

Comparación de las características clínicas y diagnósticas de los subgrupos A y B del virus respiratorio sincitial

Comparison of clinical features and diagnosis between the A and B subgroups of respiratory syncytial virus

doi.org/10.23938/ASSN.0029

N. Viguria^{1,3}, L. Moreno-Galarraga^{1,3}, A. Navascués^{2,3}, C. Ezpeleta^{2,3},
A. González-Benavides¹, M. Mendizabal¹, E. Bernaola^{1,3}, J. Castilla^{3,4,5}

RESUMEN

Fundamento. La infección del tracto respiratorio inferior por virus respiratorio sincitial (VRS) es la causa más frecuente de ingreso en menores de 2 años. Los subgrupos de VRS A y B pueden circular indistintamente. Nuestro objetivo fue determinar si existían diferencias clínicas entre los VRS subgrupo A y B, y si la sensibilidad del test de detección rápida de antígeno del VRS por inmunocromatografía difiere de la técnica de referencia (RT-PCR).

Material y métodos. Estudio retrospectivo, observacional realizado en el hospital terciario desde octubre de 2013 a marzo de 2014. Se consultó la historia clínica y las analíticas de los niños menores de 5 años ingresados en por infección respiratoria de vías bajas con RT-PCR positivo a VRS en una muestra de lavado nasal. De la misma muestra previamente se había realizado el test de detección rápida de antígeno de VRS.

Resultados. Se confirmaron 198 niños menores de 5 años para VRS mediante RT-PCR: 55 (28%) fueron VRS-A, 132 (67%) VRS-B y 11 (5%) fueron positivos para ambos subgrupos. No encontramos diferencias entre subgrupos en antecedentes, clínica, radiología, analítica y gravedad. La sensibilidad del test de detección rápida fue 52%, mayor para VRS-A (69%) que para VRS-B (44%, $p=0,001$).

Conclusiones. Los dos subgrupos de VRS fueron indistinguibles por su presentación clínica y pronóstico. La sensibilidad del test rápido en comparación con la RT-PCR fue baja, lo que limita su utilidad en la toma de decisiones clínicas.

Palabras clave. Virus respiratorio sincitial. Subgrupos VRS. Test de detección rápida de antígeno. Transcripción reversa-reacción en cadena de la polimerasa.

ABSTRACT

Background. Lower respiratory tract infection by respiratory syncytial virus (RSV) is the most frequent cause of admission in children under 2 years old. The RSV subgroups A and B may circulate simultaneously. We aimed to determine whether clinical differences exist between RSV subgroups A and B. Additionally, we tested the sensitivity of the rapid antigen detection test (RADT) based on immunochromatography in diagnosing subgroups A and B, taking the polymerase chain reaction assay (RT-PCR) as reference.

Methods. A retrospective observational study was performed in a tertiary hospital from October 2013 to March 2014. Clinical records and analytical variables of all children under 5 admitted with lower respiratory tract infection and RT-PCR positive for RSV in nasal lavage were consulted. Previously, the RADT for RSV had been performed from the same sample.

Results. A total of 198 children under 5 were diagnosed with RSV by RT-PCR: 55 (28%) were RSV-A, 132 (67%) RSV-B and 11 (5%) were positive for both subgroups. No differences were observed between subgroups in medical history, symptoms, radiological and analytical findings, and severity. The sensitivity of RADT for RSV was 52%, higher for RSV-A (69%) than for RSV-B (44%, $p=0.001$).

Conclusions. The two RSV subgroups were indistinguishable in symptoms and prognosis. The sensitivity of RADT compared to RT-PCR was low and limits its usefulness for clinical decision-making.

Keywords. Respiratory syncytial virus. RSV subgroups. Rapid antigen detection test. Reverse transcription polymerase chain reaction.

An. Sist. Sanit. Navar. 2017; 40 (2): 259-267

1. Servicio de Pediatría, Complejo Hospitalario de Navarra. Pamplona.
2. Servicio de Microbiología Clínica, Complejo Hospitalario de Navarra. Pamplona.
3. Instituto de Investigación Sanitaria de Navarra (IdiSNA). Pamplona.
4. Instituto de Salud Pública de Navarra. Pamplona.
5. CIBER Epidemiología y Salud Pública.

Recepción: 12/08/2016
Aceptación provisional: 13/12/2016
Aceptación definitiva: 22/05/2017

Correspondencia:

Natividad Viguria Sánchez
Servicio de Pediatría
Complejo Hospitalario de Navarra
C/Irunlarrea, 4
31008 Pamplona (Navarra)
Email: nviguris@cfnavarra.es

Conflictos de intereses:

Todos los autores declaran que no existen conflictos de intereses.

Este estudio ha sido financiado en parte por el Instituto de Salud Carlos III en colaboración con el Fondo Europeo de Desarrollo Regional (ERDF) (PI12/00087), y por la Fundación La Caixa.

INTRODUCCIÓN

El virus respiratorio sincitial (VRS) es la principal causa de ingreso por proceso respiratorio de vías bajas en niños menores de 2 años de países desarrollados. En países de clima templado tiene un curso estacional anual con máxima incidencia entre los meses de octubre a marzo¹.

Se han descrito 2 subgrupos de VRS, el A y el B, que circulan simultáneamente. La secuencia aminoacídica de las proteínas de ambos subgrupos difiere sobre todo en la glicoproteína G de superficie, capaz de inducir, junto con la proteína F, la producción de anticuerpos neutralizantes. La variabilidad antigénica y genética de la proteína G determina los distintos genotipos circulantes que causan brotes anuales, y después son reemplazados por otros, evadiendo la respuesta inmune del huésped². La identificación del subgrupo no suele realizarse de rutina en la práctica asistencial ya que no conlleva diferencias en el manejo clínico de los casos; aunque sí que podría tener implicaciones prácticas para el desarrollo de una vacuna. Los estudios que han comparado la gravedad clínica de ambos subgrupos del VRS han aportado resultados contradictorios³⁻⁵.

El principal cuadro clínico en menores de 2 años es la bronquiolitis aguda, de las que el 80% están causadas por el VRS⁶. Actualmente no existe un tratamiento antiviral eficaz, y no se dispone de una vacuna comercializada⁷.

El test de detección de antígeno VRS (RADT) es rápido, sencillo y barato, aunque la prueba de referencia es la detección de genoma viral mediante la transcripción reversa-reacción en cadena de la polimerasa (RT-PCR)⁸. El diagnóstico microbiológico del VRS en niños es útil para decidir medidas de aislamiento oportunas que eviten la transmisión nosocomial,⁹ y para la toma de decisiones clínicas que disminuyan el número de pruebas diagnósticas¹⁰ y eviten tratamientos antibióticos innecesarios¹¹.

Los objetivos de este estudio fueron comparar las características epidemiológicas, clínicas y de gravedad de la infección por VRS-A y VRS-B en niños menores de 5 años ingresados, y evaluar la sensibilidad del test de detección rápida (RADT) en comparación con la RT-PCR para la detección del VRS-A y VRS-B.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizó un estudio retrospectivo, observacional entre el 1 de octubre de 2013 y el 15 de marzo de 2014 en el Complejo Hospitalario de Navarra, que es el centro de referencia de pediatría para toda Navarra, que atendió 40.379 urgencias en 2014. A todos los pacientes menores de 5 años con infección respiratoria de vías bajas y que habían sido ingresados en la unidad de Cuidados Intensivos pediátrica (UCI), en planta o en la sala de observación, se les tomó una muestra para detección del VRS mediante lavado nasal. Para ello, se utilizó una jeringa introduciendo 3 ml de suero salino fisiológico estéril en el interior de las fosas nasales; se recogió el líquido en un recipiente estéril y se dividió en 2 alícuotas. Con una parte (1 ml) se realizó en la sala de urgencias un test de detección rápida de antígeno VRS por inmunocromatografía (BinaxNOW® RSV Card Allere Scarborough Inc. USA). De la misma muestra se envió otra alícuota al servicio de Microbiología para realización de técnicas de RT-PCR del virus influenza A y B, y VRS (RealCycler FLURSV, Progenie Molecular). En las muestras positivas para VRS se determinó subgrupo A y B (RSV RT-PCR kit 1.0 RealStar®, Altona diagnostics). Cuando no pudieron ser analizadas inmediatamente, las muestras se conservaron refrigeradas entre 4 y 8° C.

En el presente estudio se consultó la historia clínica informatizada de todos los pacientes menores de 5 años con un resultado de RT-PCR positivo para VRS (Fig. 1) y se recogieron las siguientes variables demográficas y clínicas: sexo, edad en meses, subgrupo VRS-A o VRS-B, mes de realización del diagnóstico, antecedentes de

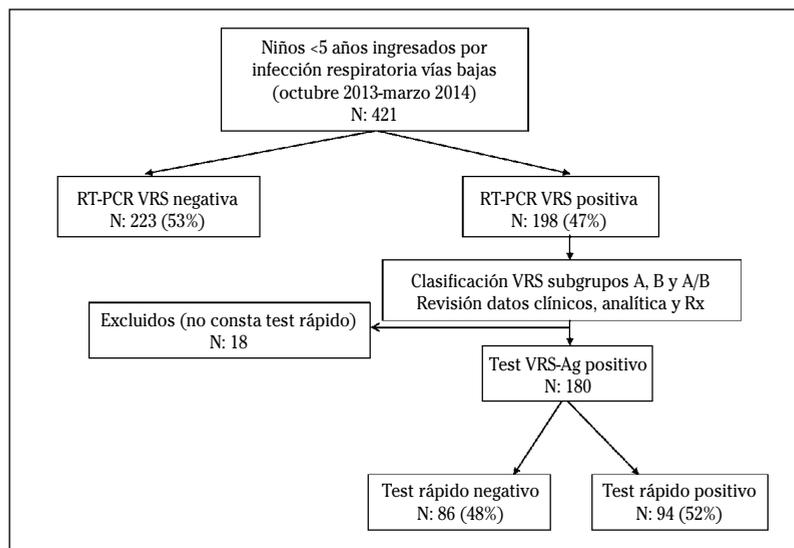


Figura 1. Diagrama de las fases del estudio.

prematuridad, patología crónica (displasia broncopulmonar, cardiopatía compleja, enfermedad neuromuscular, síndrome de Down y otras)¹², saturación de oxígeno basal a la llegada a urgencias, temperatura máxima, días de fiebre, días de estancia media, días de oxígeno suplementario, hallazgos en la radiografía de tórax, datos analíticos de coinfección bacteriana, diagnóstico y destino al alta. Los hallazgos radiológicos se clasificaron en tres categorías: normal, alteraciones mínimas (hiperinsuflación, infiltrados peribronquiales parahiliares, infiltrados intersticiales), y condensación o atelectasia en una categoría por la dificultad para distinguir las en la imagen radiológica¹³. En la analítica de sangre los niveles de procalcitonina >0,5 ng/ml y/o proteína C reactiva >20 mg/l se consideraron sugestivos de coinfección bacteriana asociada^{14,15}. Entre los motivos de ingreso se consideraron la edad menor de 4-6 semanas, insuficiencia respiratoria de saturación de oxígeno <92%, afectación del estado general, rechazo de la alimentación y distrés respiratorio moderado-severo, apneas y presencia de comorbilidades

(prematuridad, displasia broncopulmonar, cardiopatía congénita hemodinámicamente significativa, enfermedad neuromuscular e inmunodeficiencia)¹⁶.

El estudio fue aprobado por el Comité Ético de Investigación Clínica de Navarra, y los datos fueron anonimizados previamente a su análisis.

Se calcularon porcentajes para variables categóricas y se compararon mediante el test de Chi-cuadrado o la prueba exacta de Fisher. Para las variables cuantitativas se obtuvieron la mediana y el rango intercuartil (RIC) y se compararon mediante el test U de Mann-Whitney. El análisis se realizó mediante el paquete estadístico SPSS.20 (Statistical Package of Social Science), considerando significativos los resultados $p < 0,05$.

RESULTADOS

Desde el 1 de octubre de 2013 al 15 de marzo de 2014 ingresaron 421 niños menores de 5 años con infección respiratoria de vías bajas, de los cuales 198 fueron positi-

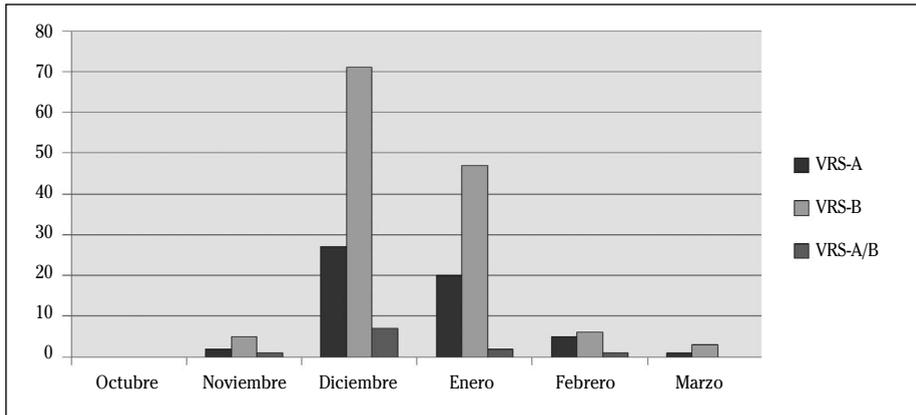


Figura 2. Distribución temporal de los casos confirmados (N=198) de virus respiratorio sincitial (VRS) por subgrupos según mes.

vos para VRS mediante RT-PCR. Once (5%) fueron positivos a ambos subgrupos VRS-A/B, 55 (28%) a VRS-A y 132 (67%) a VRS-B.

El 51% de los niños ingresados con infección por el VRS fueron varones, la mediana de edad fue de 4 meses. El 91% de los casos eran menores de 2 años y el 71% menores de un año. El número de ingresos con confirmación de VRS descendió progresivamente con la edad ($p < 0,001$).

El 88% de los casos de infección por VRS se produjo en los meses de diciembre y enero (pico en diciembre: 53%), sin diferencias significativas en la distribución

mensual de los subgrupos A y B ($p = 0,870$) (Fig. 2).

La saturación de oxígeno al ingreso tuvo una mediana de 95,0%, la temperatura rectal de 39,0^o C y la duración de la fiebre de 1 día. La mediana de duración del ingreso fue de 2 días y la del oxígeno fue de 1 día. Todas estas variables no difirieron significativamente entre los casos de cada subgrupo. Los casos con coinfección por ambos subgrupos tuvieron mayor mediana de duración del ingreso (4 días) y del oxígeno (3 días), pero ninguna de estas diferencias alcanzó significación estadística (Tabla 1).

Tabla 1. Características demográficas y clínicas de los casos de infección por virus respiratorio sincitial. Comparación entre subgrupos A, B y coinfección A/B

	Total N=198	Coinfección A/B N=11	Subgrupo A N=55	Subgrupo B N=132	P
Sexo (varón) ^a ,	100 (51)	8 (73)	24 (44)	68 (52)	0,195
Edad (meses) ^b	4,0 (1,6-15,0)	15,0 (3,5-21,0)	3,0 (1,5-14,0)	3,5 (1,9-13,3)	0,345
Saturación de oxígeno (%) ^b	95,0 (92,5-97,5)	96,0 (90,0-97,5)	96,0 (92,5-98,0)	95,0 (93,0-97,0)	0,807
Temperatura rectal (°C) ^{b*}	39,0 (38,5-39,5)	39,0 (38,9-39,7)	39,0 (38,5-39,4)	39,0 (38,5-39,5)	0,353
Días con fiebre (días) ^b	1 (0-2)	1,0 (0-1,5)	1 (0-1,5)	1 (0-2)	0,257
Estancia media (días) ^b	2 (1-4)	4 (2-4,5)	2 (1-3)	2 (1-4)	0,209
Oxígeno (días) ^b	1 (0-2)	3 (1-3)	1 (0-2)	1 (0-2)	0,068

^aN (%); ^bmediana (rango intercuartil); * dato disponible en 130 niños.

En función de los antecedentes clínicos, los casos se repartieron entre niños previamente sanos, niños con antecedente de prematuridad y niños con patología crónica (displasia broncopulmonar, cardiopatía compleja, enfermedades neuromusculares de debut en periodo de lactante, síndrome de Down y otras), sin que se observase asociación estadísticamente significativa entre estos antecedentes y afectación predominante por uno de los dos subgrupos (Tabla 2).

En 104 niños (52%) se dispuso del resultado de la analítica de sangre, de los cuales el 32% tenían la proteína C reactiva >20 mg/l y la procalcitonina >0,5 ng/ml, el 29%

tenía elevada sólo la proteína C reactiva y el 8% sólo la procalcitonina. En 142 niños (72%) se realizó radiografía de tórax, y se encontró condensación o atelectasia en el 28% de los casos y alteraciones mínimas en el 24%. El diagnóstico al alta más frecuente fue de bronquiolitis aguda (67%), seguido por la bronquitis (20%). Ninguna de todas estas características clínicas y pronósticas evaluadas presentó asociación estadísticamente significativa con alguno de los dos subgrupos (Tabla 2).

El 6% de los casos fueron dados de alta el mismo día al domicilio, el 22% ingresó en la sala de observación, el 68% en planta y el 4% en UCI pediátrica (Tabla 2). Un niño

Tabla 2. Análisis comparativo de la infección por virus respiratorio sincitial por subgrupo A, B y coinfección A/B, según patología previa, resultados de la analítica de sangre, radiología, tipo de atención médica y diagnóstico al alta

	Total N=198 n(%)	Coinfección A/B N=11 n(%)	Subgrupo A N=55 n(%)	Subgrupo B N=132 n(%)	P*
Sin patología de base	162 (82)	9 (82)	45 (82)	108 (82)	1,000
Prematuridad	18 (9)	1 (9)	4 (7)	13 (10)	0,781
Patología crónica	18 (9)	1 (9)	6 (11)	11 (8)	0,584
Displasia broncopulmonar	2	0	0	2	
Cardiopatía compleja	2	0	0	2	
Trastornos neuromusculares	3	1	0	2	
Síndrome de Down	2	0	1	1	
Otros	9	0	5	4	
Analítica de sangre realizada, n	104	9	27	68	
Normal	33 (32)	2 (22)	9 (33)	22 (32)	1,000
Proteína C reactiva >20 mg/l	30 (29)	3 (33)	8 (30)	19 (28)	1,000
Procalcitonina >0.5 ng/ml	8 (8)	2 (22)	2 (7)	4 (6)	1,000
Ambas elevadas	33 (32)	2 (22)	8 (30)	23 (34)	0,810
Radiografía tórax realizada, n	142	10	35	97	
Normal	68 (48)	3 (30)	18 (51)	47 (48)	0,845
Alteraciones mínimas	34 (24)	2 (20)	8 (23)	24 (25)	1,000
Condensación/atelectasia	40 (28)	5 (50)	9 (26)	26 (27)	1,000
Destino					
Domicilio	12 (6)	0 (0)	5 (9)	7 (5)	0,340
Ingreso en sala observación	44 (22)	2 (18)	9 (16)	33 (25)	0,250
Ingreso en planta	134 (68)	9 (82)	39 (71)	86 (65)	0,498
Cuidados intensivos	8 (4)	0 (0)	2 (4)	6 (5)	1,000
Diagnóstico al alta					
Bronquiolitis	133 (67)	5 (45)	39 (71)	89 (67)	0,731
Bronquitis	40 (20)	4 (36)	8 (15)	28 (21)	0,318
Asma	8 (4)	1 (9)	3 (5)	4 (3)	0,421
Neumonía	8 (4)	0	1 (2)	7 (5)	0,440
Otros	9 (5)	1 (9)	4 (7)	4 (3)	0,237

*Comparación mediante la prueba exacta de Fisher de las características de los casos debidos exclusivamente al subgrupo A y los debidos al B.

con síndrome polimalformativo falleció en la UCI pediátrica por síndrome de distrés respiratorio agudo.

En 180 niños se había realizado el test de diagnóstico rápido sobre la misma muestra en la que se realizó la RT-PCR para VRS. La sensibilidad del RADT fue del 52% (IC 95%: 45-60) para detectar infección por VRS. Para el VRS-A la sensibilidad fue del 69% (IC 95%: 56-80), y para VRS-B fue del 44% (IC 95%: 35-53). La sensibilidad para la detección de infección por el VRS-A fue significativamente más alta que para el VRS-B ($p < 0,001$).

DISCUSIÓN

La mayor parte de los casos de infección por el VRS (88%) ocurrió en los meses de diciembre y enero, con pico en diciembre, como han descrito otros autores¹⁷⁻¹⁹. El subgrupo más frecuente fue el VRS-B, que se detectó en el 67% de los casos, porcentaje similar al del estudio publicado recientemente por Gimferrer y col en un hospital de Cataluña referido también en la temporada 2013-2014¹⁸, mientras que en otro estudio llevado a cabo en la misma temporada en Palma de Mallorca por Reina y col predominó el subgrupo A (75%)²⁰. En el 5% de los casos se detectó la coinfección por los subgrupos A y B, similar a lo encontrado en estudios previos^{18,19}. Otros estudios que analizaron varias temporadas también encontraron cocirculación de ambos subgrupos, con alternancia de uno sobre otro según la temporada^{3,21}.

El patrón epidemiológico encontrado en la infección por el VRS es consistente dentro de la variabilidad de esta infección entre temporadas y lugares^{19,22}.

Coincidiendo con varios estudios, no encontramos diferencias estadísticamente significativas en las manifestaciones clínicas, radiológicas o analíticas, ni en la gravedad o en el pronóstico, entre los casos debidos al subgrupo VRS-A y VRS-B^{3,23}. Sin embargo, algunos autores han observado mayor gravedad clínica en los casos debidos al subgrupo A⁴, y otros en los debidos al subgrupo B⁵.

En nuestro estudio observamos que la coinfección por VRS-A/B prolongó la estancia media y el número de días de oxígeno; sin embargo, el número de coinfecciones fue pequeño y estas comparaciones no fueron estadísticamente significativas. Estudios previos muestran que la coinfección por distintos virus se asocia a una mayor prolongación del curso clínico²⁴, aunque este punto sigue en investigación con resultados controvertidos²⁵.

Como en otras series, la mayoría de los niños que ingresaron por el VRS eran previamente sanos²⁶. No encontramos preferencia de uno de los dos subgrupos por los niños con prematuridad o con patología de base, aunque el número de casos en nuestro estudio fue pequeño para sacar conclusiones definitivas.

En el 52% de los niños se realizó analítica de sangre y en el 72% radiografía de tórax, porcentajes similares a los de un estudio previo en España, aunque la edad media de los niños de aquel estudio era menor²⁷. Siendo una infección viral, el elevado número de pruebas complementarias solicitadas puede estar relacionado con la edad de los niños atendidos (49% menores de 3 meses).

Tomando como resultado de referencia el obtenido mediante la RT-PCR para VRS, estimamos la sensibilidad del test de diagnóstico rápido, que fue significativamente menor que la indicada por el fabricante (89%), tanto para el total de casos (52%) como para cada uno de los subgrupos ($p < 0,001$). Este resultado es similar al observado en otros estudios incluidos en un metaanálisis que muestra una sensibilidad del RADT de esta misma marca comercial respecto RT-PCR, que varía desde 41-83%²⁸. La sensibilidad del RADT para el subgrupo VRS-A (69%) fue significativamente más alta que para el VRS-B (44%). Esta diferente sensibilidad ha sido descrita por otros autores y podría deberse a que el test rápido va dirigido a la detección cualitativa de la proteína F (de fusión), que aun siendo esta una proteína más conservada que la proteína G, presenta variaciones entre los 2 subgrupos²⁹.

Nuestro estudio tiene varias limitaciones. Es un estudio retrospectivo, lo que impidió disponer de todas las variables para todos los casos. Se incluyeron sólo niños atendidos en la unidad de Urgencias de pediatría del hospital y que requirieron estancia hospitalaria, lo que supone una selección de las presentaciones más graves. Por tanto, estos resultados podrían no ser extrapolables a pacientes de atención primaria. Dado que está realizado en una sola comunidad autónoma y durante una sola temporada, los resultados podrían no ser generalizables, teniendo en cuenta la amplia variabilidad geográfica y temporal que puede tener la epidemiología del VRS³⁰. No se analizó la coinfección por otros virus respiratorios, pero el posible sesgo afectaría probablemente por igual a los dos subgrupos.

Nuestro estudio tiene también varias fortalezas a destacar. La determinación de RADT en la unidad de Urgencias y la comparación con la RT-PCR para VRS en el servicio de Microbiología, a partir del mismo lavado nasal, garantiza la igualdad de las alícuotas, que fueron analizadas mediante las dos técnicas por personas distintas, desconocedoras del resultado de la otra prueba. Además, la muestra se obtuvo tan pronto se decidió el ingreso del niño por sus manifestaciones clínicas, siendo este el momento en que la sensibilidad de las pruebas es más alta, debido a la mayor excreción viral.

Como conclusión, comparamos en una temporada las características clínicas y diagnósticas de la infección por subgrupos A y B del VRS en niños menores de 5 años hospitalizados y no encontramos diferencias en su presentación clínica, gravedad y pronóstico. Además, evaluamos la sensibilidad del test rápido RADT frente a la RT-PCR y nuestros resultados muestran que el RADT tiene una baja sensibilidad en general, y especialmente para la detección de VRS-B, por lo que puede llevar a infraestimar el número de casos de infección respiratoria de vías bajas que se deben al VRS. Por ello, en nuestra experiencia no resulta fiable para establecer las medidas de

aislamiento con el fin de evitar el contagio nosocomial, ni para la toma de decisiones clínicas. En caso de obtener un resultado negativo en el RADT, los pediatras deberían considerar la realización de RT-PCR para VRS, que aunque más cara y menos rápida, es más fiable para el diagnóstico de la infección VRS.

Agradecimientos

A Navarrabiomed-Fundación Miguel Servet (Berta Ibañez Beroiz y Koldo Cambra Contín) por la ayuda en el análisis estadístico.

Este estudio ha sido financiado en parte por el Instituto de Salud Carlos III en colaboración con el Fondo Europeo de Desarrollo Regional (ERDF) (PI12/00087), y por la Fundación La Caixa.

BIBLIOGRAFÍA

1. LANGLEY GF, ANDERSON LJ. Epidemiology and prevention of respiratory syncytial virus infections among infants and young children. *Pediatr Infect Dis J* 2011; 30: 510-517.
2. PRETORIUS MA, VAN NIEKERK S, TEMPIA S, MOYES J, COHEN C, MADHI SA et al. SARI Surveillance Group. Replacement and positive evolution of subtype A and B respiratory syncytial virus G-protein genotypes from 1997-2012 in South Africa. *J Infect Dis* 2013; 208 (Suppl 3): S227-237.
3. ESPOSITO S, PIRALLA A, ZAMPIERO A, BIANCHINI S, DI PIETRO G, SCALA A et al. Characteristics and their clinical relevance of respiratory syncytial virus types and genotypes circulating in Northern Italy in five consecutive winter seasons. *PLoS One* 2015; 10: e0129369.
4. GILCA R, DE SERRES G, TREMBLAY M, VACHON ML, LEBLANC E, BERGERON MG et al. Distribution and clinical impact of human respiratory syncytial virus genotypes in hospitalized children over 2 winter seasons. *J Infect Dis* 2006; 193: 54-58.
5. PANAYIOTOU C, RICHTER J, KOLIQU M, KALOGIROU N, GEORGIU E, CHRISTODOULOU C. Epidemiology of respiratory syncytial virus in children in Cyprus during three consecutive winter seasons (2010-2013): age distribution, seasonality and association between prevalent genotypes and disease severity. *Epidemiol Infect* 2014; 142: 2406-2411.

6. BAMBERGER E, SRUGO I, ABU RAYA B, SEGAL E, CHAIM B, KASSIS I et al. What is the clinical relevance of respiratory syncytial virus bronchiolitis?: findings from a multi-center, prospective study. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2012; 31: 3323-3330.
7. MAZUR NI, MARTINÓN-TORRES F, BARALDI E, FAUROUX B, GREENOUGH A, HEIKKINEN T et al. Respiratory Syncytial Virus Network (ReSViNET). Lower respiratory tract infection caused by respiratory syncytial virus: current management and new therapeutics. *Lancet Respir Med* 2015; 3: 888-900.
8. SOMERVILLE LK, RATNAMOHAN VM, DWYER DE, KOK J. Molecular diagnosis of respiratory viruses. *Pathology* 2015; 47: 243-249.
9. PFEIL J, TABATABAI J, SANDER A, RIES M, GRULICH-HENN J, SCHNITZLER P. Screening for respiratory syncytial virus and isolation strategies in children hospitalized with acute respiratory tract infection. *Medicine (Baltimore)* 2014; 93: e144.
10. PRINCIPI N, ESPOSITO S. Antigen-based assays for the identification of influenza virus and respiratory syncytial virus: why and how to use them in pediatric practice. *Clin Lab Med* 2009; 29: 649-660.
11. BYINGTON CL, CASTILLO H, GERBER K, DALY JA, BRIMLEY LA, ADAMS S et al. The effect of rapid respiratory viral diagnostic testing on antibiotic use in a children's hospital. *Arch Pediatr Adolesc Med* 2002; 156: 1230-1234.
12. KRISTENSEN K, HJULER T, RAVN H, SIMÕES EA, STENSBALLE LG. Chronic diseases, chromosomal abnormalities, and congenital malformations as risk factors for respiratory syncytial virus hospitalization: a population-based cohort study. *Clin Infect Dis* 2012; 54: 810-817.
13. FARAH MM, PADGETT LB, McLARIO DJ, SULLIVAN KM, SIMON HK. First-time wheezing in infants during respiratory syncytial virus season: chest radiograph findings. *Pediatr Emerg Care* 2002; 18: 333-336.
14. BAER G, BAUMANN P, BUETTCHER M, HEININGER U, BERTHET G, SCHÄFER J et al. Procalcitonin guidance to reduce antibiotic treatment of lower respiratory tract infection in children and adolescents (ProPAED): a randomized controlled trial. *PLoS One* 2013; 8: e68419.
15. ELEMRAID MA, RUSHTON SP, THOMAS MF, SPENCER DA, GENNERLY AR, CLARK JE. Utility of inflammatory markers in predicting the aetiology of pneumonia in children. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2014; 79: 458-462.
16. GUÍA PRÁCTICA CLÍNICA SOBRE BRONQUIOLITIS AGUDA. Guías de práctica clínica en el SNS. Ministerio de Sanidad y Política Social. http://www.guiasalud.es/GPC/GPC_475_Bronquiolitis_AIAQS_compl.pdf. Consultado el 12 de noviembre de 2016.
17. ZLATEVA KT, VIJGEN L, DEKEERSMAEKER N, NARANJO C, VAN RANST M. Subgroup prevalence and genotype circulation patterns of human respiratory syncytial virus in Belgium during ten successive epidemic seasons. *J Clin Microbiol* 2007; 45: 3022-3030.
18. GIMFERRER L, CAMPINS M, CODINA MG, MARTÍN MDEL C, FUENTES F, ESPERALBA J et al. Molecular epidemiology and molecular characterization of respiratory syncytial viruses at a tertiary care university hospital in Catalonia (Spain) during the 2013-2014 season. *J Clin Virol* 2015; 66: 27-32.
19. JIMÉNEZ-JORGE S, DELGADO-SANZ C, DE MATEO S, POZO F, CASAS I, LARRAURI A, en representación del Sistema de Vigilancia de la Gripe en España (SVGE). Vigilancia del virus respiratorio sincitial en el marco del sistema de vigilancia de la gripe en España, 2006-2014. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2015; 34: 117-120.
20. REINA J, FERRÉS F, RUBIO R, ROJO-MOLINERO E. Análisis de las coinfecciones detectadas entre los subtipos del virus respiratorio sincitial y otros virus respiratorios. *An Pediatr (Barc)* 2015; 82: e255-e256.
21. DE-PARIS F, BECK C, DE SOUZA NUNES L, MACHADO AB, PAIVA RM, DA SILVA MENEZES D et al. Evaluation of respiratory syncytial virus group A and B genotypes among nosocomial and community-acquired pediatric infections in Southern Brazil. *Virol J* 2014; 11: 36.
22. MEERHOFF TJ, FLEMING D, SMITH A, MOSNIER A, VAN GAGELDONK-LAFEBER AB, PAGET WJ; EISS RSV TASK GROUP. Surveillance recommendations based on an exploratory analysis of respiratory syncytial virus reports derived from the European Influenza Surveillance System. *BMC Infect Dis* 2006; 6: 128.
23. FODHA I, VABRET A, GHEDIRA L, SEBOUI H, CHOUCHANE S, DEWAR J et al. Respiratory syncytial virus infections in hospitalized infants: association between viral load, virus subgroup, and disease severity. *J Med Virol* 2007; 79: 1951-1958.
24. GOKA E, VALLELY P, MUTTON K, KLAPPER P. Influenza A viruses dual and multiple infections with other respiratory viruses and risk of hospitalisation and mortality. *Influenza Other Respir Viruses* 2013; 7: 1079-1087.
25. CALVO C, GARCÍA-GARCÍA ML, POZO F, PAULA G, MOLINERO M, CALDERÓN A, GONZÁLEZ-ESGUEVILLAS M,

- CASAS I. Respiratory syncytial virus coinfections with rhinovirus and human bocavirus in hospitalized children. *Medicine (Baltimore)* 2015; 94: e1788.
26. HALL CB, WEINBERG GA, BLUMKIN AK, EDWARDS KM, STAAT MA, SCHULTZ AF et al. Respiratory syncytial virus-associated hospitalizations among children less than 24 months of age. *Pediatrics* 2013; 132: e 341-348.
27. PIÑERO FERNÁNDEZ JA, ALFAYATE MIGUELÉZ S, MENASALVAS RUIZ A, SALVADOR GARCÍA C, MORENO DOCÓN A, SÁNCHEZ-SOLÍS DE QUEROL M. Características epidemiológicas, clínicas y terapéuticas de lactantes hospitalizados por bronquiolitis. *An Pediatr (Barc)* 2012; 77: 391-396.
28. CHARTRAND C, TREMBLAY N, RENAUD C, PAPENBURG J. Diagnostic accuracy of rapid antigen detection tests for respiratory syncytial virus infection: systematic review and meta-analysis. *J Clin Microbiol* 2015; 53: 3738-3749.
29. PAPENBURG J, BUCKERIDGE DL, DE SERRES G, BOIVIN G. Host and viral factors affecting clinical performance of a rapid diagnostic test for respiratory syncytial virus in hospitalized children. *J Pediatr* 2013; 163: 911-913.
30. HAYNES AK, PRILL MM, IWANE MK, GERBER SI; Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Respiratory syncytial virus—United States, July 2012–June 2014. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2014; 63: 1133-1136.

