentido 3'-5'. Las proteínas codificadas son: NS1-NS2 (proteínas no estructurales) - N (nucleoproteína) - P (fosfoproteína) - M (proteína de la matriz) - SH (proteína pequeña hidrofóbica) - G (proteína de unión) - F (proteína de fusión) - M2 (proteína de la matriz 2) - L (ARN polimerasa). Tomado de Mejías A. et al. (4).

1.1.3. Morfología y proteínas

La estructura del VRS consiste en una nucleocápside dentro de una envoltura lipídica. La envoltura contiene varias proteínas: la proteína de fusión (F), la proteína de unión al receptor celular (G) y la proteína hidrofóbica pequeña (SH). Subyacente a esta envoltura hay una proteína de matriz (M). La nucleocápside está formada por el ARN viral encapsulado por la nucleoproteína (N). Asociado con la nucleocápside se encuentran la polimerasa ARN (L) y la fosfoproteína (P) (3) (**Figura 3**).

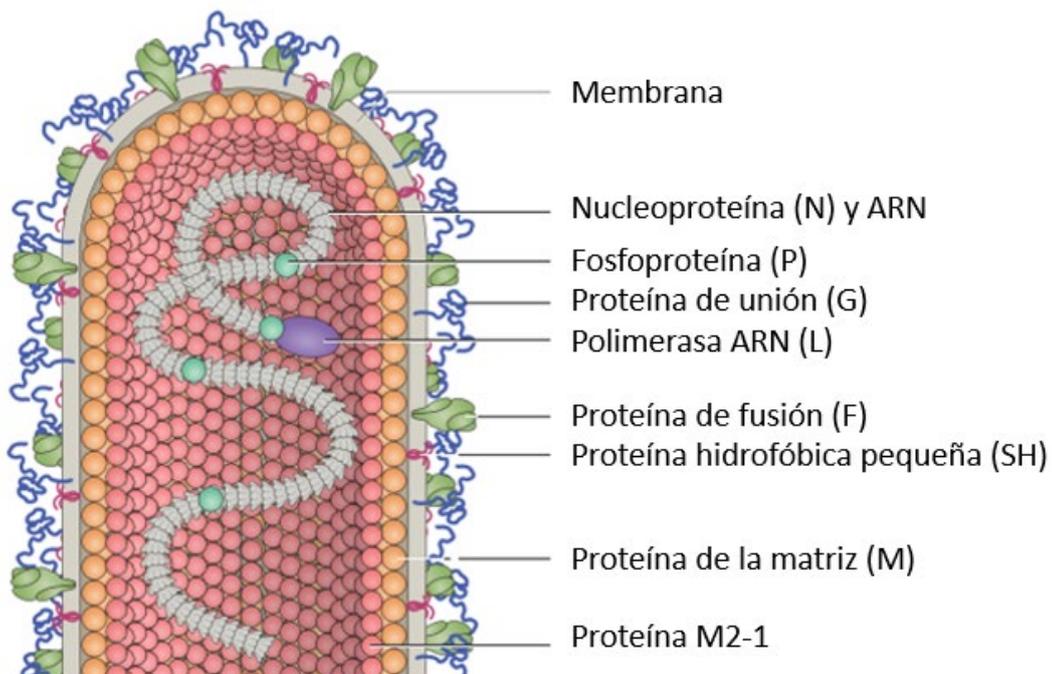


Figura 3. Representación esquemática de la estructura del VRS. Modificado de Mejías A. et al. (4).

Las proteínas transmembrana G, F y SH se anclan en la doble capa lipídica. La proteína G, interviene en la adhesión a las células del huésped (1) y la proteína F participa en la fusión de las membranas viral y celular, y la formación de sincitios (5). La proteína SH es un canal iónico que se cree que previene la apoptosis de la célula infectada (4).

Las proteínas de la nucleocápside son L, N, P y M2-1,2. La proteína L es una polimerasa encargada de la replicación y transcripción del ARN viral. Las proteínas N y P son cofactores de la polimerasa. M2-1 y M2-2 actúan como reguladores de los procesos de replicación y transcripción (1).

La proteína de la matriz M forma una capa que recubre la cara interna de la envoltura viral, conectando la envoltura y la nucleocápside. Además, esta proteína inhibe los procesos de transcripción de la célula huésped (1).

Las proteínas NS1 y NS2 son proteínas no estructurales que inhiben la apoptosis y la respuesta del interferón (4).

1.1.4. Ciclo replicativo

El VRS se une a la superficie de células epiteliales del huésped a través de la proteína de unión (G). Posteriormente la proteína de fusión (F) media la fusión de la membrana viral y celular mediante un cambio conformacional para que el material genético del virus se libere en el citoplasma de la célula infectada (4, 6). El complejo de la ARN polimerasa dependiente de ARN es responsable de transcribir el ARN viral y sintetizar los intermediarios antigenómicos de sentido positivo necesarios para la replicación de nuevos ARN de sentido negativo (4).

El citoesqueleto de actina de la célula transporta las glicoproteínas virales F, G y SH a la superficie apical de la membrana plasmática celular. Posteriormente la proteína N se une, junto con la polimerasa al genoma viral sintetizado formando el complejo de la ribonucleoproteína que se asocia con la proteína M, dando lugar a nuevas partículas virales que se liberan de la célula infectada como viriones infecciosos maduros (6) (Figura 4).

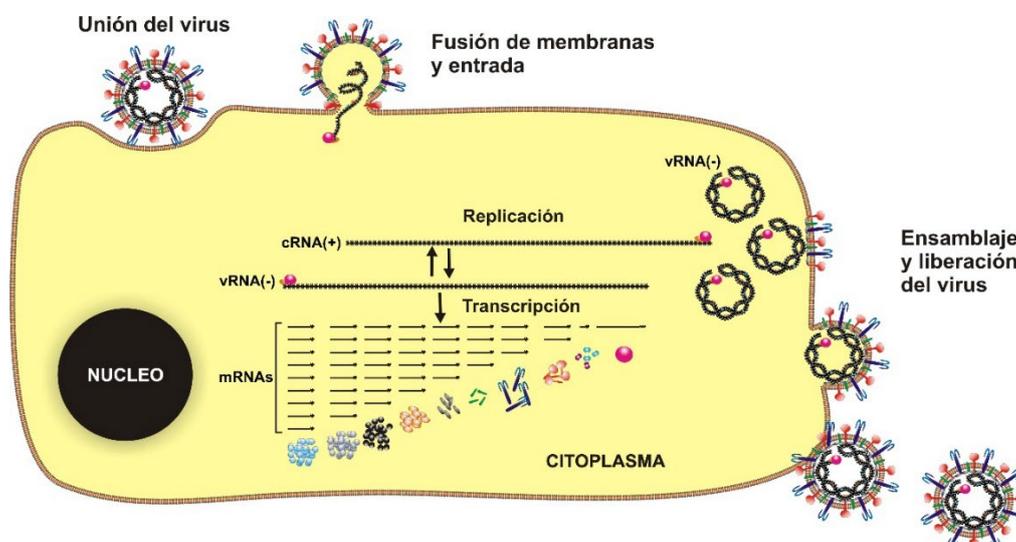


Figura 4. Ciclo replicativo del VRS.

1.2. Transmisión

La transmisión del VRS puede producirse por contacto directo con gotas respiratorias o por contacto con superficies contaminadas.

El contacto directo se puede dar a través de la inoculación en nariz, ojos o boca de gotas de una persona con infección por VRS, al toser o al estornudar (5). El contacto a través de superficies contaminadas se genera cuando estas gotas permanecen en una superficie que después entra en contacto con un nuevo huésped. Es destacable que el VRS puede permanecer hasta 6 horas en superficies no porosas, hasta 2 horas en superficies porosas, hasta 5 horas en guantes y hasta 30 minutos en la piel (5). (**Figura 5**).

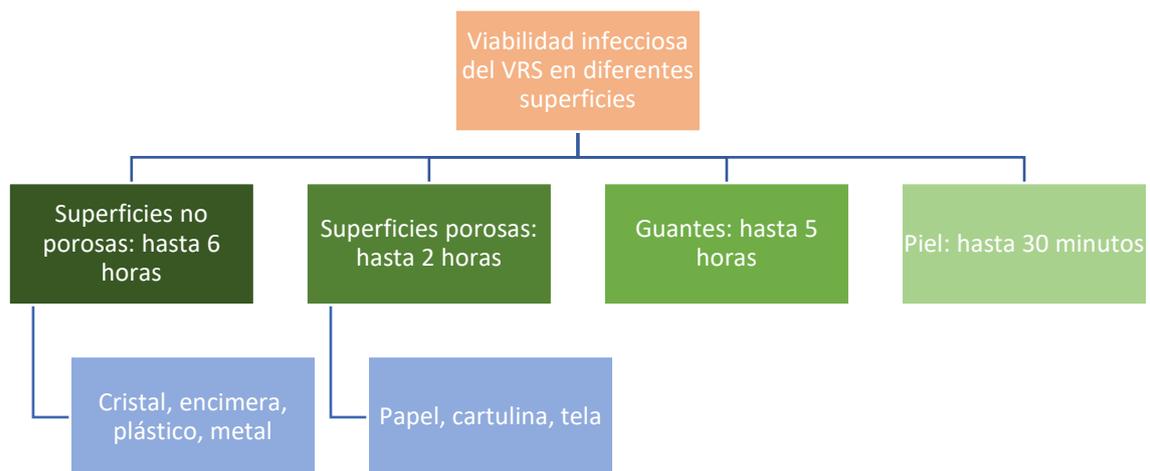


Figura 5. Viabilidad del VRS en distintas superficies. Modificada de Kaler J. et al. (5).

Posteriormente, el virus se replica en las células epiteliales de la mucosa de la nasofaringe y de la vía respiratoria superior, pudiendo diseminarse a los bronquiolos y alveolos del tracto respiratorio inferior (4). La necrosis que produce en el epitelio alveolar produce una obstrucción de la vía aérea pequeña debido a la secreción mucosa y al edema submucoso (7).

1.3. Respuesta inmune

1.3.1. Respuesta inmune innata

La respuesta inmune frente al VRS se inicia en las células epiteliales del tracto respiratorio una vez que el VRS entra en contacto con ellas. Las células epiteliales están cubiertas de moco, compuesto de mucinas, defensinas, lisozimas e inmunoglobulinas que protegen frente a los patógenos que se inhalan (8). El primer mecanismo innato de defensa consiste en el aclaramiento mucociliar de estas secreciones en las que quedan inmovilizados los patógenos (8). Si el VRS pasa esta primera barrera de defensa entrará en las células epiteliales mediante un proceso en el que están implicadas varias moléculas: nucleolina, CX3CR1, factor epidérmico de crecimiento (EGFR), proteoglicanos de heparán sulfato (HSPGs) y la molécula de adhesión intracelular 1 (ICAM-1) (9). En las vías respiratorias, las células dendríticas y los macrófagos alveolares también son infectadas por VRS (10).

El virus es reconocido en las células infectadas por tres clases principales de receptores de reconocimiento de patrones (PRP) presentes en las células epiteliales, las células presentadoras de antígenos (APC) y los fibroblastos del tracto respiratorio: TLRs (*Toll-like Receptors*), RLRs (*retinoic-acid-inducible gene 1 (RIG-I)-like receptors*) y NLRs (*NOD-like receptors*) (11, 12). Este reconocimiento desencadena una cascada de señalización que activa múltiples factores de transcripción, como los factores reguladores de interferón (IRF) 3 y 7, el factor nuclear kappa B (NF- κ B) y la proteína activadora 1 (AP-1) (13). La activación y translocación de estos factores al núcleo desencadena la expresión de varias citoquinas y quimioquinas proinflamatorias, incluidas el TNF- α (*tumor necrosis factor alpha*), CCL5 (RANTES, *regulated and normal T cell rpressed and secreted*), CCL3 (MIP-1 α , *macrophage inflammatory protein-1 alpha*), CCL4 (MIP-1 β , *macrophage inflammatory protein-1 beta*), interleuquinas (IL) como IL4, IL6, IL8, e interferón (IFN) tipo I y tipo III (10, 14) (**Figura 6**).

Los interferones, a su vez se unen a los receptores IFNAR1 (*Interferon Alpha And Beta Receptor Subunit*) 1 e IFNAR2 activando la vía JAK/STAT, que da lugar a la expresión de múltiples genes que generan un estado antiviral en las vías respiratorias (15). Estos genes se denominan colectivamente “genes estimulados por interferón” (ISGs, por sus siglas en inglés *Interferón Stimulated Genes*) (13) (**Figura 6**).

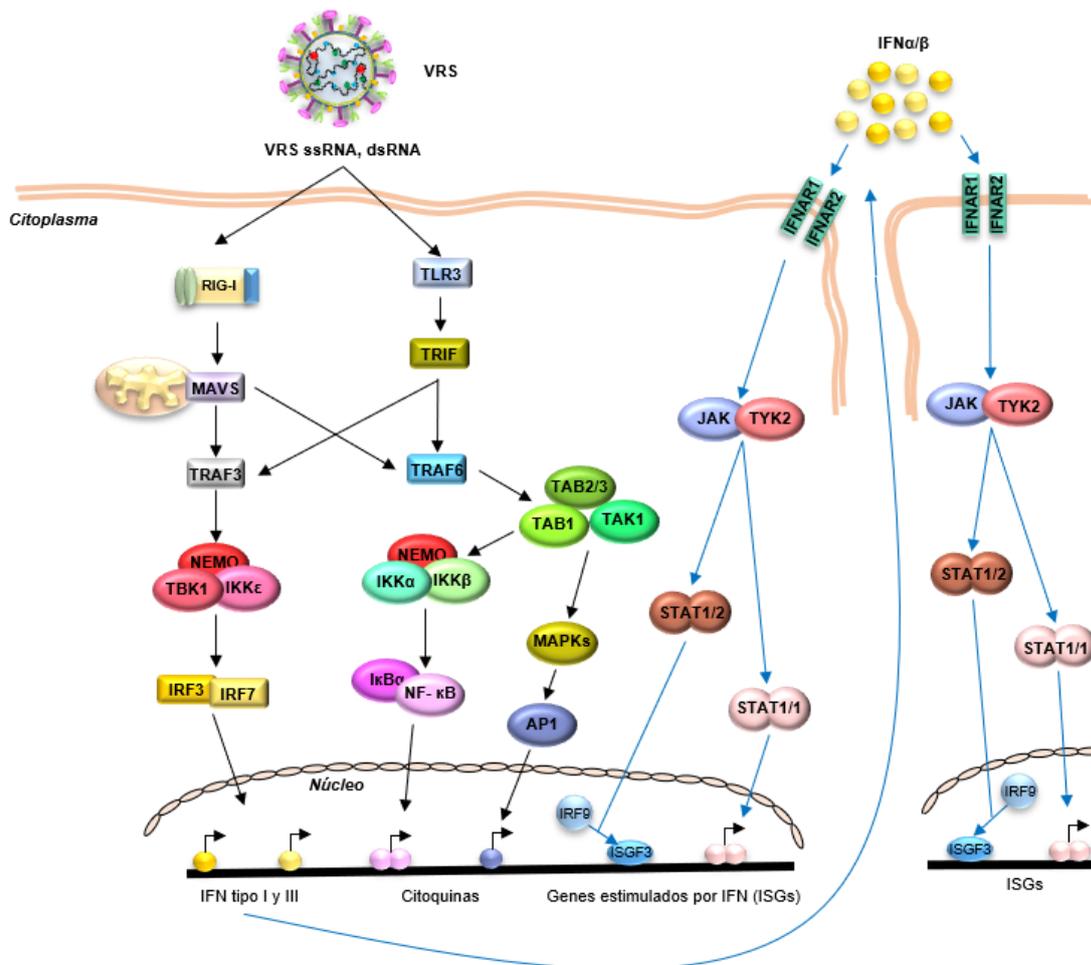


Figura 6. Principales vías activadas en la respuesta inmune innata temprana frente a la infección por VRS. Modificada de Martín-Vicente M. et al. (13).

Las citoquinas tienen un importante papel en la respuesta inmune frente al VRS. Las citoquinas y quimioquinas proinflamatorias promueven la migración y activación de monocitos, neutrófilos, linfocitos y eosinófilos al sitio de la infección, amplificando la respuesta inmune y desencadenando la respuesta inmune adaptativa (10).

1.3.2. Respuesta inmune adaptativa

En las infecciones por VRS, la respuesta inmune adaptativa es esencial para eliminar el virus. Sin embargo, esta respuesta es débil y de corta duración, lo que impide una inmunidad completa y facilita las reinfecciones a lo largo de la vida. Aunque las reinfecciones por VRS son comunes, los síntomas suelen ser menos graves que los de la infección primaria (11).

En la respuesta humoral frente al VRS, los anticuerpos neutralizantes se dirigen principalmente a las glicoproteínas G y F (16, 17). Estudios en modelos animales han demostrado el papel protector de estos anticuerpos. La administración de anticuerpos neutralizantes frente al VRS antes de la exposición al virus redujo la morbilidad y la mortalidad en ratones (18). Por otro lado, diversos estudios han revelado una correlación positiva entre los niveles séricos de IgG contra al VRS y los niveles de IgA en lavados nasofaríngeos con una mayor protección contra la infección por el VRS (19-24). Sin embargo, los anticuerpos contra la proteína F generados por lactantes menores de tres meses tras la infección por VRS tienen menor afinidad y capacidad neutralizante que los anticuerpos de los adultos (25).

En lo referente a la respuesta celular, los linfocitos T son esenciales para eliminar virus. En personas inmunocomprometidas, la eliminación del virus puede prolongarse considerablemente. Este retraso también se ha observado en estudios con animales donde se eliminaron los linfocitos T CD4+ y T CD8+. En estos modelos, además, se registró un menor daño pulmonar, indicando que ambos tipos de linfocitos T están implicados tanto en la eliminación del virus como en la modulación de la respuesta inflamatoria y el daño tisular (26). En consonancia con estos hallazgos, un estudio en niños inmunodeprimidos reveló un aumento significativo en el tiempo necesario para eliminar la infección, en comparación con el tiempo medio en niños sanos (27).

Tres de los cuatro subtipos fundamentales de linfocitos T CD4+, Th1, Th2 y Th17 secretan diferentes citoquinas que tienen un papel fundamental en la respuesta inmune contra el VRS, pero también en la inmunopatología asociada a la infección (28). Las citoquinas secretadas por Th1 (IFN- γ , IL-1, IL-2, IL-12, IL-18 y TNF- α) tienen una actividad proinflamatoria y participan en la respuesta inmune celular. Las citoquinas secretadas

por Th2 (IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-10, IL-13) activan eosinófilos y mastocitos, y limitan la respuesta Th1 (28). Las citoquinas secretadas por Th7 (IL-17, IL-21 e IL-22) reclutan neutrófilos y otras células inflamatorias al sitio de la infección, fortaleciendo la barrera epitelial en los tejidos infectados (29).

1.3.3. Inmunopatología

Mientras que la respuesta inmune es fundamental para limitar la replicación del VRS y favorecer el aclaramiento del virus, una respuesta inmune desequilibrada puede conllevar inmunopatología (28).

La infección por VRS da lugar a una respuesta neutrofílica intensa, suponiendo los neutrófilos el tipo predominante de células de la respuesta inmune en las muestras respiratorias obtenidas de lactantes con bronquiolitis por VRS (28, 30). Los neutrófilos activados liberan trampas extracelulares de neutrófilos (NETs), estructuras extracelulares de ADN cubiertas de proteínas antimicrobianas que tienen un importante papel defensivo. Sin embargo, en número elevado pueden contribuir a la obstrucción de las vías respiratorias (31).

Además, se ha postulado que existe una desregulación de la respuesta inmune innata de los eosinófilos relacionada con el desarrollo de bronquiolitis y sibilancias (32). Los eosinófilos, atraídos por la citoquina CCL5 (RANTES), se han visto elevados en muestras de nasofaringe de pacientes con sibilancias recurrentes tras el cuadro de bronquiolitis (33). Estas células son las principales productoras de leucotrieno 4 (LTC₄), un potente mediador de los procesos inflamatorios de las vías aéreas.

Por su parte, las células dendríticas migran a los pulmones para actuar como presentadoras de antígenos. Bajos recuentos de células dendríticas en sangre periférica se asocian con bronquiolitis por VRS (34), lo que sugiere bien un aumento del flujo de estas células dendríticas a la vía aérea o bien que una respuesta insuficiente de las células dendríticas agrava la infección viral (28).

En cuanto a la respuesta humoral. Los anticuerpos frente al VRS, especialmente los no neutralizantes, también tienen un papel importante en la inmunopatología, ya que forman inmunocomplejos que provocan daño pulmonar (35).

En la respuesta inmune celular, la infección por VRS provoca una linfopenia sistémica inicial de linfocitos T, lo que agrava la infección. Esto podría deberse a que el VRS induce la apoptosis de las células T al aumentar la expresión de los receptores Fas y TRAIL (36). Además, aumenta la expresión de la proteína de muerte celular programada 1 (PD-1) (37) y activa la vía mTOR, lo que reduce la diferenciación de célula T de memoria, alterando la respuesta ante una reinfección (38).

Además de estos cambios en los recuentos y en la actividad de las células citadas, variaciones en los niveles de citoquinas ayudan a predecir la severidad de la infección (28, 39-45). Numerosos estudios han demostrado que una respuesta Th2 elevada se correlaciona con la gravedad de la infección por VRS (39, 40, 42-45). El aumento de citoquinas proinflamatorias (IL6, IL8, IFN- α e IL1B) en las vías respiratorias se ha relacionado también con la severidad de la bronquiolitis (45-47). Por contra, los pacientes con enfermedad severa presentan una respuesta Th1 reducida, con niveles más bajos de IFN- γ e IL-12 en nasofaringe (48, 49). La correlación entre los niveles de citoquinas en sangre y la severidad de la infección es controvertida; aunque la mayoría de los datos apuntan hacia una correlación positiva entre los niveles de IL6 e IL8 y la severidad de la infección por VRS (45, 50, 51) y una correlación negativa con niveles de IL4 e IL12 (49). Otras citoquinas como IL1B, IL1-RA, TNF- α , EGF, el factor de crecimiento de hepatocitos (HGF), CCL4, e IL7, que son marcadores inflamatorios, se correlacionan también positivamente con la severidad (47).

Los niveles plasmáticos de citoquinas también se relacionan con la hospitalización. Se ha visto que las concentraciones de IL6, IL8 y IL10 son mayores en pacientes hospitalizados que en controles sanos (52). Otras citoquinas en muestras nasales, como IFN- γ , IL4, IL15, IL17, CXCL10 y eotaxina, se asocian significativamente con un descenso del riesgo de hospitalización (53).

Además de predecir la severidad y el riesgo de hospitalización, las citoquinas también se correlacionan con el riesgo de secuelas. Un aumento de citoquinas Th2 y Th17 se asocia con sibilancias recurrentes tras la infección por VRS (54). En pacientes con esta secuela también se han detectado concentraciones elevadas en plasma de IFN- γ de forma persistente tras un año de la infección (55), así como menor producción de TNF- α por

las células T CD4+ estimuladas in vitro durante el episodio de bronquiolitis severa por VRS (56).

Sin embargo, son necesarios más estudios para aclarar el papel de la respuesta inmune en la infección por VRS.

1.3.4. Polimorfismos en genes inmunes que afectan a la gravedad de la infección

Los factores genéticos relacionados con la respuesta inmune también alteran el curso de la infección. En recién nacidos susceptibles, la presencia de los polimorfismos Met(11)Thr en SP-D (Surfactant Protein D) (57), rs1921622 en IL1RL1 (58) y rs1921622 en IL1RL1 (58) se asocia con bronquiolitis severa por VRS. Lo mismo ocurre con otros genes, como IL4, que tienen un haplotipo sobreexpresado en pacientes con enfermedad severa (59). También existen variaciones genéticas en la vía quimiotáctica de CCL5 que determinan el curso de la infección y se relacionan con bronquiolitis severa (60, 61).

Al igual que variaciones genéticas se han asociado con el riesgo de severidad, también hay factores genéticos relacionados con el riesgo de hospitalización. Thomsen et al. concluyen que los factores genéticos son responsables hasta del 16% del riesgo de hospitalización por VRS (62). Otro estudio mostró que los pacientes pediátricos homocigotos para IL10 en los alelos -592C o -592A tienen mayor riesgo de hospitalización por bronquiolitis secundaria a VRS que los individuos heterocigotos (63).

1.4. Epidemiología

El VRS tiene dos grupos antigénicos, A y B. Las diferencias antigénicas entre ambos grupos se encuentran mayoritariamente en la proteína de unión (G). La alta variabilidad de esta proteína G favorece la evasión del sistema inmune y las reinfecciones (5). Ambos grupos producen enfermedad clínica, pero por lo general, el grupo A produce síntomas clínicos más graves (7).

El VRS está presente en 12-63 % de todas las infecciones respiratorias agudas (64). En una revisión sistemática publicada en 2022 se estimó que en el grupo de edad entre los 0 y los 60 meses, el VRS es responsable en un año de 33 millones de infecciones de las

vías respiratorias bajas, 3,6 millones de ingresos hospitalarios por esta patología, 26.300 muertes en el medio hospitalario por infección respiratoria del tracto inferior y globalmente, además, en este grupo de edad, 101.400 muertes son atribuibles al VRS (65). En el rango de 0 y 6 meses de edad, principal población afectada por el VRS, este virus provoca 6,6 millones de infecciones agudas de las vías respiratorias inferiores, 1,4 millones de ingresos por esta enfermedad, 13.300 muertes hospitalarias por infección respiratoria del tracto inferior, además en este grupo de edad 45.700 muertes son atribuibles al VRS (65).

Las infecciones por VRS suponen una sobrecarga en todos los niveles asistenciales, desde atención primaria hasta hospitalización, pasando por servicios de urgencias. En un estudio prospectivo de las infecciones respiratorias agudas en niños menores de 5 años en Estados Unidos, en pacientes hospitalizados y ambulatorios, se detectó que el 18% de los pacientes tenían infecciones por VRS. El VRS se asoció con el 20 % de las hospitalizaciones, el 18 % de las visitas al servicio de urgencias y el 15 % de las visitas al consultorio por infecciones respiratorias agudas de noviembre a abril (66).

El VRS está presente en el 19-81% de todas las infecciones respiratorias virales que implican ingreso hospitalario en pediatría, siendo un 2-12% de ellas en unidades de cuidados intensivos (64). Para estudiar la carga de hospitalización por VRS, en 2023 se publicó un trabajo en el cual se realizaba el seguimiento durante su primer año de vida de una cohorte de 9154 pacientes europeos, nacidos entre julio de 2017 y abril de 2020. La incidencia de hospitalización por VRS fue de 1.8%, de ellas un 5.5% ocurrieron en unidades de cuidados intensivos (67). La hospitalización por VRS tiene consecuencias para pacientes y para cuidadores, suponiendo un aumento de los niveles de estrés y un descenso de la productividad (68).

La mortalidad por VRS está condicionada por el nivel socioeconómico. Alrededor del 99% de las muertes por IRAB por VRS ocurren en países en desarrollo (69).

1.4.1. Factores ambientales

El VRS tiene un patrón estacional. La temporada de VRS generalmente se mueve desde el hemisferio sur al hemisferio norte. La ola de VRS en la mayoría de los países del hemisferio sur comienza entre marzo y junio y disminuye de agosto a octubre y en los países del hemisferio norte comienza entre septiembre y diciembre y disminuye de febrero a mayo. Con variaciones entre países, la mayoría de las temporadas de VRS duran de 5 a 6 meses (70).

Este patrón estacional está muy relacionado con las condiciones meteorológicas (71). Se ha demostrado que una elevada humedad y baja temperatura se asocia frecuentemente con un aumento de riesgo de transmisión viral y de IRAB (72-76).

Además de los factores estacionales, la contaminación influye en el desarrollo de enfermedades respiratorias en pediatría (77). Los principales contaminantes ambientales que provoca efectos adversos respiratorios son dióxido de nitrógeno (NO₂), dióxido de azufre (SO₂), ozono (O₃), partículas de hasta 10 µm de tamaño (PM10) y monóxido de carbono (CO) entre otros (78, 79).

Es reseñable que ambos factores citados previamente, las condiciones meteorológicas y la contaminación, están interrelacionados. Las condiciones meteorológicas afectan a la contaminación del aire exterior, pero su impacto depende del tipo de contaminantes (80). Por ejemplo, la temperatura afecta al movimiento del aire y tiene una correlación positiva con los niveles de PM10. El clima frío está relacionado con el aumento de los gases de los tubos de escape de los vehículos y las chimeneas, lo que conduce a niveles elevados de NO₂, SO₂, PM10 y CO. El clima cálido promueve la aparición de O₃ a nivel del suelo, mientras que la humedad disminuye la contaminación por O₃.

1.4.2. Factores individuales

Además de los citados factores ambientales, la situación del paciente en el momento de la infección puede condicionar la evolución de las infecciones respiratorias agudas en pediatría.

Existen diferencias de género en las enfermedades respiratorias (81). En general, los hombres presentan una mayor prevalencia y severidad de IRAB, mientras que las mujeres son más susceptibles a infecciones de vías altas (82). Factores genéticos, hormonales, inmunológicos, anatómicos, fisiológicos, socioculturales y comportamentales influyen en esta diferencia (81). En el caso de la infección por VRS en pediatría, ésta ocurre con más frecuencia y gravedad en niños (83-88). Además, los varones desarrollan más frecuentemente bronquiolitis secundaria a esta infección (81) y tiene más riesgo de secuelas futuras (89). Estas diferencias se atribuyen a factores anatómicos, ya que los niños tienen un diámetro de las vías respiratorias menor que las niñas, lo que aumenta el riesgo de obstrucción bronquial (88).

La edad también influye en las infecciones respiratorias. En un estudio de detección viral en pacientes con infección respiratoria aguda se concluyó que la detección de VRS es mayor en lactantes (90). De forma congruente, se ha descrito una disminución de la detección de VRS conforme aumentaba la edad de los pacientes (91, 92); y además los pacientes de menor edad presentan enfermedad más severa (84, 87, 88, 93), más riesgo de hospitalización (66, 69, 94, 95) y de muerte (96). Esto se debe a que los pacientes de menor edad tiene una vías respiratorias más estrechas, una capacidad respiratoria disminuida y una menor reserva respiratoria, por lo que la obstrucción de las vías respiratorias periféricas tienen mayor transcendencia en lactantes (5).

A diferencia de lo que ocurre con la severidad y el riesgo de hospitalización, la probabilidad de desarrollar secuelas futuras es mayor si la infección se presenta a los 6 o más meses de vida (97). Esto parece deberse a que durante los primeros 6 meses de vida se produce una multiplicación alveolar rápida y un remodelado de la vía aérea que previene del desarrollo de secuelas si el daño pulmonar se produce a edades precoces (97).

Los niños prematuros, es decir, nacidos con menos de 37 semanas de edad gestacional, presentan una mayor susceptibilidad a infecciones respiratorias, incluyendo a la infección por VRS. Se estimó que, por cada 1.000 niños por año, se produjeron 63,85 hospitalizaciones por VRS en pacientes prematuros menores de un año, mientras que la mortalidad por esta causa en estos pacientes fue 1,04 por 1.000 (98). La mayor

susceptibilidad en pacientes prematuros con respecto a pacientes a término puede tener una explicación inmunológica. Los prematuros presentan un sistema inmune innato inmaduro en un momento en el que la inmunidad adaptativa no está completamente desarrollada (99). Por otro lado, el paso de anticuerpos maternos se ha visto interrumpido, siendo esto importante ya que la mitad del paso de anticuerpos maternos ocurre después de las 34 semanas de gestación (98, 100). Además, sus pulmones no están completamente desarrollados (101) puesto que el desarrollo alveolar comienza entre las semanas 30 y 32 de gestación y no se completa totalmente hasta la semana 36. Presentan un menor volumen pulmonar, una menor superficie alveolar y un menor diámetro de las vías respiratorias (100). Estas diferencias con los recién nacidos a término hace que sean más susceptibles a presentar apnea, atelectasia, infiltrados pulmonares e hiperinsuflación, así como a precisar oxígeno suplementario, ventilación mecánica e ingreso en unidades de cuidados intensivos (102). Además, la prematuridad también se ha asociado con mayor riesgo de secuelas (89) y de mortalidad (96).

La alimentación también parece tener su papel en el riesgo de padecer infección por VRS. Se sugiere que la lactancia materna es un importante factor protector de morbilidad y mortalidad frente a infecciones del tracto respiratorio (103). La Organización Mundial de la Salud (OMS) recomienda lactancia materna exclusiva hasta los 6 meses de vida y continuar posteriormente al tiempo que se inicia la alimentación complementaria hasta los 2 años o más. La explicación a este efecto protector es que la leche materna contine anticuerpos como IgA, oligosacáridos prebióticos, lactoferrina, probióticos, linfocitos, leucocitos y otras células inmunológicas. Varios de estos componentes no están presentes en la fórmula artificial. Además, la composición de la leche materna cambia en función de las necesidades del lactante. La leche materna también podría ejercer un efecto barrera al cubrir la mucosa de la nasofaringe, evitando la transmisión de patógenos respiratorios (103).

La etnia también influye en la respuesta inmune frente al VRS, afectando a las tasas de infección, la severidad y los resultados (104). Estas diferencias se deben principalmente a factores genéticos, ambientales, socioeconómicos y culturales.

Los pacientes con patología de base como displasia broncopulmonar, cardiopatía congénita, trastornos neuromusculares, inmunodeficiencia o síndrome de Down tienen más riesgo de desarrollar enfermedad severa por VRS (88). Además, aquellos con malformaciones congénitas, enfermedades cardiológicas o neurológicas, alteraciones hepáticas o sanguíneas o alteraciones respiratorias perinatales presentan más riesgo de ingreso en unidades de cuidados intensivos (105). De hecho, en un estudio llevado a cabo por Thorburn se demostró que todos los pacientes que fallecen por VRS, presentaban una enfermedad preexistente, siendo la más frecuente alteraciones cromosómicas, seguida de lesiones cardíacas, alteraciones neuromusculares y enfermedades pulmonares crónicas (106).

La exposición pasiva al humo del tabaco es un importante riesgo para la salud infantil. Se estima que entre un 40-50% de los niños de todo el mundo están expuestos de forma regular al humo del tabaco (107). Se ha visto que los niños que son fumadores pasivos tienen más tos, sibilancias y mayor producción de moco (107, 108). Además, la exposición al humo del tabaco hace que los niños presenten más enfermedades respiratorias y presenten una disminución de la función pulmonar (108, 109), haciendo más probable que éstos pacientes desarrollen secuelas tras la infección por VRS (89).

Los factores socioeconómicos son también un destacable condicionante de la salud. Existe una relación entre la incidencia de VRS y el bajo nivel socioeconómico (110, 111). Hay varias razones que pueden explicar que un bajo nivel socioeconómico aumente las infecciones respiratorias bajas, como una mayor exposición a patógenos por el hacinamiento en el hogar (112, 113). Se ha relacionado una mayor incidencia de infección respiratoria baja por VRS con el hecho de que el niño comparta habitación con más de una persona (84, 112). Además, en zonas más deprimidas socioeconómicamente puede darse una afectación del sistema inmune por el alto nivel de estrés, una dieta pobre, o una mayor exposición a contaminantes ambientales (112).

1.5. Clínica

Tras la exposición al VRS, los primeros síntomas aparecerán entre el día 4 y 7. Es importante tener en cuenta que, durante esta fase, aunque el individuo se encuentre asintomático, tiene más probabilidades de transmitir la infección. La presentación clínica completa se da de los días 7 al 13, y a partir del día 14 se da la recuperación completa o bien el ingreso hospitalario (5) (**Figura 7**).



Figura 7. Representación esquemática de las fases clínicas de la infección por VRS. Modificada de Kaler J. et al. (5).

Los síntomas de la infección por VRS en lactantes y preescolares incluyen rinorrea clara, tos, estornudos, fiebre, sibilancias, faringitis y dificultad respiratoria (7, 114). Los niños más mayores suelen tener síntomas más leves, como congestión, tos y fiebre (7).

Aunque la mayoría de las infecciones por VRS son asintomáticas o producen síntomas leves similares a un resfriado, un porcentaje significativo de los casos pueden progresar a una enfermedad más severa como bronquiolitis o neumonía (98, 115). Las manifestaciones del tracto respiratorio inferior suelen presentarse en lactantes a los 2 o 3 días del inicio de los signos y síntomas del tracto respiratorio superior (116).

La bronquiolitis es una manifestación típica de la infección por VRS en lactantes. En este cuadro, la infección viral provoca una necrosis epitelial que da lugar a un infiltrado celular y una reacción mesenquimatosa. Esto forma un tapón denso en el bronquiolo, causando atrapamiento de aire y alteración de la ventilación, responsables del cuadro clínico (117, 118).

Clínicamente, McConnochie, definió la bronquiolitis en 1983 como el primer episodio agudo de sibilancias, precedido por cuadro de rinorrea, tos y taquipnea, con o sin fiebre, en niños menores de 2 años (119). Sin embargo, en un estudio reciente desarrollado con metodología Delphi se comprobó que había consenso en cuanto al diagnóstico de

bronquiolitis en criterios clínicos, pero no se encontró claro acuerdo entre los expertos participantes en la edad máxima para diagnosticar este proceso (120).

Además de los síntomas de vías respiratorias, aproximadamente la mitad de los pacientes presentan vómitos y los lactantes pequeños pueden manifestar la infección con letargo y dificultades de alimentación, haciendo preciso el ingreso en ocasiones, para evitar la deshidratación (5).

Las manifestaciones extrapulmonares de la infección por VRS son poco frecuentes. Entre ellas se encuentran convulsiones, hiponatremia, arritmia cardíaca, insuficiencia cardíaca y hepatitis (121) (**Figura 8**).

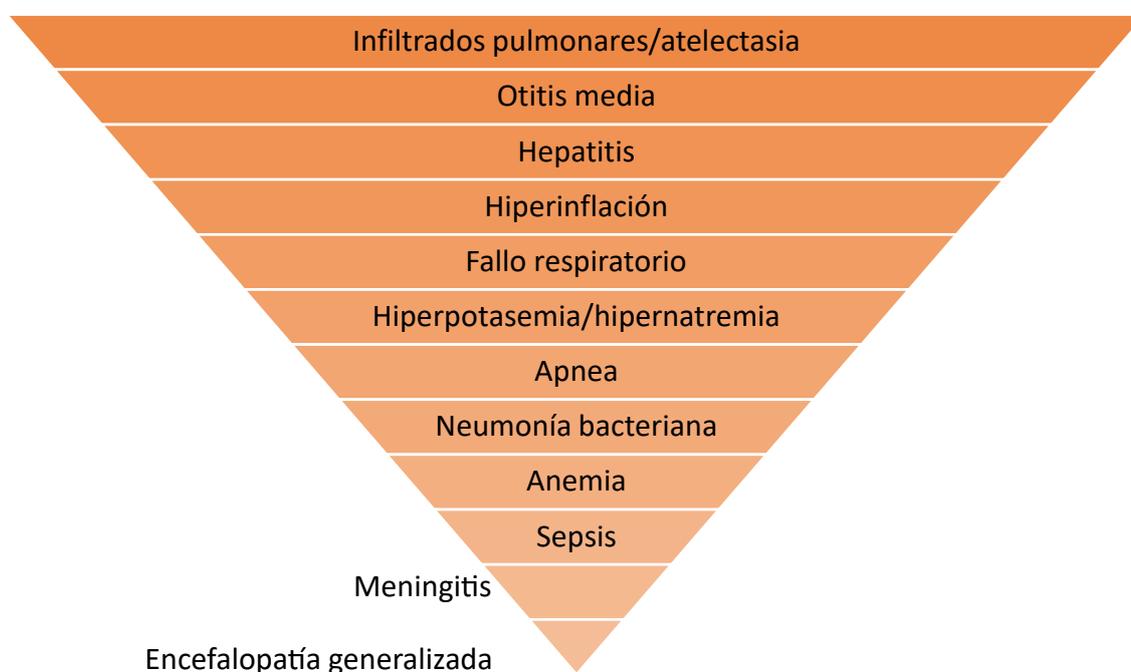


Figura 8. Complicaciones de la infección severa por VRS, ordenadas de la más comúnmente observada a la menos común. Modificada de Kaler J. et al. (5).

La infección por VRS puede presentar diferentes grados de severidad. Aunque la mayoría de los pacientes presentan un cuadro leve, algunos de ellos pueden desarrollar una enfermedad grave. La mayoría de los casos de infección grave ocurren en pacientes sanos (122, 123). En un estudio llevado a cabo en Noruega, se vio que, de los pacientes menores de 5 años que requerían atención hospitalaria por VRS, solamente el 15% de ellos presentaban comorbilidades que les predisponían a una infección más severa por

este virus (124). Sin embargo, hay ciertos factores de riesgo y biomarcadores asociados a severidad.

Para objetivar la gravedad, enfocándonos en los pacientes que desarrollan bronquiolitis, se han creado numerosas escalas. Un estudio publicado en 2023 analizó nueve escalas de valoración de la bronquiolitis: Wood-Downes, Modified Wood's Clinical Asthma Score (M-WCAS), Respiratory Severity Score (RSS), Respiratory Clinical Score (RCS), Respiratory Score (RS), Bronchiolitis risk of admission score (BRAS), BROSJOD, Tal modified y una escala desarrollada por Paediatric Emergency Research Network (PERN). Concluyeron que no existen diferencias entre estas escalas a la hora de predecir resultados relevantes en pacientes con bronquiolitis. Si embargo, la escala PERN puede ser más útil para seleccionar pacientes con bajo riesgo de severidad (125).

Se considera que la pulsioximetría es un buen método para la evaluación inicial de la bronquiolitis ya que la saturación de oxígeno transcutánea al ingreso está estrechamente relacionada con la cianosis (que se relacionó a su vez con la gravedad del cuadro) y con los requerimientos máximos de oxígeno (126).

En cuanto a la mortalidad, la mayoría de los casos ocurren en países en vías de desarrollo. En estos países, los pacientes que fallecen en centros sanitarios presentan neumotórax, probablemente secundario al daño provocado por la ventilación mecánica y/o sepsis clínicamente significativa por coinfección con otros microorganismos. Los fallecimientos producidos en la comunidad probablemente se produjeron por un acceso limitado a los servicios sanitarios (127).

Tras la fase aguda de la infección, los pacientes pueden presentar secuelas a largo plazo como sibilancias recurrentes y asma. Estas consecuencias conllevan disminución de la calidad de vida y un aumento en el uso de recursos sanitarios. Aunque hay evidencia de que las sibilancias tras VRS tienden a disminuir con el tiempo, en algunos pacientes pueden persistir hasta la edad adulta, y también pueden aumentar el riesgo de desarrollar asma en las primeras etapas de la adultez (128).

El mecanismo fisiopatológico por el cual se producen estas secuelas no está del todo esclarecido. En el estudio desarrollado por Zhou se mostró que una constitución alérgica,

caracterizada por un aumento de los niveles de IgE sérica, es un importante prerrequisito para el desarrollo de asma (129). Además, los antecedentes familiares tienen un papel crucial en la génesis de secuelas. La presencia de antecedentes de sibilancias en la familia es un factor que predispone al desarrollo de sibilancias recurrentes tras la infección por VRS (130). El riesgo de desarrollar secuelas aumenta también en pacientes que padecen infección severa (131, 132) o que precisan hospitalización (133). Además, los pacientes que precisan ingreso desarrollan asma más severa, caracterizado por mayores tasas de ingreso y mayor uso de medicación para el control del asma (128).

1.6. Métodos diagnósticos

La infección por VRS suele diagnosticarse por la clínica presentada por el paciente (7).

Cuando se requiere confirmación microbiológica, pueden emplearse diversas muestras como secreciones nasofaríngeas o traqueales recogidas mediante lavado, aspirado o hisopado. Los lavados nasofaríngeo y la obtención de secreciones traqueales son técnicas más fiables, sin embargo, el hisopado nasal es más frecuentemente utilizado por su accesibilidad (7).

En cuanto a las técnicas empleadas, el inmunoensayo enzimático es la forma más común de diagnosticar la infección porque nos permite tener un resultado rápido, en aproximadamente 30 minutos, y es más barato que otras técnicas. El enzimoimmunoensayo tiene una elevada especificidad (entre el 90 y el 95%), sin embargo su sensibilidad varía entre el 50 y el 90%, por lo que un resultado negativo no permite descartar completamente la infección (7). Los ensayos de inmunofluorescencia directa e indirecta, y los cultivos de VRS, requieren más tiempo para obtener una conclusión (7), por lo que no son menos útiles en la práctica clínica.

1.7. Tratamiento

No existe un tratamiento específico para la infección por VRS. En el manejo de las infecciones producidas por este virus se emplea un tratamiento de soporte, que incluye hidratación oral, medidas de manejo de las secreciones respiratorias y soporte respiratorio cuando sea preciso.

Los lavados o aspirados nasales tienen un papel primordial en el manejo de la infección por VRS en lactantes, ya que estos pacientes son respiradores nasales, por lo cual la entrada de aire puede verse dificultada por la congestión nasal y la presencia de rinorrea (5).

La administración de oxígeno suplementario es necesario en determinados pacientes con síntomas del tracto respiratorio inferior, para mantener una saturación de oxígeno por encima del 92% (5). En pacientes que presenten insuficiencia respiratoria o apnea grave puede llegar a ser preciso la ventilación mecánica (7).

El uso de broncodilatadores es controvertido. La Academia Americana de Pediatría (AAP) rechaza su uso de rutina, pero admite considerarlos como prueba terapéutica y mantenerlos en caso de que se objetive respuesta (134). Se admite la realización de una prueba terapéutica con este principio activo en caso de clínica compatible con broncoespasmo con antecedentes familiares de asma (7).

Los corticoides, tanto orales, inhalados, intravenosos o intramusculares no deben ser administrados de rutina. Sin embargo, la corticoterapia oral puede ser considerada en caso de respuesta a broncodilatadores y sospecha de un componente asmático o de hiperreactividad bronquial subyacente (7).

Los antibióticos son necesarios en los casos en los que se sospeche sobreinfección bacteriana. La sobreinfección bacteriana es poco frecuente, pero debe sospecharse por la situación clínica del paciente y por la evolución de los parámetros analíticos. Un aumento de leucocitos superior a $15 \times 10^9/l$ y un ascenso de los parámetros inflamatorios como la proteína C reactiva puede indicar sobreinfección bacteriana (5).

1.8. Prevención

1.8.1. Medidas higiénicas o no farmacológicas

Como se comprobó durante lo ocurrido en la pandemia COVID-19, se puede prevenir la transmisión de VRS mediante la implementación de medidas tales como el uso de mascarilla, la higiene de manos y el distanciamiento social (135). Por otro lado, el

panorama actual de la prevención de la infección por VRS se ha enfocado a la creación de vacunas e inmunoglobulinas contra este virus.

1.8.2. Vacunas

Las vacunas actuales contra el VRS pueden dividirse en vacunas vivas atenuadas o vacunas quiméricas, vacunas basadas en vectores recombinantes, proteínas o en ácidos nucleicos (136).

La primera vacuna aprobada por la Food and Drug Administration (FDA) para personas mayores de 60 años fue Arexvy®, una vacuna de dosis única resultante de la conjugación de la proteína F del VRS y el sistema adyuvante 01 (AS01E), aprobada para su comercialización en Estados Unidos en mayo de 2023 (137). En junio del 2023 esta vacuna fue aprobada por la Agencia Europea de Medicamentos (EMA) para comercializarse en Europa. La eficacia de la vacuna para prevenir infecciones por VRS del tracto respiratorio inferior en esta población fue superior al 80% (138).

Tras la aprobación de Arexvy®, en el mismo mes de mayo de 2023, la FDA aprobó Abrysvo®, una vacuna candidata de subunidad bivalente basada en el desarrollo de la proteína prefusión F, en dosis única, también para sujetos mayores de 60 años (137). En agosto de 2023 la FDA añadió la indicación de esta vacuna en el tercer trimestre de gestación con el objetivo de prevenir la infección en recién nacidos y lactantes menores de 6 meses. Posteriormente la EMA autorizó esta vacuna en el mercado europeo para la vacunación de mayores de 60 años y de embarazadas (137). La vacuna mostró una eficacia del 81,8% en prevenir la infección respiratoria severa del trato respiratorio inferior por VRS en recién nacidos a los 90 días de vida, y esta protección se mantiene a los 180 días, con una eficacia del 69,4% (139).

1.8.3. Anticuerpos monoclonales

Además de las vacunas, también se han desarrollado anticuerpos monoclonales que protegen frente a la infección y la bronquiolitis severa.

Palivizumab es un anticuerpo monoclonal humanizado contra la proteína de fusión (F) del VRS, que actúa inhibiendo la entrada del virus en la célula (136). Palivizumab

demostró una reducción del 32% del riesgo de hospitalización por bronquiolitis aumentando esta protección al 52% si se trataba de pacientes con enfermedad pulmonar crónica (44, 140). Su administración es intramuscular (136). Dado su elevado coste económico solo se administra a población de riesgo. Además de su precio, otra desventaja importante es su corta vida media, que obliga a una administración mensual durante la temporada de VRS (136).

Motavizumab es un anticuerpo monoclonal de segunda generación con alta afinidad por el VRS. Este anticuerpo no ha demostrado superioridad a Palivizumab y no ha sido aprobado debido a sus efectos adversos (136). Suptavumab es un anticuerpo monoclonal completamente humanizado que tampoco ha sido aprobado por no haber demostrado eficacia (136).

Nirsevimab es un anticuerpo monoclonal recombinante Humano IgG1 kappa que se une a las subunidades F1 y F2 de la proteína de fusión (F), bloqueando la entrada del VRS a la célula. En julio de 2023, la FDA aprobó Nirsevimab (141, 142) para realizar inmunización pasiva frente al VRS en neonatos y lactantes. Su larga vida media permite que una única administración intramuscular, poco antes o durante la temporada de VRS, cubra toda la temporada (141). Esta profilaxis ha demostrado una reducción del 83% en las hospitalizaciones por VRS (143), así como una disminución de la severidad de los casos (144).

A finales de septiembre de 2023 se inició en España la profilaxis universal con Nirsevimab para todos los lactantes nacidos desde el 1 de abril de 2023, convirtiéndose así en el primer país de Europa en iniciarla. Tres meses tras su introducción en el calendario vacunal nacional, se estimó que este anticuerpo tiene al menos un 70% de efectividad en prevenir la hospitalización en paciente con infección respiratoria baja por VRS (145).

1.9. Importancia de los factores de riesgo y biomarcadores en la gravedad de la infección

Además de estos logros, la identificación temprana de los pacientes con riesgo de desarrollar complicaciones graves relacionadas con el VRS sigue siendo esencial para garantizar intervenciones oportunas, optimizar el manejo de la enfermedad y los

resultados clínicos, y reducir las consecuencias de la infección por el VRS. La progresión de las infecciones por VRS puede predecirse principalmente mediante factores de riesgo y biomarcadores (49). Al identificar estos factores, los sanitarios que se encarguen de atender a estos pacientes pueden predecir de manera rentable el curso clínico de la infección y adaptar sus planes de tratamiento, con el objetivo de reducir la gravedad y la duración de la enfermedad (146).

En la actualidad, faltan marcadores sólidos que identifiquen con precisión a los pacientes con riesgo de enfermedad grave por VRS (45, 49). El estudio de estos marcadores a nivel pulmonar es complicado por su difícil acceso. Frente a esto, la sangre periférica puede servir como biopsia líquida debido a la estrecha conexión entre los sistemas circulatorio y respiratorio (147, 148). La biopsia líquida permite una amplia gama de ensayos celulares y moleculares que evalúan el órgano subyacente a través de técnicas mínimamente invasivas (149). En este caso es útil para estudiar la inmunidad pulmonar contra infecciones virales y para identificar biomarcadores predictivos (150). Además, proporciona información valiosa sobre la respuesta inmunitaria sistémica desencadenada por la infección.

El objetivo, por tanto, de esta tesis, es describir los factores de riesgo y biomarcadores de severidad en sangre periférica en relación con el VRS, así como proponer nuevos marcadores que permitan predecir la evolución de la infección. La detección temprana de lactantes de alto riesgo puede ayudar a mejorar el manejo de la enfermedad y reducir las secuelas relacionadas con la infección por VRS.

De los tres trabajos aportados, uno de ellos estudiará cómo las condiciones meteorológicas y los contaminantes externos influyen en los ingresos por IRAB, frecuentemente provocadas por VRS en menores de dos años. Los otros dos artículos describen factores inmunológicos que condicionan la evolución de la infección por VRS en menores de dos años, aportando posibles biomarcadores que ayudan a predecir el riesgo de desarrollar enfermedad grave.

2. Hipótesis

La presente tesis plantea que tanto factores extrínsecos (ambientales) como factores intrínsecos del individuo (principalmente relacionados con la respuesta inmune) influyen de manera significativa en la evolución desfavorable de la infección por el VRS, el agente etiológico más común de la bronquiolitis en pediatría.

Identificar estos factores extrínsecos e intrínsecos nos permitiría predecir el riesgo de ingreso hospitalario y evolución desfavorable, facilitando así una intervención temprana y una mejor gestión de los recursos sanitarios.

3. Objetivos

El objetivo de este trabajo es identificar qué factores influyen en el riesgo de hospitalización y en la evolución clínica desfavorable de las IRAB en pediatría, particularmente las causadas por el VRS.

Los objetivos principales son:

1. Evaluar la asociación de factores ambientales (humedad relativa, temperatura y contaminación del aire exterior) con el ingreso hospitalario por IRAB virales en niños menores de dos años, antes de la pandemia de COVID-19.
2. Evaluar la asociación entre la expresión de genes inflamatorios y antivirales en sangre periférica y la hipoxemia severa en niños menores de dos años con infección por VRS en el momento de ingreso hospitalario.
3. Analizar si la expresión de genes inflamatorios y antivirales en sangre periférica de niños hospitalizados menores de dos años infectados por VRS se asocia con la progresión de la bronquiolitis durante la estancia hospitalaria.

4. Material y métodos

4.1. Población de estudio

4.1.1. Población 1: Ámbito poblacional

Art. 1 (151): Álvaro-Meca A, Goez MDC, et al. Environmental factors linked to hospital admissions in young children due to acute viral lower respiratory infections: A bidirectional case-crossover study. Environ Res. 2022 Sep;212(Pt B):113319.

- **Diseño:** estudio retrospectivo bidireccional de casos cruzados.
- **Población:** niños menores de dos años de edad con IRAB viral, que precisaron ingreso hospitalario, distribuidos por todo el territorio español.
- **Periodo de tiempo:** desde 2013 hasta 2015.
- **Datos clínicos:** Conjunto Mínimo Básico de Datos Español.
- **Datos ambientales:** Agencia Estatal de Meteorología Española.
- **Tamaño de la muestra:** 30.445 pacientes

4.1.2. Población 2: Ámbito hospitalario

Art.2: Pita-Martínez C, Goez-Sanz C, et al. Reduced antiviral gene expression and elevated CXCL8 expression in peripheral blood are associated with severe hypoxemia in RSV-infected children. Front Immunol. 2024 Sep;15:1438630.

- **Diseño:** estudio transversal.
- **Población:** pacientes menores de dos años de edad con infección por VRS, que precisaron ingreso hospitalario, cuyos padres o tutores legales fueron informados del estudio, aceptaron participar y firmaron el consentimiento informado.
 - o Diagnóstico de la infección por VRS: muestras nasofaríngeas y orofaríngeas. Estas muestras biológicas se enviaron al laboratorio de microbiología de cada hospital para el diagnóstico mediante pruebas de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) de acuerdo con los protocolos previamente implementados en cada laboratorio de atención hospitalaria.
- **Periodo de tiempo:** desde 2015 hasta 2023.

- **Datos clínicos:** historia clínica. Servicio de Pediatría:
 - Hospital Clínico Universitario de Valladolid
 - Hospital Infanta Cristina
 - Hospital Universitario de Guadalajara
- **Muestra:** Un mililitro de sangre periférica extraída coincidiendo con la canalización de vía venosa periférica.
- **Conservación:** Las muestras se conservaron a menos veintiún grados, en un tubo con ácido etilendiaminotetraacético (EDTA).
- **Variable resultado:** hipoxemia severa, definida como saturación de oxígeno periférico (SpO₂) menor o igual a 90%.
 - Medición de SpO₂: pulsioximetría durante la toma inicial de constantes vitales a la llegada del paciente a urgencias. Se consideró para el estudio el primer valor de SpO₂ tomado.
- **Tamaño de la muestra:** 121 pacientes.

Art.3 (152): Pita-Martínez C, Goetz-Sanz C, et al. Low peripheral blood chemokine (C-C motif) ligand 5 and tumor necrosis factor α gene expression is associated with unfavorable progression of respiratory syncytial virus bronchiolitis in infants. *Int J Infect Dis.* 2024 Jan;138:97-101.

- **Diseño:** estudio longitudinal.
- **Población:** pacientes menores de dos años de edad con infección por VRS, que precisaron ingreso hospitalario, cuyos padres o tutores legales fueron informados del estudio, aceptaron participar y firmaron el consentimiento informado.
 - Diagnóstico de la infección por VRS: muestras nasofaríngeas y orofaríngeas. Estas muestras biológicas se enviaron al laboratorio de microbiología de cada hospital para el diagnóstico mediante PCR, de acuerdo con los protocolos previamente implementados en cada laboratorio de atención hospitalaria.
- **Periodo de tiempo:** desde 2015 hasta 2023.

- **Datos clínicos:** historia clínica. Servicio de Pediatría:
 - Hospital Clínico Universitario de Valladolid
 - Hospital Infanta Cristina
 - Hospital Universitario de Guadalajara
- **Muestra:** Un mililitro de sangre periférica extraída coincidiendo con la canalización de vía venosa periférica.
- **Conservación:** Las muestras se conservaron a menos veintiún grados, en un tubo con EDTA.
- **Tamaño de la muestra:** 117 pacientes.

4.2. Fuentes de datos

4.2.1. Conjunto mínimo de datos básico

Los datos para el primer estudio, de ámbito poblacional, se obtuvieron de registros en el Conjunto Mínimo Básico de Datos (CMBD) del Sistema Nacional de Vigilancia de Datos Hospitalarios en España, proporcionado por el Ministerio de Sanidad del gobierno de España. El CMBD está regulado por ley, que explica los requerimientos necesarios para que las instituciones utilicen los datos personales relacionados con la salud.

El CMBD es la base de datos más grande e importante de datos clínicos y administrativos en España. Contiene datos de pacientes ingresados en hospitales públicos y privados, con información valiosa sobre múltiples aspectos relacionados con la asistencia sanitaria. Se estima que posee una cobertura de aproximadamente de un 97,7% de los ingresos en hospitales públicos y del 25% de los ingresos en hospitales privados en España. La calidad de los datos del CMBD está asegurada por el Ministerio de Sanidad, estableciendo protocolos para el registro de datos y auditorías periódicas.

El CMBD proporciona números encriptados para la identificación de pacientes, el género, fecha de nacimiento, fechas de ingreso y alta hospitalaria, centros médicos que brindan los servicios sanitarios, los códigos de diagnóstico y los procedimientos según la clasificación internacional de enfermedades 9ª edición; Modificación Clínica (CIE-9-MC) (153), así como los resultados después del alta.

Diagnósticos incluidos:

- Infección respiratoria del tracto inferior viral [VRS (CIE-9-MC: 079.6, 466.11 y 480.1)]
- Influenza (CIE-9-MC: 487.0, 487.1, 488.01, 488.02, 488.11, 488.12, 488.81 y 488.82)
- Neumonía viral (CIE-9-MC: 480.0, 480.1, 480.2, 480.8 y 480.9)
- Bronquiolitis aguda (CIE-9-MC: 466.11 y 466.19)]
- Insuficiencia respiratoria aguda (CIE-9-MC: 518.81) junto con un diagnóstico secundario de infección respiratoria aguda viral.

Los diagnósticos se realizaron de acuerdo con los procedimientos estándar de cada hospital.

4.2.2. Agencia Española de Meteorología

Los datos ambientales para el primer estudio se extrajeron de la Agencia Estatal de Meteorología (<http://www.aemet.es/>). Para cada estación meteorológica, tuvimos:

Geolocalización

- Latitud
- Longitud
- Altura

Datos diarios de los factores ambientales:

- Climáticos:
 - Temperatura (°C)
 - Humedad relativa (%)
- Contaminantes del aire ambiental:
 - SO₂ (µg/m³)
 - CO (µg/m³)
 - NO₂ (µg/m³)
 - O₃ (µg/m³)
 - PM₁₀ (µg/m³)).

Los factores ambientales de cada paciente se obtuvieron utilizando la estación meteorológica más cercana a su código postal.

4.2.3. Datos clínicos

Los datos de los pacientes incluidos los dos estudios de ámbito hospitalario fueron recogidos mediante revisión de la historia clínica del paciente en el hospital en el cual ingresaron (Hospital Clínico Universitario de Valladolid, Hospital Infanta Cristina u Hospital Universitario de Guadalajara).

Se recogieron los siguientes datos:

- Datos epidemiológicos
- Antecedentes personales y familiares
- Clínica en el episodio de bronquiolitis
- Puntuación en la escala de gravedad
- Motivo de ingreso
- Constantes al ingreso
- Resultado de las pruebas al ingreso
- Tratamiento
- Datos sobre la evolución
- Coinfecciones

La hoja de recogida de datos se adjunta en el anexo 1.

4.3. Escalas de gravedad

Se utilizaron la puntuación de Bronquiolitis de Sant Joan de Déu (BROSJDD) y la puntuación de Wood-Downes (WDS) para calibrar la gravedad de la bronquiolitis por VRS. Ambas escalas incluyen parámetros similares y presentan buena concordancia.

4.3.1. Puntuación de Bronquiolitis de Sant Joan de Déu

El BROSJDD fue diseñada en 1999. Esta escala tiene en cuenta las siguientes variables (Tabla 1): sibilancias, tiraje, entrada de aire, saturación de oxígeno, frecuencia respiratoria y frecuencia cardíaca (154). Estas variables se muestran en la tabla 1.

Tabla 1: Escala de Bronquiolitis de Sant Joan de Déu (BROSJDD). FiO₂: fracción inspirada de oxígeno.

Sibilancia / estertores	0: no 1: sibilancias espiratorias, estertores inspiratorios 2: sibilancias / estertores espiratorios e inspiratorios			
Tiraje	0: no 1: subcostal, intercostal inferior 2: lo previo + supraclavicular + aleteo nasal 3: lo previo + intercostal superior+ supraesternal			
Entrada de aire	0: normal 1: regular y simétrico 2: asimétrico 3: muy reducido			
Saturación de oxígeno	Sin oxígeno suplementario: 0: $\geq 95\%$ 1: 91-94% 2: $\leq 90\%$		Con oxígeno suplementario: 1: $>94\%$ con $FiO_2 \leq 40\%$ 2: $\leq 94\%$ con $FiO_2 > 40\%$	
Frecuencia respiratoria (rpm)	0 <3m: <40 3-12m: <30 12-24m: <30	1 40-60 30-50 30-40	2 60-70 50-60 40-50	3 >70 >60 >50
Frecuencia cardíaca (lpm)	0 <1 año: <130 1-2 años: <110	1 130-150 110-120	2 150-170 120-140	3 >170 >140

Esta escala BROSJDD varía de 1 a 16, estratificando a la población en bronquiolitis leve (≤ 5), moderada (6-10) y grave (≥ 11).

4.3.2. Puntuación de Wood Downes

La puntuación de Wood Downes (WDS) se validó inicialmente en 1972 para evaluar el grado de distrés respiratorio en pacientes asmáticos. Esta escala tiene en cuenta las siguientes variables (**Tabla 2**): sibilancias, tiraje, entrada de aire, cianosis, frecuencia respiratoria y frecuencia cardíaca (155).

Tabla 2: Escala de Wood Downes (WDS).

	0	1	2	3
Sibilancias	Ninguna	Final de la espiración	Durante la espiración	Espiración e inspiración
Tiraje	Ninguno	Subcostal o intercostal	Supraclavicular y aleteo nasal	Supraesternal e intercostal
Entrada de aire	Normal y simétrica	Regular y simétrica	Muy disminuida	Silente
Cianosis	Ausente	Presente		
Frecuencia respiratoria (rpm)	<30	31-45	46-60	>60
Frecuencia cardíaca (lpm)	<120	>120		

La WDS varía de 1 a 10, estratificando a la población en bronquiolitis leve (≤ 3), moderada (4-7) y grave (≥ 8).

4.4. Ensayos de laboratorio

En los dos estudios de ámbito hospitalario se analizó la expresión génica de los pacientes menores de dos años con bronquiolitis por VRS.

Laboratorio: las muestras se analizaron en la Unidad de Infección Viral e Inmunidad, Centro Nacional de Microbiología, Instituto de Salud Carlos III.

Muestra:

- Tipo de muestra: sangre periférica.
- Extracción del ARN total: kit de ARN NucleoSpin (Macherey-Nagel, Düren, Alemania).

Expresión génica:

- Genes seleccionados:
 - Actina β
 - Interleuquina 6 (IL6)
 - Factor de necrosis tumoral alfa (TNF α)
 - Citoquina (motivo C-X-C) ligando 8 (IL8/CXCL8)
 - Gen estimulado por interferón 15 (ISG15)
 - Interferón con repeticiones tetratricopeptídicas 1 (IFIT1;)
 - Gen I inducido por ácido retinoico (RIGI)
 - Interferón- β 1 (IFNB1)
 - Citoquina (motivo C-C) ligando 5 (CCL5)
 - Citoquina (motivo C-X-C) ligando 10 (CXCL10)
- Transcripción inversa del ARN: kit de transcripción inversa de ADNc de alta capacidad (Applied Biosystems, Foster City, CA, EE. UU.).
- Cuantificación: Reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (RT-PCR): ensayos de expresión génica TaqMan (Applied Biosystems, Foster City, CA, EE. UU). La PCR se realizó por triplicado utilizando un Termociclador StepOne RT-PCR System (Applied Biosystems).
- Análisis de expresión diferencial: método Ct (ciclo umbral) ($\Delta\Delta$ CT), utilizando ACTB como control endógeno.

Los niveles de expresión génica se determinaron en relación con un calibrador de una muestra de referencia de ARN total extraído de células A549 infectadas con RSV.

4.5. Análisis estadístico

4.5.1. Asociación entre factores ambientales e ingreso hospitalario

- **Programa:** Paquete estadístico R versión 3.5.2 (Licencia pública general GNU) para el análisis estadístico (The R Core Team, R, 2011).
- **Estadística:** El vínculo entre los factores ambientales y los ingresos hospitalarios se evaluó mediante regresión logística condicional. Realizamos un análisis univariante para cada factor ambiental y un análisis multivariante para todos los factores ambientales juntos. Esta prueba proporciona el odds ratio (OR) y el

intervalo de confianza (IC) del 95% calculado mediante el método exacto. A excepción de la temperatura, los factores ambientales se transformaron en log2 porque muchos de los valores de OR tendían a "1". Además, esta transformación log2 puede interpretarse como una duplicación del predictor. Todas las pruebas fueron de dos colas y los valores de "p" se corrigieron utilizando la tasa de descubrimiento falso (q-valor). El nivel de significación estadística se fijó en $q < 0,05$.

- **Interpretación:** Las probabilidades de ingreso hospitalario dependen de la variación de un factor ambiental específico en la fecha de hospitalización (codificada como "1") y en el momento de control (codificado como "0"), y sólo los niños con variaciones en la exposición ambiental fueron informativos. Por lo tanto, valores de aOR superiores a "1" denotaron mayores probabilidades, es decir, cuando el factor ambiental aumenta en el ingreso hospitalario o disminuye en el tiempo de control (tiempo de retraso). Por el contrario, los valores de aOR inferiores a "1" denotaron probabilidades más altas cuando el factor ambiental aumenta en el momento de control (tiempo de retraso) o disminuye en el momento del ingreso hospitalario.

4.5.2. Asociación entre expresión génica y severidad de la bronquiolitis (hipoxemia y progresión desfavorable)

- **Programa:** Stata IC 17 (StataCorp, Texas, EE. UU.) y MetaboAnalyst 6.0 ([//www.metaboanalyst.ca/](http://www.metaboanalyst.ca/)).
- **Estadística:** Para la comparación entre grupos se utilizaron la prueba U de Mann-Whitney para variables continuas y la prueba de Chi-cuadrado de Pearson (χ^2) o la prueba exacta de Fisher para variables categóricas. Para el estudio de asociación entre los biomarcadores y las variables desenlace se utilizó la regresión logística binomial, proporcionando el OR 95%IC. La regresión logística se ajustó por las covariables más significativas (edad, sexo, prematuridad y gravedad inicial de la bronquiolitis por VRS), que se seleccionaron mediante un método de selección gradual hacia adelante ($p_{in} < 0,05$ y $p_{out} < 0,10$). Todas las pruebas fueron de dos colas y los valores de "p" se corrigieron utilizando la tasa

de descubrimiento falso (q-valor). El nivel de significación estadística se fijó en $q < 0,05$.

5. Resultados

5.1. Artículo 1: Environmental factors linked to hospital admissions in young children due to acute viral lower respiratory infections: A bidirectional case-crossover study

Introducción: Las infecciones agudas del tracto respiratorio inferior (IRAB) virales tienen un carácter estacional, condicionado por variables meteorológicas. Los contaminantes ambientales también tienen efectos sobre estas enfermedades.

Objetivos: Evaluar la asociación entre la exposición a corto plazo a factores ambientales (humedad relativa, temperatura, NO₂, SO₂, O₃, PM10 y CO) y los ingresos hospitalarios por IRAB viral en menores de dos años.

Métodos: Realizamos un estudio bidireccional cruzado de casos en 30.445 niños con IRAB viral menores de dos años del CMBD español de 2013 a 2015. Los datos ambientales se obtuvieron de AEMET. La asociación se evaluó mediante regresión logística condicional.

Resultados: Menor temperatura una semana antes del día del evento (ingreso hospitalario) ($q = 0,012$) y mayor humedad relativa una semana ($q = 0,003$) y dos semanas ($q < 0,001$) antes del día del evento se relacionaron con mayores probabilidades de ingresos hospitalarios. Los niveles más altos de NO₂ dos semanas antes del evento se asociaron con ingresos hospitalarios ($q < 0,001$). Además, concentraciones más altas el día del evento de SO₂ (en comparación con el tiempo de retraso de 1 semana ($q = 0,026$) y 2 semanas ($q < 0,001$)), O₃ (en comparación con el tiempo de retraso tiempo de 3 días ($q < 0,001$), 1 semana ($q < 0,001$) y 2 semanas ($q < 0,001$)) y PM10 (en comparación con el tiempo de retraso de 2 semanas ($q < 0,001$)) se relacionaron con un aumento de las probabilidades de ingresos hospitalarios por IRAB viral.

Conclusión: La exposición a corto plazo a factores ambientales (condiciones climáticas y contaminantes del aire ambiente) se relacionó con una mayor probabilidad de ingresos hospitalarios debido a IRAB viral. Nuestros hallazgos enfatizan la importancia de monitorear los factores ambientales para evaluar las probabilidades de ingresos hospitalarios por IRAB viral y planificar los recursos de salud pública.

Referencia: Alejandro Álvaro-Meca, **María del Carmen Goez**, Rosa Resino, Vanesa Matías, Daniel Sepúlveda-Crespo, Isidoro Martínez, Salvador Resino. *Environmental factors linked to hospital admissions in young children due to acute viral lower respiratory infections: A bidirectional case-crossover study. Environ Res. 2022 Sep;212(Pt B):113319.*

DOI: 10.1016/j.envres.2022.113319.

<u>Indicadores de Calidad</u>
ISSN: 0013-9351 Editorial: Elsevier Factor de impacto: 8,2 Fuente de impacto: Journal Citation Reports (JCR) Categoría: PUBLIC, ENVIRONMENTAL & OCCUPATIONAL HEALTH, ENVIRONMENTAL SCIENCES Rango: PUBLIC, ENVIRONMENTAL & OCCUPATIONAL HEALTH 32/275, ENVIRONMENTAL SCIENCES 16/207 Cuartil: Primero(Q1)

5.2. Artículo 2: Reduced antiviral gene expression and elevated CXCL8 expression in peripheral blood are associated with severe hypoxemia in RSV-infected children

Introducción: La patogenia de la infección por VRS sigue sin estar clara. Una respuesta inmunitaria desequilibrada puede causar inmunopatología, lo que provoca daños en las vías respiratorias y altera el intercambio de oxígeno y dióxido de carbono entre el aire y el torrente sanguíneo.

Objetivos: Nuestro objetivo fue evaluar la asociación entre la expresión génica de genes inflamatorios y antivirales en sangre periférica y la hipoxemia grave en niños infectados por VRS valorados en servicios de urgencias hospitalarios.

Métodos: Realizamos un estudio transversal en 121 niños infectados por el VRS entre 2015 y 2023. El ARN total se extrajo de muestras de sangre completa y la expresión génica (*IL-6*, *TNF α* , *CXCL8*, *ISG15*, *IFIT1*, *RIGI*, *IFN β* , *CCL5* y *CXCL10*) se cuantificó mediante qPCR. La variable de resultado fue tener hipoxemia grave ($SpO_2 \leq 90\%$) en el momento del ingreso hospitalario. El análisis de asociación se realizó mediante un gráfico de volcán, regresión logística ajustada por variables clínicas relevantes, y análisis discriminante de mínimos cuadrados parciales ortogonales (OPLS-DA).

Resultados: 26 de 121 niños tenían hipoxemia severa ($SpO_2 \leq 90\%$). *CXCL8* estaba sobreexpresado ($q < 0,05$), y los niveles *ISG15*, *IFIT1*, *RIGI*, *IFN β* , *CCL5* y *CXCL10* estaban infraexpresados ($q < 0,05$) en niños con hipoxemia. Estas asociaciones se ratificaron mediante regresión logística ajustada. El OPLS-DA mostró que las expresiones génicas de *CXCL8*, *ISG15*, *IFIT1*, *RIGI* y *CXCL10* presentaron valores de importancia variable en proyección (VIP) ≥ 1 , siendo las características más relevantes.

Conclusión: Una respuesta inmune desequilibrada a la infección por RSV, con disminución de la respuesta antiviral y aumento de la inflamación, se asocia con hipoxemia grave en niños infectados por RSV. Estos hallazgos proporcionan información valiosa sobre la patogenia de la infección por VRS.

Referencia: Carlos Pita-Martínez, Carmen Goez-Sanz, Ana Virseda-Berdices, Alejandro Gonzalez-Praetorius, Esther Mazario-Martín, María Rodríguez-Mesa, Marta Quero-Delgado, Vanesa Matías, Isidoro Martínez, Salvador Resino. *Reduced antiviral gene expression and elevated CXCL8 expression in peripheral blood are associated with severe hypoxemia in RSV-infected children. Front. Immunol. 2024 Sep;15:1438630.*

DOI: 10.3389/fimmu.2024.1438630.

<u>Indicadores de Calidad</u>
ISSN: 1664-3224 Editorial: Frontiers Factor de impacto: 6,8 Fuente de impacto: JCR Categoría: IMMUNOLOGY Rango: 38/181 Cuartil: Primero(Q1)

5.3. Artículo 3: Low peripheral blood CCL5 and TNF α gene expression is associated with unfavorable progression of respiratory syncytial virus bronchiolitis in infants

Introducción: La respuesta frente a la infección por VRS desencadena una cascada de señalización intracelular que induce la expresión de citoquinas proinflamatorias, quimioquinas e interferones conduciendo a un estado antiviral.

Objetivos: Nuestro objetivo fue analizar si la expresión de genes inflamatorios y antivirales en la sangre periférica de los menores de dos años infectados por VRS que precisaron ingreso hospitalario se asocia con la progresión de la bronquiolitis.

Métodos: Realizamos un estudio prospectivo en 117 pacientes menores de dos años entre 2015 y 2023. Los niveles de expresión de nueve genes se cuantificaron mediante qPCR. Los lactantes se clasificaron según su evolución clínica durante el ingreso hospitalario: i) no progresión (n=74), cuando la gravedad de la bronquiolitis por VRS se mantuvo estable o mejoró; ii) progresión desfavorable (n=43), cuando aumentó la gravedad de la bronquiolitis por VRS. El análisis de asociación se realizó mediante regresión logística, ajustado por edad, sexo, prematuridad y gravedad de la bronquiolitis en urgencias.

Resultados: El 57,3% de los pacientes eran varones y la mediana de edad de la población de estudio fue de 61 días. Treinta y cinco (30,7%) ingresaron en la unidad de cuidados intensivos después del ingreso hospitalario. Los modelos logísticos univariados mostraron que la expresión de los genes *TNF α* y *CCL5* al inicio del estudio se asociaba inversamente con una progresión desfavorable, lo que se confirmó mediante análisis multivariados: *TNF α* (aOR=0,8 (IC 95%=0,64 - 0,99), valor p=0,038) y *CCL5* (aOR=0,76 (IC 95%=0,62 - 0,93), valor de p=0,007).

Conclusión: Una respuesta inmune inadecuada al VRS, caracterizada por niveles reducidos de expresión genética de *CCL5* y *TNF α* en sangre periférica, se asoció con una progresión desfavorable de la bronquiolitis por VRS.

Referencia: Carlos Pita-Martínez, **Carmen Goez-Sanz**, Ana Virseda-Berdices, Alejandro Gonzalez-Praetorius, Esther Mazario-Martín, María Rodríguez-Mesa, Rafael Amigot-Sánchez, Vanesa Matías, Salvador Resino, Isidoro Martínez. *Low peripheral blood chemokine (C-C motif) ligand 5 and tumor necrosis factor α gene expression is associated with unfavorable progression of respiratory syncytial virus bronchiolitis in infants. Int J Infect Dis. 2024 Jan;138:97-101.*

Carlos Pita-Martínez, Carmen Goez Sanz y Ana Virseda Verdices contribuyeron a partes iguales.

DOI: 10.1016/j.ijid.2023.11.024.

<u>Indicadores de calidad</u>
ISSN: 1201-9712 Editorial: Elsevier Factor de impacto: 5,0 Fuente de impacto: JCR Categoría: INFECTIOUS DISEASE Rango: 17/132 Cuartil: Primero(Q1)

6. Discusión

La IRAB viral supone un motivo frecuente de ingreso hospitalario en pacientes menores de dos años, predominantemente en los meses de invierno. Esto llega a condicionar, en muchas situaciones, la saturación de varios niveles asistenciales y la necesidad de un aumento de los recursos sanitarios en este contexto. De ahí que uno de los objetivos de este trabajo sea conocer qué condiciones meteorológicas y ambientales influyen en este incremento en el número de ingresos por esta causa.

Al constatar que el virus predominante en este contexto es el VRS, centramos el resto del trabajo en este agente etiológico. Tras producirse la infección se inicia una respuesta inmune orquestada por múltiples citoquinas y quimioquinas proinflamatorias. Sin embargo, una respuesta inmune desbalanceada puede condicionar la patología, al hacer que el individuo no sea capaz de enfrentarse adecuadamente al virus. Dado que la situación en el momento del ingreso y la evolución posterior es diferente entre individuos, en nuestros trabajos se analizó la expresión de genes relacionados con la respuesta inmune en estos individuos y se correlacionó con la situación clínica del paciente en el momento del ingreso y con su evolución.

Por tanto, analizamos los factores que pueden influir en las IRAB virales en pediatría en tres momentos evolutivos: previo al ingreso, en el momento del ingreso y la evolución durante dicho ingreso. Los resultados se discuten con detalle a continuación.

6.1. **Ámbito poblacional**

6.1.1. **Previo al ingreso: Riesgo de ingreso hospitalario**

Artículo 1 (151): Relación entre factores ambientales e ingresos hospitalarios por IRAB viral en pediatría

El primer trabajo evalúa la asociación de la exposición a corto plazo de factores ambientales (humedad relativa, temperatura, NO₂, SO₂, O₃, PM10 y CO) con los ingresos hospitalarios por IRAB viral en pacientes menores de 2 años. Este trabajo se realizó a nivel población, empleando los datos del CMBD y de la AEMET.

El virus predominante como agente etiológico de estos casos es el VRS (55,8%).

Condiciones climatológicas

En primer lugar, en cuanto a las condiciones climáticas, la temperatura más baja una semana antes del día del ingreso y una alta humedad relativa una y dos semanas antes del día del ingreso se relacionan con mayor probabilidad de ingreso hospitalario por IRAB viral.

En estudios previos se ha observado que las condiciones ambientales, incluyendo humedad y temperatura, influyen en el riesgo de padecer IRAB viral (71, 76) al afectar a la infectividad de los virus respiratorios (71, 156, 157). La temperatura influye en la mayoría de los procesos químicos y físicos, condicionando la supervivencia del patógeno y la susceptibilidad del huésped (156). Esto se debe a que las bajas temperaturas proporcionan mayor estabilidad al patógeno, aumentando así su supervivencia y su infectividad. Además, cuando las temperaturas son más bajas, los individuos tienden a pasar más tiempo juntos en espacios cerrados (111), lo que podría contribuir a la transmisión viral. Por otra parte, condiciones de alta humedad aumentan la infectividad al estabilizar las gotitas que transportan el patógeno de persona a persona (71).

Durante el invierno, se observa una supresión del sistema inmunitario (“supresión inmune invernal”) (158, 159) caracterizada por broncoconstricción, aumento de secreciones y disminución del aclaramiento mucociliar, entre otros. Esto aumenta el riesgo de IRAB viral en niños pequeños (160). Consecuentemente, los ingresos hospitalarios por estas infecciones aumentan en los meses fríos y húmedos (161). Sin

embargo, algunos estudios muestran resultados discordantes sobre cómo la temperatura y la humedad afectan a estos ingresos (70, 162, 163). Estas diferencias podrían deberse en parte a que las diferentes regiones del mundo experimentan distintos picos estacionales y brotes de IRAB. Además, la circulación de virus respiratorios varía según la ubicación geográfica y la altitud, incluso dentro de una misma región (70, 162, 164).

Centrándonos en el caso del VRS, se ha observado, en línea con nuestro estudio, un aumento de casos en condiciones de baja temperatura y alta humedad (165-169). La mayor estabilidad del VRS en aerosoles ocurre con una humedad relativa del 60% (170) y un aumento del 1% en la humedad relativa media se asoció con un aumento del 6% en los casos de VRS (171).

Analizando las infecciones por VRS en diferentes zonas climáticas(172), se ha encontrado que, en lugares con temperaturas y humedad persistentemente altas, la actividad del VRS fue continua durante todo el año, probablemente debido a la alta estabilidad del virus en aerosoles. En regiones con clima templado, la actividad fue máxima en momentos de temperaturas más bajas. En áreas con temperaturas bajas durante todo el año, la actividad del VRS fue continua (172).

Debidos a que el VRS es el agente etiológico en la mayoría de las infecciones recogidas en nuestro estudio, todos estos datos apoyan la influencia de las condiciones meteorológicas en el incremento en el número de infecciones que precisan ingreso hospitalario.

Contaminantes ambientales

Altos niveles de NO₂ dos semanas antes del ingreso y concentraciones altas de SO₂, O₃ y PM10 el día del ingreso aumentan el riesgo de hospitalización por IRAB viral. Esto coincide con estudios previos que relacionan la exposición a corto plazo a la contaminación del aire exterior con una mayor incidencia de neumonía en niños (75, 173-176). También se ha observado un aumento en las hospitalizaciones por enfermedades respiratorias asociado con niveles ambientales elevados de NO₂, O₃ y PM10 (177). Sin embargo, otros estudios no han encontrado una relación entre los niveles de NO₂ en ambientes interiores y las IRAB virales en niños (178-180). Esto sugiere

que el efecto del NO₂ en ambientes exteriores sobre las IRAB virales probablemente se deba a una combinación con otros contaminantes provenientes de fuentes y dinámicas ambientales similares (metales de transición, aerosoles orgánicos, O₃).

El O₃ fue el principal factor ambiental relacionado con los ingresos hospitalarios por IRAB viral, asociándose en todos los tiempos de retraso analizados. Además, la fuerza de esta asociación aumenta con la prolongación del tiempo de exposición. Estos hallazgos concuerdan con investigaciones previas que muestran un aumento en las hospitalizaciones por problemas respiratorios conforme aumentan las concentraciones de O₃ (181-183). Sin embargo, otros estudios no han encontrado esta asociación (184, 185). Estas diferencias en los resultados pueden deberse a múltiples factores, incluyendo las diferencias en la concentración de O₃, la duración y el momento de la exposición, las actividades al aire libre y la susceptibilidad individual a los contaminantes ambientales.

Las PM₁₀ pueden ser inhaladas y causar daño pulmonar. Esto se debe a que reducen los niveles de péptidos antimicrobianos (186) y aumentan la inflamación y la permeabilidad del epitelio pulmonar (187). Varios estudios respaldan nuestra investigación, mostrando una asociación entre las PM₁₀ y las hospitalizaciones por infecciones respiratorias virales graves en niños pequeños (188-190). Sin embargo, Nathan et al. no encontraron una asociación significativa (191). Además, otros estudios han encontrado una relación inversa entre la exposición a corto plazo a PM₁₀ y problemas respiratorios en niños (192-194). Una posible explicación podría ser la interacción entre la radiación ultravioleta y las PM₁₀ en ciertos países, lo cual podría atenuar los efectos de las PM₁₀, o diferencias en las edades de los niños estudiados.

La exposición a contaminantes como el material particulado (PM) y O₃ provoca estrés oxidativo en los pulmones (195). Este estrés oxidativo aumenta la respuesta inmune proinflamatoria Th2 y Th17 y disminuye la respuesta inmune antiviral (196, 197), lo que eleva la susceptibilidad a infecciones pulmonares (196, 198).

El SO₂ también provoca inflamación y daño en la mucosa respiratoria, facilitando la infección viral (199). Por otro lado, las vías respiratorias pequeñas de estos pacientes son fácilmente obstruidas por la inflamación y la acumulación de restos celulares. Aunque algunos estudios muestran que el SO₂ aumenta el riesgo de ingreso hospitalario en niños

(200, 201), el efecto de este contaminante en las infecciones respiratorias del tracto inferior sigue siendo controvertido (202, 203). Estas discrepancias pueden ser debidas a las mediciones de contaminantes en áreas con alta población y tráfico, como en los países asiáticos (204), donde predominan contaminantes emitidos por vehículos, como el NO₂, CO y PM (205).

En el caso del VRS, varios estudios previos han encontrado una correlación positiva entre la infección por este virus y los niveles de partículas de hasta 2.5 µm de tamaño (PM_{2.5}), PM₁₀, SO₂, NO₂ y CO (169, 188, 206, 207). Por ejemplo, los niveles de PM₁₀, SO₂ y NO₂ se asociaron positivamente con las consultas y las hospitalizaciones por bronquiolitis por VRS (208). Los efectos del PM también parecen estar relacionados con la respuesta inmune, observándose un aumento de la expresión de ARNm de MIP-1α en las zonas del epitelio alveolar en contacto con pequeñas partículas de carbón negro en modelos animales de infección por VRS (209). Hacen falta, igual que ocurre para otros virus, más estudios que analicen la influencia de los contaminantes ambientales en esta infección.

6.2. Ámbito hospitalario

Al identificar en el estudio previo que el virus predominante es el VRS, los siguientes artículos se centran en este agente etiológico. Pasamos de utilizar una base de datos poblacional a analizar datos de pacientes hospitalizados en tres hospitales. Se obtuvieron muestras de sangre periférica para analizar la expresión de genes inflamatorios y antivirales. Luego, se correlacionó la expresión de esos genes con el estado del paciente al ingresar y con su evolución durante la hospitalización.

6.2.1. En el momento del ingreso: Riesgo de hipoxemia

Artículo 2: Expresión génica en sangre periférica y riesgo de hipoxemia severa en pacientes con bronquiolitis por VRS.

En el segundo trabajo estudiamos cómo la expresión de genes inflamatorios y antivirales en sangre periférica influye en la situación del paciente en el momento de la hospitalización, en concreto en la probabilidad de presentar hipoxemia severa.

Este estudio muestra que un desequilibrio en la expresión génica inmunitaria de sangre periférica se asocia con la hipoxemia severa en niños infectados por VRS. Encontramos

que los pacientes con hipoxemia severa presentan bajos niveles de expresión de genes antivirales (*ISG15*, *IFIT1*, *RIGI*, *IFN β* , *CCL5*, y *CXCL10*) y altos niveles de *CXCL8*, pero solo cinco marcadores fueron claves (*CXCL8*, *ISG15*, *IFIT1*, *RIGI*, y *CXCL10*) para determinar el estado de hipoxia.

La infección primaria por VRS induce la producción de interferones tipo I (IFN- α o IFN- β) y tipo III (IFN- λ 1-4), esenciales para el control inicial del virus. Estos interferones estimulan la producción de los denominados “genes estimulados por interferón (ISGs)” como *ISG15*, *IFIT1* y *RIGI*, cruciales para iniciar la respuesta antiviral y limitar la replicación viral (13, 28). Además, estos genes activan la producción temprana de citoquinas proinflamatorias como IL-6, TNF e IFN- γ (210).

Los interferones tienen gran importancia en la patogénesis y la respuesta inmune frente al VRS. Sin embargo, el VRS es un pobre inductor de la respuesta de interferón tipo I, ya que las proteínas NS1 y NS2 suprimen su producción (211). En particular, la proteína NS1 del VRS se une al receptor MAVS, impidiendo su interacción con RIGI, un receptor necesario para la producción de interferón (212).

En nuestro estudio, los niños con infección por VRS que mostraron una menor expresión de ISGs relacionados con la respuesta antiviral (*ISG15*, *IFIT1*, *RIGI*) y del propio *IFN β* en sangre periférica tenían más probabilidad de presentar hipoxia severa. Esto sugiere una respuesta antiviral comprometida en estos niños, aumentando su susceptibilidad a las infecciones por VRS. En esta línea, se ha encontrado que muestras nasofaríngeas de niños con infección por VRS que muestran una reducción de IFN- β se relaciona con un aumento de la diseminación viral (213), y que una mayor carga viral se asocia con bronquiolitis severa (214).

RIGI es un receptor clave de reconocimiento de patrones que activa la respuesta antiviral contra el VRS (215). La señalización de RIGI activa los factores de transcripción IRF3, IRF7 y NF- κ B, lo que conduce a la producción de varias citoquinas y el IFN de tipo I y III. En el caso de *ISG15*, estudios previos han mostrado que dicha molécula tiene un efecto antiviral frente al VRS mediante ISGilación de proteínas (216). *ISG15* está regulado positivamente tanto en muestras sanguíneas como en muestras nasofaríngeas de niños infectados con VRS (217) y se ha relacionado con la carga viral (216, 217). Por otro lado,

IFIT1 tiene funciones antivirales de amplio espectro, incluida la inhibición de la traducción del ARN viral (218). Sin embargo, no se han encontrado estudios que correlacionen sus niveles con la carga viral, la severidad o la hipoxemia de la infección por VRS.

La infección por VRS desencadena la producción temprana de citoquinas proinflamatorias y quimioquinas, como CXCL8, TNF α , IL-6, CCL5, y CXCL10, entre otras, particularmente en la vía aérea (219). En nuestro estudio, no encontramos diferencias significativas en la expresión génica en sangre periférica de TNF α y IL-6 en relación con la hipoxemia severa. Sin embargo, sí observamos diferencias significativas en la expresión de CXCL8, CCL5 y CXCL10.

En nuestro estudio, encontramos que el aumento de la expresión génica de CXCL8 se asocia con hipoxemia severa, confirmando hallazgos previos que muestran una relación entre los niveles plasmáticos y nasofaríngeo de CXCL8 y la infección severa por VRS (47, 51). CXCL8, también conocida como IL8, es una quimioquina que atrae principalmente neutrófilos a las vías respiratorias, contribuyendo a la patogénesis de la bronquiolitis y causando daño en la vía aérea (219). Es importante destacar que los neutrófilos son las células inmunitarias predominantes en las vías respiratorias de los bebés hospitalizados con bronquiolitis grave (220). Además, se ha observado una infiltración significativa de neutrófilos en las vías respiratorias a través de análisis histopatológicos de muestras post mortem de casos fatales de bronquiolitis inducida por VRS (221). Las trampas extracelulares de neutrófilos (NET), liberadas al espacio extracelular de las vías respiratorias, pueden causar lesiones pulmonares y obstrucción de las vías respiratorias, agravando las enfermedades respiratorias (220). En conjunto, estos hallazgos indican que CXCL8 contribuye significativamente a la patogenia del VRS al promover el reclutamiento excesivo de neutrófilos a los pulmones (219).

Por otro lado, CXCL10, también denominado IP10, es una quimioquina estimulada por interferón IFN que promueve una respuesta antiviral y ayuda a eliminar el VRS de las vías respiratorias (219). En nuestro estudio, los pacientes pediátricos con hipoxemia severa presentan niveles más bajos de expresión génica de CXCL10 en sangre periférica. Estudios previos indican que concentraciones más altas de CXCL10 en la nasofaringe de niños infectados con VRS reducen la probabilidad de hospitalización, necesidad de

oxígeno suplementario, ingreso en unidades de cuidados intensivos y hospitalización prolongada (222).

El papel de la expresión génica de *CCL5* se discutirá en detalle en el tercer artículo.

Hasta donde sabemos, este es el primer estudio que correlaciona la expresión génica en sangre periférica con la hipoxemia severa en pacientes pediátricos con infección por VRS. Nuestros hallazgos preliminares proporcionan información valiosa sobre la patología de la infección por VRS y podrían ayudar a desarrollar terapias adicionales para una respuesta antiviral más efectiva.

6.2.2. Durante el ingreso: Riesgo de evolución desfavorable

Artículo 3 (152) Expresión génica en sangre periférica y riesgo de progresión desfavorable en pacientes con bronquiolitis por VRS.

El tercero de nuestros trabajos se centra en la evolución de los pacientes durante el ingreso hospitalario.

La respuesta inmunitaria del huésped contra el VRS es crucial para controlar y eliminar la infección. Nuestro estudio mostró que la baja expresión génica de *CCL5* y *TNF- α* en las células mononucleares de sangre periférica se asoció con una evolución desfavorable de la bronquiolitis por VRS en lactantes.

CCL5 juega un papel crucial en la respuesta inmune, atrayendo monocitos, células T, neutrófilos y eosinófilos. También promueve la supervivencia de los macrófagos, esenciales para controlar la infección (223). Además, tiene un efecto antiviral directo al inhibir la interacción entre las células epiteliales y la proteína de fusión del VRS (224). Esta quimioquina está elevada en pacientes con infección por VRS en comparación con individuos sanos (225-227), lo que resalta su papel en la respuesta inmune contra esta infección.

CCL5 se produce en una fase temprana de la infección por VRS, alcanzando su pico inicial el primer día. Luego desciende el segundo día y vuelve a aumentar entre los días 6 y 8, alcanzando un máximo entre los días 10 y 12 (228). El primer pico parece deberse a la expresión por las células epiteliales del tracto respiratorio inferior infectadas por VRS (229-231), mientras que el segundo pico parece ser el resultado de la respuesta

proinflamatoria, en la cual la secreción de CCL5 se produce por los linfocitos T CD4 y CD8 (232).

En línea con nuestros resultados, otros estudios han encontrado una relación inversa entre los niveles de CCL5 en plasma (233), aspirado traqueal y fluidos nasales (44, 234) con la severidad de la infección por VRS. Estos hallazgos sugieren que la reducción de los niveles de CCL5 podría afectar significativamente la capacidad del sistema inmune para reclutar y activar las células inflamatorias necesarias para controlar la infección (235).

Además, CCL5 parece estar implicado en las secuelas posteriores a la infección, especialmente en la hiperreactividad de las vías respiratorias. El bloqueo de la vía de CCL5 reduce la hiperreactividad bronquial, posiblemente debido a que su secreción está regulada por IL-13, una citoquina relacionada con la hiperreactividad bronquial inducida por VRS (228). En línea con esto, se han encontrado niveles más altos de CCL5 en pacientes con sibilancias recurrentes (227).

El TNF- α es una citoquina proinflamatoria clave en la respuesta inmune e inflamatoria, induciendo la expresión de otras citoquinas como IL-6 y quimioquinas como CCL5 (28). En modelos animales, se ha demostrado que la infección por VRS aumenta la secreción pulmonar de IL-6 y TNF- α (236, 237). Bloquear TNF- α con anticuerpos específicos en ratones empeora la infección por VRS, causando mayor pérdida de peso y retraso en la recuperación (238). Esta elevación de IL-6 y TNF- α también se ha detectado en muestras nasofaríngeas de niños infectados por VRS (239).

TNF- α actúa como factor protector contra la infección por VRS. Pacientes con un curso clínico estable tienen niveles altos de TNF- α y de IL-6 (238), mientras que aquellos con mayor gravedad muestran una disminución en la producción de TNF- α (52), lo cual concuerda con nuestros resultados. La producción de TNF- α e IL-6 es significativamente menor en pacientes ingresados en unidades de cuidados intensivos en comparación con pacientes ingresados en plantas de hospitalización y con controles sanos, además estos pacientes presentan estancias hospitalarias más largas (52).

Los niveles de TNF- α también están relacionados con complicaciones posteriores a la infección. Una predisposición genética a la sobreexpresión de TNF- α puede provocar una inflamación pronunciada de las vías respiratorias, resultando una infección por VRS más

severa y en la aparición de asma (240). Esto parece deberse a que TNF- α tiene un papel importante en la inflamación eosinofílica en paciente con bronquiolitis por VRS, ya que sus niveles se correlacionan positivamente con los de GM-CSF, IFN- γ y eotaxina, moléculas implicadas en la activación de la respuesta eosinofílica (241).

Por tanto, nuestros datos sugieren que la expresión de los genes *CCL5* y *TNF α* , cuantificada mediante qPCR, puede ser un potencial biomarcador predictivo en la práctica clínica.

6.3. Sinopsis

Esta tesis presenta los hallazgos de tres estudios sobre diferentes aspectos de las infecciones por el VRS y sus efectos en la salud infantil (**Figura 9**). Los estudios investigaron:

- 1.- La influencia de los factores ambientales en los ingresos hospitalarios por IRAB viral en niños pequeños.
- 2.- Los perfiles de expresión génica asociados con hipoxemia grave al ingreso y la progresión de bronquiolitis por VRS durante la estancia hospitalaria.

Al combinar esta información, buscamos proporcionar una comprensión integral de los factores que contribuyen a la gravedad y la progresión de las infecciones por VRS.

Factores ambientales

Determinados factores ambientales influyen significativamente en la incidencia y gravedad de las IRAB virales en niños pequeños. Nuestros hallazgos muestran que las condiciones climáticas, como temperaturas más bajas y mayor humedad relativa, se asocian con un aumento de los ingresos hospitalarios por IRAB virales. Estas condiciones probablemente mejoran la estabilidad y transmisión del virus, contribuyendo a tasas de infección más altas durante los meses fríos y húmedos.

Además, la exposición a contaminantes atmosféricos como NO₂, SO₂, O₃ y PM₁₀ se ha relacionado con un aumento de los ingresos hospitalarios por IRAB virales. Estos contaminantes pueden exacerbar las enfermedades respiratorias preexistentes y

afectar la función inmunitaria, haciendo que los niños sean más susceptibles a infecciones graves.

Respuesta inmunitaria y expresión génica

La respuesta inmunitaria del huésped juega un papel crucial en el control de la infección por VRS. Nuestros estudios identificaron diferencias significativas en la expresión de genes inflamatorios y antivirales en la sangre periférica de niños infectados por VRS.

Específicamente, en niños con hipoxemia grave ($SpO_2 \leq 90\%$), se observaron niveles elevados de expresión de *CXCL8 (IL8)* y una menor expresión de *ISG15*, *IFIT1*, *RIGI*, *IFN β* , *CCL5* y *CXCL10*. Este desequilibrio, que favorece la inflamación sobre la defensa antiviral, resalta el papel fundamental de una respuesta antiviral eficaz para reducir la gravedad de las infecciones por VRS. La sobreexpresión de *CXCL8*, una quimioquina clave en el reclutamiento de neutrófilos a los sitios de infección, puede aumentar la inflamación y contribuir a la hipoxemia al obstruir las vías respiratorias y dificultar el intercambio gaseoso.

Además, los niveles bajos de expresión de *TNF α* y de *CCL5* se asociaron con una progresión desfavorable de la bronquiolitis por VRS. Esto sugiere que una respuesta inmunitaria inadecuada, con expresión reducida de estos genes, no ayuda al control eficaz de la replicación del VRS, lo que conduce a una mayor gravedad de la enfermedad.

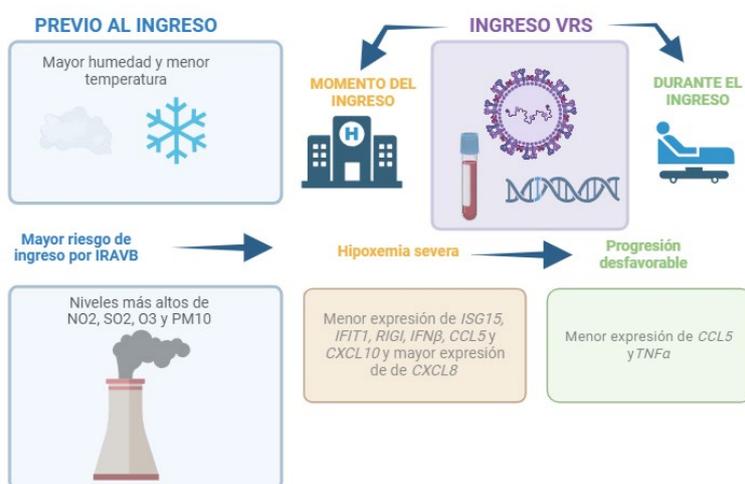


Figura 9 Representación esquemática de los resultados obtenidos.

Implicaciones clínicas

Por un lado, las condiciones ambientales pueden servir para prever un incremento en la tasa de ingresos hospitalarios en niños con IRAB viral. Además, también puede sugerir que un control a la exposición ambiental, especialmente en áreas urbanas con alta contaminación, podría reducir el riesgo de infecciones respiratorias graves en niños pequeños.

Por otro lado, la identificación de biomarcadores en sangre periférica, puede detectar tempranamente a pacientes con alto riesgo de hipoxemia y bronquiolitis grave por VRS. Implementar análisis de sangre de rutina para medir estos biomarcadores ayudaría a los médicos a predecir la progresión de la enfermedad y adaptar las estrategias de tratamiento.

6.4. Limitaciones de la investigación

En general, los estudios incluidos en esta memoria presentan varias limitaciones:

En el primer artículo:

- Utilizar el CMBD como base de datos puede inducir sesgos debido a su diseño retrospectivo y la falta de información clínica relevante para interpretar las IRAB virales.
- La precisión del CMBD en el diagnóstico de IRAB viral es desconocida, lo que puede generar sesgos de confusión. También, el anonimato del CMBD dificulta identificar si algunos niños han sido hospitalizados varias veces.
- No contamos con datos sobre los contaminantes del aire interior, que también pueden influir en la susceptibilidad a las IRAB virales.

En el segundo y tercer:

- El tamaño de la muestral es bajo, lo que podría afectar a la validez del estudio y al poder estadístico del análisis.
- El diseño observacional puede haber introducido sesgos. No se disponía de una cohorte adicional para validar los resultados.

- El diseño transversal del segundo artículo puede haber introducido sesgos, como el sesgo de causalidad, ya que no aclara si la expresión génica es una causa o un efecto de la falta de oxígeno.
- Evaluamos un número limitado de biomarcadores.
- Alrededor del 70% de los pacientes eran de origen caucásico, por lo que la aplicabilidad de nuestros datos a otras poblaciones puede ser limitada.
- No se evaluó el impacto de los tratamientos contra el VRS. Sin embargo, solo cuatro niños, un número muy bajo, recibieron palivizumab, y ninguno recibió nirsevimab, por lo que no se espera que este tratamiento afecte significativamente los resultados del estudio.
- No teníamos muestras de mucosa respiratoria para evaluar la expresión génica de estos genes de respuesta innata.

7. Conclusiones

El presente trabajo ofrece una visión amplia de cómo los factores climáticos y los contaminantes atmosféricos influyen en las admisiones hospitalarias por IRAB viral en niños pequeños. También explora la relación entre la expresión génica en sangre periférica y la hipoxemia, así como la progresión de la bronquiolitis en niños con VRS, identificando posibles biomarcadores predictivos de la enfermedad. A continuación, se presenta las principales conclusiones:

Previo al ingreso: Riesgo de ingreso hospitalario por IRAB viral:

Artículo 1:

- 1 Una menor temperatura una semana antes del evento (ingreso hospitalario) y una mayor humedad relativa una y dos semanas antes del evento se asocian con un mayor riesgo de ingreso hospitalario por IRAB viral en pacientes menores de dos años.
- 2 Altos niveles de contaminantes atmosféricos como SO₂, O₃ y PM₁₀ en el día de la admisión, y NO₂ dos semanas antes, se asocian con un mayor riesgo de hospitalización por IRAB viral. En particular, el O₃ es el factor ambiental más crítico, mostrando una fuerte asociación con las admisiones hospitalarias en todos los períodos evaluados.

En el momento del ingreso hospitalario: riesgo de hipoxemia severa

Artículo 2:

- 3 Los niños con hipoxemia severa mostraron una alta expresión de *CXCL8* y una baja expresión de genes antivirales como *ISG15*, *IFIT1*, *RIGI*, *IFN β* , *CCL5* y *CXCL10*. Este desequilibrio sugiere una respuesta inmune comprometida que podría aumentar la susceptibilidad a infecciones graves por VRS.
- 4 Las expresiones génicas de *CXCL8*, *ISG15*, *IFIT1*, *RIGI* y *CXCL10* tenían valores de importancia variable en proyección (VIP) ≥ 1 , siendo las más relevantes.

Durante el ingreso hospitalario: riesgo de progresión desfavorable

Artículo 3:

- 5 Una baja expresión génica de *CCL5* y *TNF α* en las células mononucleares de sangre periférica se asocia con una progresión desfavorable de la bronquiolitis por VRS.
- 6 *CCL5* y *TNF α* podrían servir como biomarcadores potenciales para predecir la progresión de la bronquiolitis por VRS en el entorno clínico, proporcionando además información valiosa sobre la inmunopatología de la infección por VRS.

8. Bibliografía

1. Collins PL, Melero JA. Progress in understanding and controlling respiratory syncytial virus: still crazy after all these years. *Virus Res.* 2011;162(1-2):80-99.
2. Mejías A, Chávez-Bueno S, Ríos AM, Fonseca-Aten M, Gómez AM, Jafri HS, et al. [Asthma and respiratory syncytial virus. New opportunities for therapeutic intervention]. *An Pediatr (Barc).* 2004;61(3):252-60.
3. Mammás IN, Drysdale SB, Rath B, Theodoridou M, Papaioannou G, Papatheodoropoulou A, et al. Update on current views and advances on RSV infection (Review). *Int J Mol Med.* 2020;46(2):509-20.
4. Battles MB, McLellan JS. Respiratory syncytial virus entry and how to block it. *Nat Rev Microbiol.* 2019;17(4):233-45.
5. Kaler J, Hussain A, Patel K, Hernandez T, Ray S. Respiratory Syncytial Virus: A Comprehensive Review of Transmission, Pathophysiology, and Manifestation. *Cureus.* 2023;15(3):e36342.
6. Shilovskiy IP, Yumashev KV, Nikolsky AA, Vishnyakova LI, Khaitov MR. Molecular and Cellular Mechanisms of Respiratory Syncytial Viral Infection: Using Murine Models to Understand Human Pathology. *Biochemistry (Mosc).* 2021;86(3):290-306.
7. Eiland LS. Respiratory syncytial virus: diagnosis, treatment and prevention. *J Pediatr Pharmacol Ther.* 2009;14(2):75-85.
8. Agac A, Kolbe SM, Ludlow M, Osterhaus A, Meineke R, Rimmelzwaan GF. Host Responses to Respiratory Syncytial Virus Infection. *Viruses.* 2023;15(10).
9. Feng Z, Xu L, Xie Z. Receptors for Respiratory Syncytial Virus Infection and Host Factors Regulating the Life Cycle of Respiratory Syncytial Virus. *Front Cell Infect Microbiol.* 2022;12:858629.
10. Bueno SM, González PA, Pacheco R, Leiva ED, Cautivo KM, Tobar HE, et al. Host immunity during RSV pathogenesis. *Int Immunopharmacol.* 2008;8(10):1320-9.
11. Sun Y, López CB. The innate immune response to RSV: Advances in our understanding of critical viral and host factors. *Vaccine.* 2017;35(3):481-8.
12. Lambert L, Sagfors AM, Openshaw PJ, Culley FJ. Immunity to RSV in Early-Life. *Front Immunol.* 2014;5:466.
13. Martín-Vicente M, Resino S, Martínez I. Early innate immune response triggered by the human respiratory syncytial virus and its regulation by ubiquitination/deubiquitination processes. *J Biomed Sci.* 2022;29(1):11.
14. Van Royen T, Rossey I, Sedeyn K, Schepens B, Saelens X. How RSV Proteins Join Forces to Overcome the Host Innate Immune Response. *Viruses.* 2022;14(2).
15. Sen GC, Sarkar SN. The interferon-stimulated genes: targets of direct signaling by interferons, double-stranded RNA, and viruses. *Curr Top Microbiol Immunol.* 2007;316:233-50.
16. Cortjens B, Yasuda E, Yu X, Wagner K, Claassen YB, Bakker AQ, et al. Broadly Reactive Anti-Respiratory Syncytial Virus G Antibodies from Exposed Individuals Effectively Inhibit Infection of Primary Airway Epithelial Cells. *J Virol.* 2017;91(10).
17. Andreano E, Paciello I, Bardelli M, Tavarini S, Sammicheli C, Frigimelica E, et al. The respiratory syncytial virus (RSV) prefusion F-protein functional antibody repertoire in adult healthy donors. *EMBO Mol Med.* 2021;13(6):e14035.
18. Schmidt ME, Meyerholz DK, Varga SM. Pre-existing neutralizing antibodies prevent CD8 T cell-mediated immunopathology following respiratory syncytial virus infection. *Mucosal Immunol.* 2020;13(3):507-17.
19. Glezen WP, Paredes A, Allison JE, Taber LH, Frank AL. Risk of respiratory syncytial virus infection for infants from low-income families in relationship to age, sex, ethnic group, and maternal antibody level. *J Pediatr.* 1981;98(5):708-15.
20. Piedra PA, Jewell AM, Cron SG, Atmar RL, Glezen WP. Correlates of immunity to respiratory syncytial virus (RSV) associated-hospitalization: establishment of minimum protective threshold levels of serum neutralizing antibodies. *Vaccine.* 2003;21(24):3479-82.

21. Falsey AR. Respiratory syncytial virus infection in adults. *Semin Respir Crit Care Med*. 2007;28(2):171-81.
22. Luchsinger V, Piedra PA, Ruiz M, Zunino E, Martínez MA, Machado C, et al. Role of neutralizing antibodies in adults with community-acquired pneumonia by respiratory syncytial virus. *Clin Infect Dis*. 2012;54(7):905-12.
23. Chu HY, Steinhoff MC, Magaret A, Zaman K, Roy E, Langdon G, et al. Respiratory syncytial virus transplacental antibody transfer and kinetics in mother-infant pairs in Bangladesh. *J Infect Dis*. 2014;210(10):1582-9.
24. Habibi MS, Jozwik A, Makris S, Dunning J, Paras A, DeVincenzo JP, et al. Impaired Antibody-mediated Protection and Defective IgA B-Cell Memory in Experimental Infection of Adults with Respiratory Syncytial Virus. *Am J Respir Crit Care Med*. 2015;191(9):1040-9.
25. Goodwin E, Gilman MSA, Wrapp D, Chen M, Ngwuta JO, Moin SM, et al. Infants Infected with Respiratory Syncytial Virus Generate Potent Neutralizing Antibodies that Lack Somatic Hypermutation. *Immunity*. 2018;48(2):339-49.e5.
26. Graham BS, Bunton LA, Wright PF, Karzon DT. Role of T lymphocyte subsets in the pathogenesis of primary infection and rechallenge with respiratory syncytial virus in mice. *J Clin Invest*. 1991;88(3):1026-33.
27. Cheng FW, Lee V, Shing MM, Li CK. Prolonged shedding of respiratory syncytial virus in immunocompromised children: implication for hospital infection control. *J Hosp Infect*. 70. England2008. p. 383-5.
28. Russell CD, Unger SA, Walton M, Schwarze J. The Human Immune Response to Respiratory Syncytial Virus Infection. *Clin Microbiol Rev*. 2017;30(2):481-502.
29. Bettelli E, Korn T, Oukka M, Kuchroo VK. Induction and effector functions of T(H)17 cells. *Nature*. 2008;453(7198):1051-7.
30. Everard ML, Swarbrick A, Wrighttham M, McIntyre J, Dunkley C, James PD, et al. Analysis of cells obtained by bronchial lavage of infants with respiratory syncytial virus infection. *Arch Dis Child*. 1994;71(5):428-32.
31. Cortjens B, de Boer OJ, de Jong R, Antonis AF, Sabogal Piñeros YS, Lutter R, et al. Neutrophil extracellular traps cause airway obstruction during respiratory syncytial virus disease. *J Pathol*. 2016;238(3):401-11.
32. Rosenberg HF, Domachowske JB. Eosinophils, eosinophil ribonucleases, and their role in host defense against respiratory virus pathogens. *J Leukoc Biol*. 2001;70(5):691-8.
33. Sastre B, García-García ML, Calvo C, Casas I, Rodrigo-Muñoz JM, Cañas JA, et al. Immune recovery following bronchiolitis is linked to a drop in cytokine and LTC4 levels. *Pediatr Res*. 2020;87(3):581-7.
34. Weng K, Zhang J, Mei X, Wu A, Zhang B, Cai M, et al. Lower number of plasmacytoid dendritic cells in peripheral blood of children with bronchiolitis following respiratory syncytial virus infection. *Influenza Other Respir Viruses*. 2014;8(4):469-73.
35. Polack FP, Teng MN, Collins PL, Prince GA, Exner M, Regele H, et al. A role for immune complexes in enhanced respiratory syncytial virus disease. *J Exp Med*. 2002;196(6):859-65.
36. Roe MF, Bloxham DM, White DK, Ross-Russell RI, Tasker RT, O'Donnell DR. Lymphocyte apoptosis in acute respiratory syncytial virus bronchiolitis. *Clin Exp Immunol*. 2004;137(1):139-45.
37. Yao S, Jiang L, Moser EK, Jewett LB, Wright J, Du J, et al. Control of pathogenic effector T-cell activities in situ by PD-L1 expression on respiratory inflammatory dendritic cells during respiratory syncytial virus infection. *Mucosal Immunol*. 2015;8(4):746-59.
38. de Souza AP, de Freitas DN, Antunes Fernandes KE, D'Avila da Cunha M, Antunes Fernandes JL, Benetti Gassen R, et al. Respiratory syncytial virus induces phosphorylation of mTOR at ser2448 in CD8 T cells from nasal washes of infected infants. *Clin Exp Immunol*. 2016;183(2):248-57.
39. Barnes MVC, Openshaw PJM, Thwaites RS. Mucosal Immune Responses to Respiratory Syncytial Virus. *Cells*. 2022;11(7).

40. Vu LD, Siefker D, Jones TL, You D, Taylor R, DeVincenzo J, et al. Elevated Levels of Type 2 Respiratory Innate Lymphoid Cells in Human Infants with Severe Respiratory Syncytial Virus Bronchiolitis. *Am J Respir Crit Care Med*. 2019;200(11):1414-23.
41. Byeon JH, Lee JC, Choi IS, Yoo Y, Park SH, Choung JT. Comparison of cytokine responses in nasopharyngeal aspirates from children with viral lower respiratory tract infections. *Acta Paediatr*. 2009;98(4):725-30.
42. Bermejo-Martin JF, Garcia-Arevalo MC, De Lejarazu RO, Ardura J, Eiros JM, Alonso A, et al. Predominance of Th2 cytokines, CXC chemokines and innate immunity mediators at the mucosal level during severe respiratory syncytial virus infection in children. *Eur Cytokine Netw*. 2007;18(3):162-7.
43. Legg JP, Hussain IR, Warner JA, Johnston SL, Warner JO. Type 1 and type 2 cytokine imbalance in acute respiratory syncytial virus bronchiolitis. *Am J Respir Crit Care Med*. 2003;168(6):633-9.
44. Thwaites RS, Coates M, Ito K, Ghazaly M, Feather C, Abdulla F, et al. Reduced Nasal Viral Load and IFN Responses in Infants with Respiratory Syncytial Virus Bronchiolitis and Respiratory Failure. *Am J Respir Crit Care Med*. 2018;198(8):1074-84.
45. Vázquez Y, González L, Noguera L, González PA, Riedel CA, Bertrand P, et al. Cytokines in the Respiratory Airway as Biomarkers of Severity and Prognosis for Respiratory Syncytial Virus Infection: An Update. *Front Immunol*. 2019;10:1154.
46. Díaz PV, Valdivia G, Gaggero AA, Bono MR, Zepeda G, Rivas M, et al. Pro-Inflammatory Cytokines in Nasopharyngeal Aspirate From Hospitalized Children With Respiratory Syncytial Virus Infection With or Without Rhinovirus Bronchiolitis, and Use of the Cytokines as Predictors of Illness Severity. *Medicine (Baltimore)*. 2015;94(39):e1512.
47. Tabarani CM, Bonville CA, Suryadevara M, Branigan P, Wang D, Huang D, et al. Novel inflammatory markers, clinical risk factors and virus type associated with severe respiratory syncytial virus infection. *Pediatr Infect Dis J*. 2013;32(12):e437-42.
48. Chen ZM, Mao JH, Du LZ, Tang YM. Association of cytokine responses with disease severity in infants with respiratory syncytial virus infection. *Acta Paediatr*. 2002;91(9):914-22.
49. Öner D, Drysdale SB, McPherson C, Lin GL, Janet S, Broad J, et al. Biomarkers for Disease Severity in Children Infected With Respiratory Syncytial Virus: A Systematic Literature Review. *J Infect Dis*. 2020;222(Suppl 7):S648-S57.
50. Juntti H, Osterlund P, Kokkonen J, Dunder T, Renko M, Pokka T, et al. Cytokine responses in cord blood predict the severity of later respiratory syncytial virus infection. *J Allergy Clin Immunol*. 2009;124(1):52-8.e1-2.
51. Bont L, Heijnen CJ, Kavelaars A, van Aalderen WM, Brus F, Draaisma JT, et al. Peripheral blood cytokine responses and disease severity in respiratory syncytial virus bronchiolitis. *Eur Respir J*. 1999;14(1):144-9.
52. Mella C, Suarez-Arrabal MC, Lopez S, Stephens J, Fernandez S, Hall MW, et al. Innate immune dysfunction is associated with enhanced disease severity in infants with severe respiratory syncytial virus bronchiolitis. *J Infect Dis*. 2013;207(4):564-73.
53. Nicholson EG, Schlegel C, Garofalo RP, Mehta R, Scheffler M, Mei M, et al. Robust Cytokine and Chemokine Response in Nasopharyngeal Secretions: Association With Decreased Severity in Children With Physician Diagnosed Bronchiolitis. *J Infect Dis*. 2016;214(4):649-55.
54. Turi KN, Shankar J, Anderson LJ, Rajan D, Gaston K, Gebretsadik T, et al. Infant Viral Respiratory Infection Nasal Immune-Response Patterns and Their Association with Subsequent Childhood Recurrent Wheeze. *Am J Respir Crit Care Med*. 2018;198(8):1064-73.
55. Rodríguez-Fernández R, González-Martínez F, González-Sánchez MI, Hernández-Sampelayo T, Jimenez JL, Muñoz-Fernández MA, et al. Longitudinal plasma cytokine concentrations and recurrent wheezing after RSV bronchiolitis. *Cytokine*. 2021;140:155434.
56. Kitcharoensakkul M, Bacharier LB, Yin-Declue H, Boomer JS, Sajol G, Leung MK, et al. Impaired tumor necrosis factor- α secretion by CD4 T cells during respiratory syncytial virus bronchiolitis associated with recurrent wheeze. *Immun Inflamm Dis*. 2020;8(1):30-9.

57. Lahti M, Lofgren J, Marttila R, Renko M, Klapavuniemi T, Haataja R, et al. Surfactant protein D gene polymorphism associated with severe respiratory syncytial virus infection. *Pediatr Res*. 2002;51(6):696-9.
58. Faber TE, Schuurhof A, Vonk A, Koppelman GH, Hennis MP, Kimpen JL, et al. IL1RL1 gene variants and nasopharyngeal IL1RL-a levels are associated with severe RSV bronchiolitis: a multicenter cohort study. *PLoS One*. 2012;7(5):e34364.
59. Choi EH, Lee HJ, Yoo T, Chanock SJ. A common haplotype of interleukin-4 gene IL4 is associated with severe respiratory syncytial virus disease in Korean children. *J Infect Dis*. 2002;186(9):1207-11.
60. Amanatidou V, Sourvinos G, Apostolakis S, Neonaki P, Tsilimigaki A, Krambovitis E, et al. RANTES promoter gene polymorphisms and susceptibility to severe respiratory syncytial virus-induced bronchiolitis. *Pediatr Infect Dis J*. 2008;27(1):38-42.
61. Tahamtan A, Askari FS, Bont L, Salimi V. Disease severity in respiratory syncytial virus infection: Role of host genetic variation. *Rev Med Virol*. 2019;29(2):e2026.
62. Thomsen SF, Stensballe LG, Skytthe A, Kyvik KO, Backer V, Bisgaard H. Increased concordance of severe respiratory syncytial virus infection in identical twins. *Pediatrics*. 2008;121(3):493-6.
63. Hoebee B, Bont L, Rietveld E, van Oosten M, Hodemaekers HM, Nagelkerke NJ, et al. Influence of promoter variants of interleukin-10, interleukin-9, and tumor necrosis factor-alpha genes on respiratory syncytial virus bronchiolitis. *J Infect Dis*. 2004;189(2):239-47.
64. Bont L, Checchia PA, Fauroux B, Figueras-Aloy J, Manzoni P, Paes B, et al. Defining the Epidemiology and Burden of Severe Respiratory Syncytial Virus Infection Among Infants and Children in Western Countries. *Infect Dis Ther*. 2016;5(3):271-98.
65. Li Y, Wang X, Blau DM, Caballero MT, Feikin DR, Gill CJ, et al. Global, regional, and national disease burden estimates of acute lower respiratory infections due to respiratory syncytial virus in children younger than 5 years in 2019: a systematic analysis. *Lancet*. 2022;399(10340):2047-64.
66. Hall CB, Weinberg GA, Iwane MK, Blumkin AK, Edwards KM, Staat MA, et al. The burden of respiratory syncytial virus infection in young children. *N Engl J Med*. 2009;360(6):588-98.
67. Wildenbeest JG, Billard MN, Zuurbier RP, Korsten K, Langedijk AC, van de Ven PM, et al. The burden of respiratory syncytial virus in healthy term-born infants in Europe: a prospective birth cohort study. *Lancet Respir Med*. 2023;11(4):341-53.
68. Pokrzywinski RM, Swett LL, Pannaraj PS, Yi J, Pavilack MS, Kumar VR, et al. Impact of Respiratory Syncytial Virus-Confirmed Hospitalizations on Caregivers of US Preterm Infants. *Clin Pediatr (Phila)*. 2019;58(8):837-50.
69. Shi T, McAllister DA, O'Brien KL, Simoes EAF, Madhi SA, Gessner BD, et al. Global, regional, and national disease burden estimates of acute lower respiratory infections due to respiratory syncytial virus in young children in 2015: a systematic review and modelling study. *Lancet*. 2017;390(10098):946-58.
70. Obando-Pacheco P, Justicia-Grande AJ, Rivero-Calle I, Rodríguez-Tenreiro C, Sly P, Ramilo O, et al. Respiratory Syncytial Virus Seasonality: A Global Overview. *J Infect Dis*. 2018;217(9):1356-64.
71. Fares A. Factors influencing the seasonal patterns of infectious diseases. *Int J Prev Med*. 2013;4(2):128-32.
72. Adegboye OA, McBryde ES, Eisen DP. Epidemiological analysis of association between lagged meteorological variables and pneumonia in wet-dry tropical North Australia, 2006-2016. *J Expo Sci Environ Epidemiol*. 2020;30(3):448-58.
73. Huh K, Hong J, Jung J. Association of meteorological factors and atmospheric particulate matter with the incidence of pneumonia: an ecological study. *Clin Microbiol Infect*. 2020;26(12):1676-83.

74. Lam HCY, Chan EYY, Goggins WB, 3rd. Short-term Association Between Meteorological Factors and Childhood Pneumonia Hospitalization in Hong Kong: A Time-series Study. *Epidemiology*. 2019;30 Suppl 1:S107-s14.
75. Wang X, Li Y, O'Brien KL, Madhi SA, Widdowson MA, Byass P, et al. Global burden of respiratory infections associated with seasonal influenza in children under 5 years in 2018: a systematic review and modelling study. *Lancet Glob Health*. 2020;8(4):e497-e510.
76. Xu B, Wang J, Li Z, Xu C, Liao Y, Hu M, et al. Seasonal association between viral causes of hospitalised acute lower respiratory infections and meteorological factors in China: a retrospective study. *Lancet Planet Health*. 2021;5(3):e154-e63.
77. Sun Z, Zhu D. Exposure to outdoor air pollution and its human health outcomes: A scoping review. *PLoS One*. 2019;14(5):e0216550.
78. Domingo JL, Rovira J. Effects of air pollutants on the transmission and severity of respiratory viral infections. *Environ Res*. 2020;187:109650.
79. Manisalidis I, Stavropoulou E, Stavropoulos A, Bezirtzoglou E. Environmental and Health Impacts of Air Pollution: A Review. *Front Public Health*. 2020;8:14.
80. Liu Y, Zhou Y, Lu J. Exploring the relationship between air pollution and meteorological conditions in China under environmental governance. *Sci Rep*. 2020;10(1):14518.
81. Silveyra P, Fuentes N, Rodriguez Bauza DE. Sex and Gender Differences in Lung Disease. *Adv Exp Med Biol*. 2021;1304:227-58.
82. Falagas ME, Mourtzoukou EG, Vardakas KZ. Sex differences in the incidence and severity of respiratory tract infections. *Respir Med*. 2007;101(9):1845-63.
83. Shi T, Balsells E, Wastnedge E, Singleton R, Rasmussen ZA, Zar HJ, et al. Risk factors for respiratory syncytial virus associated with acute lower respiratory infection in children under five years: Systematic review and meta-analysis. *J Glob Health*. 2015;5(2):020416.
84. Simoes EA. Environmental and demographic risk factors for respiratory syncytial virus lower respiratory tract disease. *J Pediatr*. 2003;143(5 Suppl):S118-26.
85. Haddadin Z, Beveridge S, Fernandez K, Rankin DA, Probst V, Spieker AJ, et al. Respiratory Syncytial Virus Disease Severity in Young Children. *Clin Infect Dis*. 2021;73(11):e4384-e91.
86. Na'amnih W, Kassem E, Tannous S, Kagan V, Jbali A, Hanukayev E, et al. Incidence and risk factors of hospitalisations for respiratory syncytial virus among children aged less than 2 years. *Epidemiol Infect*. 2022;150:e45.
87. Nguyen SN, Nguyen TNT, Vu LT, Nguyen TD. Clinical Epidemiological Characteristics and Risk Factors for Severe Bronchiolitis Caused by Respiratory Syncytial Virus in Vietnamese Children. *Int J Pediatr*. 2021;2021:9704666.
88. Sommer C, Resch B, Simões EA. Risk factors for severe respiratory syncytial virus lower respiratory tract infection. *Open Microbiol J*. 2011;5:144-54.
89. Cassimos DC, Tsalkidis A, Tripsianis GA, Stogiannidou A, Anthracopoulos M, Ktenidou-Kartali S, et al. Asthma, lung function and sensitization in school children with a history of bronchiolitis. *Pediatr Int*. 2008;50(1):51-6.
90. Zhu G, Xu D, Zhang Y, Wang T, Zhang L, Gu W, et al. Epidemiological characteristics of four common respiratory viral infections in children. *Virology*. 2021;18(1):10.
91. Kurskaya O, Ryabichenko T, Leonova N, Shi W, Bi H, Sharshov K, et al. Viral etiology of acute respiratory infections in hospitalized children in Novosibirsk City, Russia (2013 - 2017). *PLoS One*. 2018;13(9):e0200117.
92. Richter J, Panayiotou C, Tryfonos C, Koptides D, Koliou M, Kalogirou N, et al. Aetiology of Acute Respiratory Tract Infections in Hospitalised Children in Cyprus. *PLoS One*. 2016;11(1):e0147041.
93. Havdal LB, Bøås H, Bekkevold T, Bakken Kran AM, Rojahn AE, Størdal K, et al. Risk factors associated with severe disease in respiratory syncytial virus infected children under 5 years of age. *Front Pediatr*. 2022;10:1004739.

94. Nakajo K, Nishiura H. Age-specific hospitalization risk of primary and secondary respiratory syncytial virus infection among young children. *Int J Infect Dis.* 2022;124:14-20.
95. Ren S, Shi T, Shan W, Shen S, Chen Q, Zhang W, et al. Hospitalization rate of respiratory syncytial virus-associated acute lower respiratory infection among young children in Suzhou, China, 2010-2014. *Influenza Other Respir Viruses.* 2022;16(4):789-99.
96. Shi T, Vennard S, Mahdy S, Nair H, investigators R. Risk Factors for Poor Outcome or Death in Young Children With Respiratory Syncytial Virus-Associated Acute Lower Respiratory Tract Infection: A Systematic Review and Meta-Analysis. *J Infect Dis.* 2022;226(Suppl 1):S10-S6.
97. Homaira N, Briggs N, Oei JL, Hilder L, Bajuk B, Jaffe A, et al. Association of Age at First Severe Respiratory Syncytial Virus Disease With Subsequent Risk of Severe Asthma: A Population-Based Cohort Study. *J Infect Dis.* 2019;220(4):550-6.
98. Stein RT, Bont LJ, Zar H, Polack FP, Park C, Claxton A, et al. Respiratory syncytial virus hospitalization and mortality: Systematic review and meta-analysis. *Pediatr Pulmonol.* 2017;52(4):556-69.
99. Anderson J, Do LAH, Wurzel D, Quan Toh Z, Mulholland K, Pellicci DG, et al. Severe respiratory syncytial virus disease in preterm infants: a case of innate immaturity. *Thorax.* 2021;76(9):942-50.
100. Krilov LR, Anderson EJ. Respiratory syncytial virus hospitalizations in US preterm infants after the 2014 change in immunoprophylaxis guidance by the American Academy of Pediatrics. *J Perinatol.* 2020;40(8):1135-44.
101. Diggikar S, Paul A, Razak A, Chandrasekaran M, Swamy RS. Respiratory infections in children born preterm in low and middle-income countries: A systematic review. *Pediatr Pulmonol.* 2022;57(12):2903-14.
102. Meert K, Heidemann S, Abella B, Sarnaik A. Does prematurity alter the course of respiratory syncytial virus infection? *Crit Care Med.* 1990;18(12):1357-9.
103. Hossain S, Miharshahi S. Exclusive Breastfeeding and Childhood Morbidity: A Narrative Review. *Int J Environ Res Public Health.* 2022;19(22).
104. Openshaw PJM, Chiu C, Culley FJ, Johansson C. Protective and Harmful Immunity to RSV Infection. *Annu Rev Immunol.* 2017;35:501-32.
105. Cai W, Buda S, Schuler E, Hirve S, Zhang W, Haas W. Risk factors for hospitalized respiratory syncytial virus disease and its severe outcomes. *Influenza Other Respir Viruses.* 2020;14(6):658-70.
106. Thorburn K. Pre-existing disease is associated with a significantly higher risk of death in severe respiratory syncytial virus infection. *Arch Dis Child.* 2009;94(2):99-103.
107. Maedel C, Kainz K, Frischer T, Reinweber M, Zacharasiewicz A. Increased severity of respiratory syncytial virus airway infection due to passive smoke exposure. *Pediatr Pulmonol.* 2018;53(9):1299-306.
108. Joad JP. Smoking and pediatric respiratory health. *Clin Chest Med.* 2000;21(1):37-46, vii-viii.
109. Adler A, Ngo L, Tosta P, Tager IB. Association of tobacco smoke exposure and respiratory syncytial virus infection with airways reactivity in early childhood. *Pediatr Pulmonol.* 2001;32(6):418-27.
110. Holmen JE, Kim L, Cikesh B, Kirley PD, Chai SJ, Bennett NM, et al. Relationship between neighborhood census-tract level socioeconomic status and respiratory syncytial virus-associated hospitalizations in U.S. adults, 2015-2017. *BMC Infect Dis.* 2021;21(1):293.
111. Sloan C, Moore ML, Hartert T. Impact of pollution, climate, and sociodemographic factors on spatiotemporal dynamics of seasonal respiratory viruses. *Clin Transl Sci.* 2011;4(1):48-54.
112. Beamer PI, Lothrop N, Lu Z, Ascher R, Ernst K, Stern DA, et al. Spatial clusters of child lower respiratory illnesses associated with community-level risk factors. *Pediatr Pulmonol.* 2016;51(6):633-42.

113. Holberg CJ, Wright AL, Martinez FD, Ray CG, Taussig LM, Lebowitz MD. Risk factors for respiratory syncytial virus-associated lower respiratory illnesses in the first year of life. *Am J Epidemiol.* 1991;133(11):1135-51.
114. Colosia A, Costello J, McQuarrie K, Kato K, Bertzos K. Systematic literature review of the signs and symptoms of respiratory syncytial virus. *Influenza Other Respir Viruses.* 2023;17(2):e13100.
115. Bianchini S, Silvestri E, Argentiero A, Fainardi V, Pisi G, Esposito S. Role of Respiratory Syncytial Virus in Pediatric Pneumonia. *Microorganisms.* 2020;8(12).
116. Black CP. Systematic review of the biology and medical management of respiratory syncytial virus infection. *Respir Care.* 2003;48(3):209-31; discussion 31-3.
117. Aherne W, Bird T, Court SD, Gardner PS, McQuillin J. Pathological changes in virus infections of the lower respiratory tract in children. *J Clin Pathol.* 1970;23(1):7-18.
118. Colby TV. Bronchiolitis. Pathologic considerations. *Am J Clin Pathol.* 1998;109(1):101-9.
119. McConnochie KM. Bronchiolitis. What's in the name? *Am J Dis Child.* 1983;137(1):11-3.
120. Cano-Garcinuño A, Praena-Crespo M, Mora-Gandarillas I, Carvajal-Urueña I, Callén-Bleuca MT, García-Merino Á. [Criteria heterogeneity in the diagnosis of acute bronchiolitis in Spain]. *An Pediatr (Engl Ed).* 2019;90(2):109-17.
121. Jha A, Jarvis H, Fraser C, Openshaw PJM. Wellcome Trust–Funded Monographs and Book Chapters. Respiratory Syncytial Virus. In: Hui DS, Rossi GA, Johnston SL, editors. SARS, MERS and other Viral Lung Infections. Sheffield (UK): European Respiratory Society © Ers 2016.; 2016.
122. Arriola CS, Kim L, Langley G, Anderson EJ, Openo K, Martin AM, et al. Estimated Burden of Community-Onset Respiratory Syncytial Virus-Associated Hospitalizations Among Children Aged <2 Years in the United States, 2014-15. *J Pediatric Infect Dis Soc.* 2020;9(5):587-95.
123. González-Ortiz AM, Bernal-Silva S, Comas-García A, Vega-Morúa M, Garrocho-Rangel ME, Noyola DE. Severe Respiratory Syncytial Virus Infection in Hospitalized Children. *Arch Med Res.* 2019;50(6):377-83.
124. Havdal LB, Bøås H, Bekkevold T, Kran AB, Rojahn AE, Størdal K, et al. The burden of respiratory syncytial virus in children under 5 years of age in Norway. *J Infect.* 2022;84(2):205-15.
125. Granda E, Urbano M, Andrés P, Corchete M, Cano A, Velasco R. Comparison of severity scales for acute bronchiolitis in real clinical practice. *Eur J Pediatr.* 2023;182(4):1619-26.
126. Mulholland EK, Olinsky A, Shann FA. Clinical findings and severity of acute bronchiolitis. *Lancet.* 1990;335(8700):1259-61.
127. Geoghegan S, Erviti A, Caballero MT, Vallone F, Zanone SM, Losada JV, et al. Mortality due to respiratory syncytial virus. Burden and risk factors. *American journal of respiratory and critical care medicine.* 2017;195(1):96-103.
128. Fauroux B, Simões EAF, Checchia PA, Paes B, Figueras-Aloy J, Manzoni P, et al. The Burden and Long-term Respiratory Morbidity Associated with Respiratory Syncytial Virus Infection in Early Childhood. *Infect Dis Ther.* 2017;6(2):173-97.
129. Zhou Y, Tong L, Li M, Wang Y, Li L, Yang D, et al. Recurrent Wheezing and Asthma After Respiratory Syncytial Virus Bronchiolitis. *Front Pediatr.* 2021;9:649003.
130. Ding Q, Xu L, Zhu Y, Xu B, Chen X, Duan Y, et al. Comparison of clinical features of acute lower respiratory tract infections in infants with RSV/HRV infection, and incidences of subsequent wheezing or asthma in childhood. *BMC Infectious Diseases.* 2020;20(1):1-9.
131. Carroll KN, Wu P, Gebretsadik T, Griffin MR, Dupont WD, Mitchel EF, et al. The severity-dependent relationship of infant bronchiolitis on the risk and morbidity of early childhood asthma. *J Allergy Clin Immunol.* 2009;123(5):1055-61, 61.e1.
132. Eriksson M, Bennet R, Nilsson A. Wheezing following lower respiratory tract infections with respiratory syncytial virus and influenza A in infancy. *Pediatr Allergy Immunol.* 2000;11(3):193-7.

133. Ruotsalainen M, Piippo-Savolainen E, Hyvärinen MK, Korppi M. Respiratory morbidity in adulthood after respiratory syncytial virus hospitalization in infancy. *Pediatr Infect Dis J*. 2010;29(9):872-4.
134. Diagnosis and management of bronchiolitis. *Pediatrics*. 2006;118(4):1774-93.
135. Gastaldi A, Donà D, Barbieri E, Giaquinto C, Bont LJ, Baraldi E. COVID-19 Lesson for Respiratory Syncytial Virus (RSV): Hygiene Works. *Children (Basel)*. 2021;8(12).
136. Gatt D, Martin I, AlFouzan R, Moraes TJ. Prevention and Treatment Strategies for Respiratory Syncytial Virus (RSV). *Pathogens*. 2023;12(2).
137. Topalidou X, Kalergis AM, Papazisis G. Respiratory Syncytial Virus Vaccines: A Review of the Candidates and the Approved Vaccines. *Pathogens*. 2023;12(10).
138. Papi A, Ison MG, Langley JM, Lee DG, Leroux-Roels I, Martinon-Torres F, et al. Respiratory Syncytial Virus Prefusion F Protein Vaccine in Older Adults. *N Engl J Med*. 2023;388(7):595-608.
139. Kampmann B, Madhi SA, Munjal I, Simoes EAF, Pahud BA, Llapur C, et al. Bivalent Prefusion F Vaccine in Pregnancy to Prevent RSV Illness in Infants. *N Engl J Med*. 2023;388(16):1451-64.
140. Wu P, Escobar GJ, Gebretsadik T, Carroll KN, Li SX, Walsh EM, et al. Effectiveness of Respiratory Syncytial Virus Immunoprophylaxis in Reducing Bronchiolitis Hospitalizations Among High-Risk Infants. *Am J Epidemiol*. 2018;187(7):1490-500.
141. Jones JM, Fleming-Dutra KE, Prill MM, Roper LE, Brooks O, Sánchez PJ, et al. Use of Nirsevimab for the Prevention of Respiratory Syncytial Virus Disease Among Infants and Young Children: Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices - United States, 2023. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2023;72(34):920-5.
142. Keam SJ. Nirsevimab: First Approval. *Drugs*. 2023;83(2):181-7.
143. Drysdale SB, Cathie K, Flamein F, Knuf M, Collins AM, Hill HC, et al. Nirsevimab for Prevention of Hospitalizations Due to RSV in Infants. *N Engl J Med*. 2023;389(26):2425-35.
144. Ernst C, Bejko D, Gaasch L, Hannelas E, Kahn I, Pierron C, et al. Impact of nirsevimab prophylaxis on paediatric respiratory syncytial virus (RSV)-related hospitalisations during the initial 2023/24 season in Luxembourg. *Euro Surveill*. 2024;29(4).
145. López-Lacort M, Muñoz-Quiles C, Mira-Iglesias A, López-Labrador FX, Mengual-Chuliá B, Fernández-García C, et al. Early estimates of nirsevimab immunoprophylaxis effectiveness against hospital admission for respiratory syncytial virus lower respiratory tract infections in infants, Spain, October 2023 to January 2024. *Euro Surveill*. 2024;29(6).
146. Brown PM, Schneeberger DL, Piedimonte G. Biomarkers of respiratory syncytial virus (RSV) infection: specific neutrophil and cytokine levels provide increased accuracy in predicting disease severity. *Paediatr Respir Rev*. 2015;16(4):232-40.
147. Jin X, Wang Y, Xu J, Li Y, Cheng F, Luo Y, et al. Plasma cell-free DNA promise monitoring and tissue injury assessment of COVID-19. *Mol Genet Genomics*. 2023;298(4):823-36.
148. Qi E, Courcoubetis G, Liljegren E, Herrera E, Nguyen N, Nadri M, et al. Investigation of liquid biopsy analytes in peripheral blood of individuals after SARS-CoV-2 infection. *EBioMedicine*. 2023;90:104519.
149. Di Capua D, Bracken-Clarke D, Ronan K, Baird AM, Finn S. The Liquid Biopsy for Lung Cancer: State of the Art, Limitations and Future Developments. *Cancers (Basel)*. 2021;13(16).
150. Sims JT, Poorbaugh J, Chang CY, Holzer TR, Zhang L, Engle SM, et al. Relationship between gene expression patterns from nasopharyngeal swabs and serum biomarkers in patients hospitalized with COVID-19, following treatment with the neutralizing monoclonal antibody bamlanivimab. *J Transl Med*. 2022;20(1):134.
151. Álvaro-Meca A, Goetz MDC, Resino R, Matías V, Sepúlveda-Crespo D, Martínez I, et al. Environmental factors linked to hospital admissions in young children due to acute viral lower respiratory infections: A bidirectional case-crossover study. *Environ Res*. 2022;212(Pt B):113319.

152. Pita-Martínez C, Goez-Sanz C, Virseda-Berdices A, Gonzalez-Praetorius A, Mazario-Martín E, Rodríguez-Mesa M, et al. Low peripheral blood chemokine (C-C motif) ligand 5 and tumor necrosis factor α gene expression is associated with unfavorable progression of respiratory syncytial virus bronchiolitis in infants. *Int J Infect Dis.* 2024;138:97-101.
153. Institucional. Clasificación Internacional de Enfermedades. 9ª Revisión Modificada Clínica. CIE-9-MC. 9ª Edición ed2013.
154. Balaguer M, Alejandre C, Vila D, Esteban E, Carrasco JL, Cambra FJ, et al. Bronchiolitis Score of Sant Joan de Déu: BROSJOD Score, validation and usefulness. *Pediatr Pulmonol.* 2017;52(4):533-9.
155. Wood DW, Downes JJ, Lecks HI. A clinical scoring system for the diagnosis of respiratory failure. Preliminary report on childhood status asthmaticus. *Am J Dis Child.* 1972;123(3):227-8.
156. Sinclair R, Boone SA, Greenberg D, Keim P, Gerba CP. Persistence of category A select agents in the environment. *Appl Environ Microbiol.* 2008;74(3):555-63.
157. Wang ZB, Ren L, Lu QB, Zhang XA, Miao D, Hu YY, et al. The Impact of Weather and Air Pollution on Viral Infection and Disease Outcome Among Pediatric Pneumonia Patients in Chongqing, China, from 2009 to 2018: A Prospective Observational Study. *Clin Infect Dis.* 2021;73(2):e513-e22.
158. Nelson RJ, Demas GE. Seasonal changes in immune function. *Q Rev Biol.* 1996;71(4):511-48.
159. van Woudenberg E, van Rooijen DM, Veldman-Wolf JJ, Nicolaie MA, Huynen MA, van der Klis FRM, et al. Effect of age and season on respiratory mucosal immune marker profiles. *J Allergy Clin Immunol.* 2024;153(6):1681-91.e12.
160. Fisman D. Seasonality of viral infections: mechanisms and unknowns. *Clin Microbiol Infect.* 2012;18(10):946-54.
161. Alonso WJ, Laranjeira BJ, Pereira SA, Florencio CM, Moreno EC, Miller MA, et al. Comparative dynamics, morbidity and mortality burden of pediatric viral respiratory infections in an equatorial city. *Pediatr Infect Dis J.* 2012;31(1):e9-14.
162. Chadha M, Hirve S, Bancej C, Barr I, Baumeister E, Caetano B, et al. Human respiratory syncytial virus and influenza seasonality patterns-Early findings from the WHO global respiratory syncytial virus surveillance. *Influenza Other Respir Viruses.* 2020;14(6):638-46.
163. Suryadevara M, Domachowske JB. Epidemiology and Seasonality of Childhood Respiratory Syncytial Virus Infections in the Tropics. *Viruses.* 2021;13(4).
164. Staadegaard L, Caini S, Wangchuk S, Thapa B, de Almeida WAF, de Carvalho FC, et al. Defining the seasonality of respiratory syncytial virus around the world: National and subnational surveillance data from 12 countries. *Influenza Other Respir Viruses.* 2021;15(6):732-41.
165. Meerhoff TJ, Paget JW, Kimpen JL, Schellevis F. Variation of respiratory syncytial virus and the relation with meteorological factors in different winter seasons. *Pediatr Infect Dis J.* 2009;28(10):860-6.
166. Sirimi N, Miligkos M, Koutouzi F, Petridou E, Siahaidou T, Michos A. Respiratory syncytial virus activity and climate parameters during a 12-year period. *J Med Virol.* 2016;88(6):931-7.
167. Li Y, Wang X, Broberg EK, Campbell H, Nair H. Seasonality of respiratory syncytial virus and its association with meteorological factors in 13 European countries, week 40 2010 to week 39 2019. *Euro Surveill.* 2022;27(16).
168. Hervás D, Reina J, Hervás JA. Meteorologic conditions and respiratory syncytial virus activity. *Pediatr Infect Dis J.* 2012;31(10):e176-81.
169. Lee MH, Mailepessov D, Yahya K, Loo LH, Maiwald M, Aik J. Air quality, meteorological variability and pediatric respiratory syncytial virus infections in Singapore. *Sci Rep.* 2023;13(1):1001.
170. Rechsteiner J. Inactivation of respiratory syncytial virus in air. *Antonie Van Leeuwenhoek.* 1969;35(2):238.

171. Omer SB, Sutanto A, Sarwo H, Linehan M, Djelantik IG, Mercer D, et al. Climatic, temporal, and geographic characteristics of respiratory syncytial virus disease in a tropical island population. *Epidemiol Infect.* 2008;136(10):1319-27.
172. Yusuf S, Piedimonte G, Auais A, Demmler G, Krishnan S, Van Caesele P, et al. The relationship of meteorological conditions to the epidemic activity of respiratory syncytial virus. *Epidemiol Infect.* 2007;135(7):1077-90.
173. Bergmann S, Li B, Pilot E, Chen R, Wang B, Yang J. Effect modification of the short-term effects of air pollution on morbidity by season: A systematic review and meta-analysis. *Sci Total Environ.* 2020;716:136985.
174. Cheng CY, Cheng SY, Chen CC, Pan HY, Wu KH, Cheng FJ. Ambient air pollution is associated with pediatric pneumonia: a time-stratified case-crossover study in an urban area. *Environ Health.* 2019;18(1):77.
175. Nhung NTT, Amini H, Schindler C, Kutlar Joss M, Dien TM, Probst-Hensch N, et al. Short-term association between ambient air pollution and pneumonia in children: A systematic review and meta-analysis of time-series and case-crossover studies. *Environ Pollut.* 2017;230:1000-8.
176. Tian Y, Liu H, Wu Y, Si Y, Li M, Wang X, et al. Ambient particulate matter pollution and adult hospital admissions for pneumonia in urban China: A national time series analysis for 2014 through 2017. *PLoS Med.* 2019;16(12):e1003010.
177. Wong TW, Lau TS, Yu TS, Neller A, Wong SL, Tam W, et al. Air pollution and hospital admissions for respiratory and cardiovascular diseases in Hong Kong. *Occup Environ Med.* 1999;56(10):679-83.
178. Esplugues A, Ballester F, Estarlich M, Llop S, Fuentes-Leonarte V, Mantilla E, et al. Outdoor, but not indoor, nitrogen dioxide exposure is associated with persistent cough during the first year of life. *Sci Total Environ.* 2011;409(22):4667-73.
179. Fuentes-Leonarte V, Tenías JM, Ballester F. Levels of pollutants in indoor air and respiratory health in preschool children: a systematic review. *Pediatr Pulmonol.* 2009;44(3):231-43.
180. Sunyer J, Puig C, Torrent M, Garcia-Algar O, Calicó I, Muñoz-Ortiz L, et al. Nitrogen dioxide is not associated with respiratory infection during the first year of life. *Int J Epidemiol.* 2004;33(1):116-20.
181. Burnett RT, Smith-Doiron M, Stieb D, Raizenne ME, Brook JR, Dales RE, et al. Association between ozone and hospitalization for acute respiratory diseases in children less than 2 years of age. *Am J Epidemiol.* 2001;153(5):444-52.
182. Farhat SC, Paulo RL, Shimoda TM, Conceição GM, Lin CA, Braga AL, et al. Effect of air pollution on pediatric respiratory emergency room visits and hospital admissions. *Braz J Med Biol Res.* 2005;38(2):227-35.
183. Luong LMT, Phung D, Dang TN, Sly PD, Morawska L, Thai PK. Seasonal association between ambient ozone and hospital admission for respiratory diseases in Hanoi, Vietnam. *PLoS One.* 2018;13(9):e0203751.
184. Fusco D, Forastiere F, Michelozzi P, Spadea T, Ostro B, Arcà M, et al. Air pollution and hospital admissions for respiratory conditions in Rome, Italy. *Eur Respir J.* 2001;17(6):1143-50.
185. Nhung NTT, Schindler C, Dien TM, Probst-Hensch N, Perez L, Künzli N. Acute effects of ambient air pollution on lower respiratory infections in Hanoi children: An eight-year time series study. *Environ Int.* 2018;110:139-48.
186. Rivas-Santiago CE, Sarkar S, Cantarella Pt, Osornio-Vargas Á, Quintana-Belmares R, Meng Q, et al. Air pollution particulate matter alters antimycobacterial respiratory epithelium innate immunity. *Infect Immun.* 2015;83(6):2507-17.
187. Grzywa-Celińska A, Krusiński A, Milanowski J. 'Smogging kills' - Effects of air pollution on human respiratory system. *Ann Agric Environ Med.* 2020;27(1):1-5.

188. Carugno M, Dentali F, Mathieu G, Fontanella A, Mariani J, Bordini L, et al. PM10 exposure is associated with increased hospitalizations for respiratory syncytial virus bronchiolitis among infants in Lombardy, Italy. *Environ Res.* 2018;166:452-7.
189. Le TG, Ngo L, Mehta S, Do VD, Thach TQ, Vu XD, et al. Effects of short-term exposure to air pollution on hospital admissions of young children for acute lower respiratory infections in Ho Chi Minh City, Vietnam. *Res Rep Health Eff Inst.* 2012(169):5-72; discussion 3-83.
190. Wrotek A, Badyda A, Czechowski PO, Owczarek T, Dąbrowiecki P, Jackowska T. Air Pollutants' Concentrations Are Associated with Increased Number of RSV Hospitalizations in Polish Children. *J Clin Med.* 2021;10(15).
191. Nathan AM, Rani F, Lee RJ, Zaki R, Westerhout C, Sam IC, et al. Clinical risk factors for life-threatening lower respiratory tract infections in children: a retrospective study in an urban city in Malaysia. *PLoS One.* 2014;9(10):e111162.
192. He QQ, Wong TW, Du L, Jiang ZQ, Gao Y, Qiu H, et al. Effects of ambient air pollution on lung function growth in Chinese schoolchildren. *Respir Med.* 2010;104(10):1512-20.
193. Watanabe M, Noma H, Kurai J, Sano H, Hantan D, Ueki M, et al. Effects of Short-Term Exposure to Particulate Air Pollutants on the Inflammatory Response and Respiratory Symptoms: A Panel Study in Schoolchildren from Rural Areas of Japan. *Int J Environ Res Public Health.* 2016;13(10).
194. Liu H-Y, Dunea D, Iordache S, Pohoata A. A review of airborne particulate matter effects on young children's respiratory symptoms and diseases. *Atmosphere.* 2018;9(4):150.
195. Gangwar RS, Bevan GH, Palanivel R, Das L, Rajagopalan S. Oxidative stress pathways of air pollution mediated toxicity: Recent insights. *Redox Biol.* 2020;34:101545.
196. Glencross DA, Ho TR, Camiña N, Hawrylowicz CM, Pfeffer PE. Air pollution and its effects on the immune system. *Free Radic Biol Med.* 2020;151:56-68.
197. Laumbach RJ, Kipen HM. Respiratory health effects of air pollution: update on biomass smoke and traffic pollution. *J Allergy Clin Immunol.* 2012;129(1):3-11; quiz 2-3.
198. Shears RK, Jacques LC, Naylor G, Miyashita L, Khandaker S, Lebre F, et al. Exposure to diesel exhaust particles increases susceptibility to invasive pneumococcal disease. *J Allergy Clin Immunol.* 2020;145(4):1272-84.e6.
199. Cai C, Xu J, Zhang M, Chen XD, Li L, Wu J, et al. Prior SO₂ exposure promotes airway inflammation and subepithelial fibrosis following repeated ovalbumin challenge. *Clin Exp Allergy.* 2008;38(10):1680-7.
200. Lee SW, Yon DK, James CC, Lee S, Koh HY, Sheen YH, et al. Short-term effects of multiple outdoor environmental factors on risk of asthma exacerbations: Age-stratified time-series analysis. *J Allergy Clin Immunol.* 2019;144(6):1542-50.e1.
201. Zhi W, Xu Q, Chen Z, Jiang W, Wang T, Zhou Y, et al. Respiratory syncytial virus infection in children and its correlation with climatic and environmental factors. *J Int Med Res.* 2021;49(9):3000605211044593.
202. Orellano P, Quaranta N, Reynoso J, Balbi B, Vasquez J. Effect of outdoor air pollution on asthma exacerbations in children and adults: Systematic review and multilevel meta-analysis. *PLoS One.* 2017;12(3):e0174050.
203. Suryadhi MAH, Abudureyimu K, Kashima S, Yorifuji T. Nitrogen dioxide and acute respiratory tract infections in children in Indonesia. *Arch Environ Occup Health.* 2020;75(5):274-80.
204. Ibrahim MF, Hod R, Nawi AM, Sahani M. Association between ambient air pollution and childhood respiratory diseases in low-and middle-income Asian countries: A systematic review. *Atmospheric Environment.* 2021;256:118422.
205. Kobza J, Geremek M. Do the pollution related to high-traffic roads in urbanised areas pose a significant threat to the local population? *Environ Monit Assess.* 2017;189(1):33.
206. Ye Q, Fu JF, Mao JH, Shang SQ. Haze is a risk factor contributing to the rapid spread of respiratory syncytial virus in children. *Environ Sci Pollut Res Int.* 2016;23(20):20178-85.

207. Vandini S, Corvaglia L, Alessandrini R, Aquilano G, Marsico C, Spinelli M, et al. Respiratory syncytial virus infection in infants and correlation with meteorological factors and air pollutants. *Ital J Pediatr.* 2013;39(1):1.
208. Ségala C, Poizeau D, Mesbah M, Willems S, Maidenberg M. Winter air pollution and infant bronchiolitis in Paris. *Environ Res.* 2008;106(1):96-100.
209. Lambert AL, Mangum JB, DeLorme MP, Everitt JI. Ultrafine carbon black particles enhance respiratory syncytial virus-induced airway reactivity, pulmonary inflammation, and chemokine expression. *Toxicol Sci.* 2003;72(2):339-46.
210. Stephens LM, Varga SM. Function and Modulation of Type I Interferons during Respiratory Syncytial Virus Infection. *Vaccines (Basel).* 2020;8(2).
211. Hijano DR, Vu LD, Kauvar LM, Tripp RA, Polack FP, Cormier SA. Role of Type I Interferon (IFN) in the Respiratory Syncytial Virus (RSV) Immune Response and Disease Severity. *Front Immunol.* 2019;10:566.
212. Boyapalle S, Wong T, Garay J, Teng M, San Juan-Vergara H, Mohapatra S. Respiratory syncytial virus NS1 protein colocalizes with mitochondrial antiviral signaling protein MAVS following infection. *PLoS One.* 2012;7(2):e29386.
213. Spann KM, Baturcam E, Schagen J, Jones C, Straub CP, Preston FM, et al. Viral and host factors determine innate immune responses in airway epithelial cells from children with wheeze and atopy. *Thorax.* 2014;69(10):918-25.
214. Rodriguez-Fernandez R, Tapia LI, Yang CF, Torres JP, Chavez-Bueno S, Garcia C, et al. Respiratory Syncytial Virus Genotypes, Host Immune Profiles, and Disease Severity in Young Children Hospitalized With Bronchiolitis. *J Infect Dis.* 2017;217(1):24-34.
215. Liu P, Jamaluddin M, Li K, Garofalo RP, Casola A, Brasier AR. Retinoic acid-inducible gene I mediates early antiviral response and Toll-like receptor 3 expression in respiratory syncytial virus-infected airway epithelial cells. *J Virol.* 2007;81(3):1401-11.
216. González-Sanz R, Mata M, Bermejo-Martín J, Álvarez A, Cortijo J, Melero JA, et al. ISG15 Is Upregulated in Respiratory Syncytial Virus Infection and Reduces Virus Growth through Protein ISGylation. *J Virol.* 2016;90(7):3428-38.
217. Do LAH, Pellet J, van Doorn HR, Tran AT, Nguyen BH, Tran TTL, et al. Host Transcription Profile in Nasal Epithelium and Whole Blood of Hospitalized Children Under 2 Years of Age With Respiratory Syncytial Virus Infection. *J Infect Dis.* 2017;217(1):134-46.
218. Mears HV, Sweeney TR. Better together: the role of IFIT protein-protein interactions in the antiviral response. *J Gen Virol.* 2018;99(11):1463-77.
219. Bohmwald K, Galvez NMS, Canedo-Marroquin G, Pizarro-Ortega MS, Andrade-Parra C, Gomez-Santander F, et al. Contribution of Cytokines to Tissue Damage During Human Respiratory Syncytial Virus Infection. *Front Immunol.* 2019;10:452.
220. Sebina I, Phipps S. The Contribution of Neutrophils to the Pathogenesis of RSV Bronchiolitis. *Viruses.* 2020;12(8).
221. Welliver TP, Garofalo RP, Hosakote Y, Hintz KH, Avendano L, Sanchez K, et al. Severe human lower respiratory tract illness caused by respiratory syncytial virus and influenza virus is characterized by the absence of pulmonary cytotoxic lymphocyte responses. *J Infect Dis.* 2007;195(8):1126-36.
222. Taveras J, Garcia-Maurino C, Moore-Clingenpeel M, Xu Z, Mertz S, Ye F, et al. Type III Interferons, Viral Loads, Age, and Disease Severity in Young Children With Respiratory Syncytial Virus Infection. *J Infect Dis.* 2022;227(1):61-70.
223. Tyner JW, Uchida O, Kajiwara N, Kim EY, Patel AC, O'Sullivan MP, et al. CCL5-CCR5 interaction provides antiapoptotic signals for macrophage survival during viral infection. *Nat Med.* 2005;11(11):1180-7.
224. Elliott MB, Tebbey PW, Pryharski KS, Scheuer CA, Laughlin TS, Hancock GE. Inhibition of respiratory syncytial virus infection with the CC chemokine RANTES (CCL5). *J Med Virol.* 2004;73(2):300-8.

225. Murai H, Terada A, Mizuno M, Asai M, Hirabayashi Y, Shimizu S, et al. IL-10 and RANTES are elevated in nasopharyngeal secretions of children with respiratory syncytial virus infection. *Allergol Int.* 2007;56(2):157-63.
226. Saito T, Deskin RW, Casola A, Häeberle H, Olszewska B, Ernst PB, et al. Respiratory syncytial virus induces selective production of the chemokine RANTES by upper airway epithelial cells. *J Infect Dis.* 1997;175(3):497-504.
227. Chung HL, Kim SG. RANTES may be predictive of later recurrent wheezing after respiratory syncytial virus bronchiolitis in infants. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2002;88(5):463-7.
228. Tekkanat KK, Maassab H, Miller A, Berlin AA, Kunkel SL, Lukacs NW. RANTES (CCL5) production during primary respiratory syncytial virus infection exacerbates airway disease. *Eur J Immunol.* 2002;32(11):3276-84.
229. Olszewska-Pazdrak B, Pazdrak K, Ogra PL, Garofalo RP. Respiratory syncytial virus-infected pulmonary epithelial cells induce eosinophil degranulation by a CD18-mediated mechanism. *J Immunol.* 1998;160(10):4889-95.
230. Miller AL, Bowlin TL, Lukacs NW. Respiratory syncytial virus-induced chemokine production: linking viral replication to chemokine production in vitro and in vivo. *J Infect Dis.* 2004;189(8):1419-30.
231. Jung SY, Shin SY, Eun YG, Kim SW, Cho JS. Changes of histamine receptors and CC chemokines in nasal epithelial cells and fibroblasts after respiratory syncytial virus infection. *Am J Rhinol Allergy.* 2013;27(1):e17-21.
232. Culley FJ, Pennycook AM, Tregoning JS, Dodd JS, Walzl G, Wells TN, et al. Role of CCL5 (RANTES) in viral lung disease. *J Virol.* 2006;80(16):8151-7.
233. Brand HK, Ferwerda G, Preijers F, de Groot R, Neeleman C, Staal FJ, et al. CD4+ T-cell counts and interleukin-8 and CCL-5 plasma concentrations discriminate disease severity in children with RSV infection. *Pediatr Res.* 2013;73(2):187-93.
234. Hornsleth A, Loland L, Larsen LB. Cytokines and chemokines in respiratory secretion and severity of disease in infants with respiratory syncytial virus (RSV) infection. *J Clin Virol.* 2001;21(2):163-70.
235. Narayanan D, Grayson MH. Comparing respiratory syncytial virus and rhinovirus in development of post-viral airway disease. *J Asthma.* 2022;59(3):434-41.
236. Mao Y, Bajinka O, Tang Z, Qiu X, Tan Y. Lung-brain axis: Metabolomics and pathological changes in lungs and brain of respiratory syncytial virus-infected mice. *J Med Virol.* 2022;94(12):5885-93.
237. You D, Becnel D, Wang K, Ripple M, Daly M, Cormier SA. Exposure of neonates to respiratory syncytial virus is critical in determining subsequent airway response in adults. *Respir Res.* 2006;7(1):107.
238. Neuzil KM, Tang YW, Graham BS. Protective Role of TNF-alpha in respiratory syncytial virus infection in vitro and in vivo. *Am J Med Sci.* 1996;311(5):201-4.
239. Matsuda K, Tsutsumi H, Okamoto Y, Chiba C. Development of interleukin 6 and tumor necrosis factor alpha activity in nasopharyngeal secretions of infants and children during infection with respiratory syncytial virus. *Clin Diagn Lab Immunol.* 1995;2(3):322-4.
240. Puthothu B, Bierbaum S, Kopp MV, Forster J, Heinze J, Weckmann M, et al. Association of TNF-alpha with severe respiratory syncytial virus infection and bronchial asthma. *Pediatr Allergy Immunol.* 2009;20(2):157-63.
241. Choi J, Callaway Z, Kim HB, Fujisawa T, Kim CK. The role of TNF-alpha in eosinophilic inflammation associated with RSV bronchiolitis. *Pediatr Allergy Immunol.* 2010;21(3):474-9.

9. Anexos

9.1. Anexo 1. Hoja de recogida de datos

Nº muestra:

HOJA DE RECOGIDA DE DATOS - INFECCION RESPIRATORIA POR VRS

Fecha de ingreso:	Nº Historia:	Población:
Fecha de alta:	Edad: años meses	<input type="checkbox"/> Varón <input type="checkbox"/> Mujer
Etnia: <input type="checkbox"/> caucásica	<input type="checkbox"/> negra <input type="checkbox"/> gitana <input type="checkbox"/> hispano	<input type="checkbox"/> magrebí <input type="checkbox"/> asiática <input type="checkbox"/> otros:
Talla y percentil:	Peso y percentil:	

Edad gestacional: Lactancia materna (meses): Singáis: S N Año: Dosis:

Calendario vacunal completo: S N Otras vacunas:

Episodios previos dificultad respiratoria: S N Ingresos previos por dificultad respiratoria: S N

Ambiente tabáquico: S N Guardería y/o hermanos en guardería: S N Atopia: S N

Alergia: S N Antecedentes familiares de alergia/asma/atopia: S N

CLINICA

- Comienzo síntomas respiratorios ____ días previos
- Comienzo de la fiebre ____ días previos
- Rinorrea S N Tos S N
- Cianosis S N Fatiga/disnea S N
- Faringoamigdalitis S N OMA S N
- GEA S N Vómitos S N
- Otros:

VARIABLE	Score Downes modificado por F Martínón:			
	0	0,5	1	2
Murmullo Vesicular	normal	desigual	mayor Desigualdad	disminuida
Sibilancias	no	leves	moderadas	intensas
Tiraje	no	leve	moderado	intenso
Neurología	normal	agitado	deprimido	coma
Saturación O2	>95% aire ambi	>90% <95% aire amb	>90 con FiO2 > 0,21	<90% con FiO2 > 0,21
	Leve <4	Media 4-7	Grave 8	

MOTIVO DE INGRESO:

Grupos de riesgo

- Cardiopatía
- Enfermedad neuromuscular
- Fibrosis quística
- Inmunodeprimido
- Prematuridad <34s
- Displasia broncopulmonar
- < 6 semanas
- Dificultad sociofamiliar
- Otros:

Criterios clínicos:

- Afectación del estado general
- Intolerancia alimentaria
- FR > 60 rpm
- Sat O2 < 91%
- Apnea
- Otros:

VARIABLES AL INGRESO

Constantes:

FR ____ FC ____ Sat O2 ____ (basal/Ox)

Gasometría: (basal/Ox)

pH:

pCO2:

pO2:

HCO3

EB:

Hemograma:

Leuco:

L:

N:

M:

E:

B:

Reactantes:

- PCR _____ (valor)
- Procalcitonina _____ (valor)
- Otros _____ (especificar + valor)

Rx TORAX AL INGRESO (Si precisa)

Hallazgos:

TRATAMIENTO

- | | | |
|------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| Broncodilatador | No <input type="checkbox"/> | Sí <input type="checkbox"/> |
| Beta2 agonistas | No <input type="checkbox"/> | Sí <input type="checkbox"/> |
| Bromuro de ipratropio | No <input type="checkbox"/> | Sí <input type="checkbox"/> |
| Adrenalina | No <input type="checkbox"/> | Sí <input type="checkbox"/> |
| Corticoides sistémicos | No <input type="checkbox"/> | Sí <input type="checkbox"/> |
| C. Inhalados | No <input type="checkbox"/> | Sí <input type="checkbox"/> |
| Antibioterapia | No <input type="checkbox"/> | Sí <input type="checkbox"/> |
| | _____ días | _____ |
| | _____ días | _____ |
| | _____ días | _____ |
- Otros:

EVOLUCIÓN

Días estancia hospitalaria:	Días con O2:	FiO2 máx ____ día de ingreso ____
Días UCI:		
Ventilación no invasiva: ____ días	Sistema (O2 alto flujo, CPAP, BIPAP...):	Máx. asistencia:
Ventilación mecánica invasiva ____ días (del ____ al ____ día de ingreso)	Máxima asistencia:	

CO-INFECCIONES:			
Co-detección Viroológica:	No <input type="checkbox"/>	Sí <input type="checkbox"/>	Co-detección bacteriológica:
Especificar: _____			No <input type="checkbox"/>
			Sí <input type="checkbox"/>
			Especificar: _____

