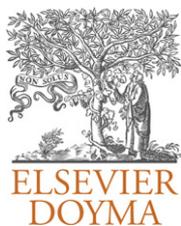




Since January 2020 Elsevier has created a COVID-19 resource centre with free information in English and Mandarin on the novel coronavirus COVID-19. The COVID-19 resource centre is hosted on Elsevier Connect, the company's public news and information website.

Elsevier hereby grants permission to make all its COVID-19-related research that is available on the COVID-19 resource centre - including this research content - immediately available in PubMed Central and other publicly funded repositories, such as the WHO COVID database with rights for unrestricted research re-use and analyses in any form or by any means with acknowledgement of the original source. These permissions are granted for free by Elsevier for as long as the COVID-19 resource centre remains active.



ORIGINAL

Etiología de bronquiolitis en niños hospitalizados en el sureste de España

C. Salvador García^{a,*}, A. Moreno Docón^a, J.A. Piñero^b, S. Alfayate Miguez^b
y M.A. Iborra Bendicho^a

^a Unidad de Virología-Servicio de Microbiología, Hospital Universitario Virgen de la Arrixaca, El Palmar, Murcia, España

^b Servicio de Pediatría, Hospital Universitario Virgen de la Arrixaca, El Palmar, Murcia, España

Recibido el 30 de mayo de 2011; aceptado el 13 de septiembre de 2011

Disponible en Internet el 21 de noviembre de 2011

PALABRAS CLAVE

Bronquiolitis;
Virus respiratorio sincitial;
Reacción en cadena de la polimerasa

Resumen

Introducción: La bronquiolitis es una de las infecciones respiratorias más comunes en niños menores de 2 años y una de las principales causas de ingreso en niños pequeños, especialmente durante el invierno.

Objetivos: Determinar la prevalencia y etiología de bronquiolitis en el sureste de España.

Material y métodos: Se realizó un estudio prospectivo durante la temporada de bronquiolitis (diciembre-abril). En el estudio se incluyeron niños menores de 18 meses ingresados en el hospital con motivo del primer episodio de bronquiolitis. Se analizaron aspirados nasofaríngeos mediante una técnica de reacción en cadena de la polimerasa (múltiple), precedida de transcripción inversa del ARN viral (RT-PCR).

Resultados: Se incluyeron en el estudio 235 niños, de cada uno de los cuales se obtuvo una muestra de aspirado nasofaríngeo. Se detectaron virus respiratorios en muestras de 204 niños (en total 287 virus). El virus respiratorio sincitial se detectó con mayor frecuencia seguido del rinovirus. Se observaron infecciones virales mixtas en el 36% de los niños en los que se detectó algún virus respiratorio. La asociación más frecuente fue el virus respiratorio sincitial A con rinovirus.

Conclusiones: Se detectaron virus respiratorios en la mayoría de los niños menores de 18 meses hospitalizados por bronquiolitis, en forma de infección mixta en el 36% de aquellos con infección viral.

© 2011 Asociación Española de Pediatría. Publicado por Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: carme.salvador@carm.es (C. Salvador García).

KEYWORDS

Bronchiolitis;
Respiratory syncytial
virus;
Polymerase chain
reaction

Aetiology of bronchiolitis in hospitalised children in South-East Spain**Abstract**

Background: Bronchiolitis is the most common respiratory disease in children under 2 years-old and a major cause of hospitalization in young children, especially during the winter.

Objectives: To determine the prevalence and etiology of bronchiolitis in south-east of Spain.

Study design: A prospective study was conducted during the bronchiolitis season (December-April). Children below 18 months-old admitted to the hospital for a first bronchiolitis episode were included. Nasopharyngeal aspirates were analysed by reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) respiratory syncytial virus.

Results: A total of 235 children were included during this period, and 235 RT-PCR were performed. A total of 287 viruses were detected in nasopharyngeal aspirates from 204 infants. Respiratory syncytial virus was the virus detected more frequently, followed by rhinovirus. Co-infections were found in the 36% of children.

Conclusions: Respiratory viruses were detected in most of the children below 18 months-old hospitalised with bronchiolitis, and 36% of them showed a mixed infection.

© 2011 Asociación Española de Pediatría. Published by Elsevier España, S.L. All rights reserved.

Introducción

La bronquiolitis es una enfermedad respiratoria que afecta principalmente a los bronquiolos periféricos. Los síntomas característicos de esta enfermedad son la rinitis, taquipnea, sibilancias, tos, crepitantes y/o aleteo nasal¹. Es la enfermedad respiratoria más frecuente en niños menores de 2 años y una de las principales causas de hospitalización en niños pequeños, principalmente durante el invierno. Aunque el periodo de recuperación de la mayoría de los niños es de unos 5 días, la hospitalización anual por bronquiolitis entre niños menores de 1 año es elevada, alrededor del 3%².

El virus respiratorio sincitial (VRS) es la causa principal de bronquiolitis. Durante el periodo epidémico, más del 90% de los casos diagnosticados son causados por este virus³. Sin embargo, la incorporación de nuevas técnicas moleculares en la última década, como la técnica de reacción en cadena de la polimerasa, han permitido la detección de otros agentes virales. Esto ha mejorado el conocimiento sobre la epidemiología de otros virus respiratorios conociendo así su implicación en la bronquiolitis, tales como rinovirus (RV), metapneumovirus (hMPV), enterovirus (ETV), coronavirus (hCoV) o bocavirus (hBoV)⁴. Además, estos avances también han posibilitado la identificación de co-infecciones virales estimadas entre el 20-30% según estudios recientes^{5,6}.

El objetivo del presente estudio fue investigar la etiología vírica de los cuadros de bronquiolitis aguda en niños menores de 18 meses de edad que requieren hospitalización. Para ello, se estudió la prevalencia de los diferentes virus respiratorios, incluyendo las infecciones virales mixtas, mediante un método de diagnóstico molecular en aspirados nasofaríngeos.

Material y métodos

Se realizó un estudio prospectivo durante el periodo de máxima incidencia de bronquiolitis, entre el 1 de diciembre de 2008 y el 30 de abril de 2009. El estudio incluyó a todos los niños menores de 18 meses ingresados en el Hospital Virgen

de la Arrixaca (Murcia, España) por un episodio de bronquiolitis. El diagnóstico de bronquiolitis se estableció según los criterios de McConnochie⁷, definidos como el primer episodio agudo de dificultad respiratoria con sibilancias asociado a un cuadro catarral de vías altas en menores de 2 años. En el estudio se excluyeron todos los lactantes con episodios previos catalogados de bronquiolitis y las bronquiolitis adquiridas en el medio hospitalario, definiéndose como tales aquellas en las que los síntomas aparecieron después de 72 horas de la hospitalización por cualquier otro motivo.

Se obtuvo el consentimiento informado de los padres o tutores legales para la inclusión en el estudio antes de la obtención de la muestra respiratoria. Se recogió un aspirado nasofaríngeo de cada uno de los pacientes. Los aspirados nasofaríngeos se obtuvieron aspirando a través de un catéter tras la aplicación de 2 ml de suero salino en la fosa nasal. La extracción de los ácidos nucleicos se realizó con un sistema de extracción automática (EasyMag, Biomèrieux) utilizando 200 µl de muestra y eluyendo en 55 µl de buffer de elución. Se realizó una técnica de reacción en cadena de la polimerasa (múltiple), precedida de una transcripción inversa del ARN viral (RT-PCR) para la amplificación de un fragmento específico del genoma vírico de entre 120-330 pb. El amplificado se visualizó mediante hibridación con sondas de captura específicas de cada virus a través de microarrays de baja densidad (CLART® Pneumovir, Genómica). Se detectaron 16 virus respiratorios incluyendo el virus respiratorio sincitial A y B, virus influenza (Flu) A, B, y C, coronavirus (229E), adenovirus (ADV), rinovirus, parainfluenza (PI) 1-4, metapneumovirus A y B, bocavirus y enterovirus (echovirus).

Resultados

Se recogieron un total de 235 aspirados nasofaríngeos de otros tantos niños. La edad media fue de 3,4 (± 3,3) meses, rango 8 días-17 meses. El 78,7% de los pacientes fueron menores de 5 meses (185/235) y el 54% fueron hombres (126/235 pacientes). Se detectaron 287 virus en los aspirados nasofaríngeos de 204 niños con clínica de bronquiolitis

Tabla 1 Distribución de 287 virus respiratorios detectados en infección viral simple o mixta en 235 niños menores de 18 meses de edad y hospitalizados por bronquiolitis aguda (Murcia, diciembre de 2008-abril de 2009)

	VRS A	VRS B	Flu A	Flu B	ADV	RV	PI 3	PI 4	hMPV A	hMPV B	hBoV	ETV	hCoV	TOTAL
1 virus	92	12	3	0	0	12	0	0	4	6	1	0	0	130
2 virus	42	10	1	2	16	22	1	2	3	7	21	3	0	130
3 virus	6	0	0	0	5	4	1	1	1	0	6	0	3	27
TOTAL	140	22	4	2	21	38	2	3	8	13	28	3	3	287

ADV: adenovirus; ETV: enterovirus; Flu: virus influenza; hBoV: bocavirus; hCoV: coronavirus; hMPV: metapneumovirus; PI: parainfluenza; RV: rinovirus; VRS: virus respiratorio sincitial.

(86,8%). El VRS representó el 56,4% (162/287) del total de virus detectados, principalmente VRS A (140/287) (tabla 1). El porcentaje de pacientes infectados con un solo virus fue del 63,7% (130/204 pacientes), por dos virus 31,8% (65/204 pacientes) y por más de dos virus 4,5% (9/204 pacientes) (fig. 1). El VRS fue el virus detectado con mayor frecuencia en infección simple (80%, 104/130). De las 104 detecciones de VRS, en 92 se identificó VRS A (70,8%) y en 12 se detectó VRS B (9,2%). Le siguió en frecuencia el RV aunque en menor porcentaje (9,2%, 12/130). En infecciones simples también se detectaron, en tasas inferiores, otros organismos tales como hMPV (7,7%, 10/130), influenza virus A (2,3%, 3/130) y hBoV (0,7%, 1/130). El hMPV A se detectó en muestras respiratorias de 6 niños y el hMPV B en muestras respiratorias de 4 niños. Las asociaciones virales más habituales fueron VRS A con RV (14 muestras), VRS A con adenovirus (12 muestras) y VRS A con hBoV (10 muestras) (fig. 1). Las nueve muestras restantes mostraron coinfección por 3 virus sin observarse ninguna asociación predominante. Adenovirus, influenza virus B, parainfluenza virus 3 y 4, enterovirus y hCoV solo se observaron en infecciones mixtas (fig. 1). Influenza virus C y parainfluenza virus 1 y 2 no se detectaron durante el estudio.

El pico de incidencia del VRS se situó en enero (43%, 69/160) disminuyendo progresivamente hasta

encontrar solo 8 detecciones en abril, último mes del estudio. Adenovirus y hBoV mostraron una distribución estacional similar, ambos virus con mayor frecuencia de detección en diciembre de 2008 y enero de 2009. No obstante, la mayor incidencia de hMPV apareció en febrero y marzo. Sin embargo, RV no presentó una tendencia estacional clara. La distribución estacional de todos los virus detectados se observa en la figura 2.

Discusión

La disponibilidad de la RT-PCR ha cambiado el conocimiento con respecto a la epidemiología de las bronquiolitis, donde VRS se ha considerado durante mucho tiempo el único agente etiológico. Actualmente, se ha establecido que RV y hMPV también están involucrados en bronquiolitis infantiles. Nuestro estudio demostró una tasa de detección de virus respiratorios elevada (86,8%) comparada con otros trabajos en los que la incidencia obtenida fue del 61,5 y 66,7%, respectivamente, siendo empleados en ambos estudios como técnicas de detección, métodos de amplificación molecular^{8,9}. Sin embargo, Freymuth et al (2006)⁴ publicaron una incidencia mayor, el 92% de las muestras respiratorias analizadas mediante RT-PCR para la

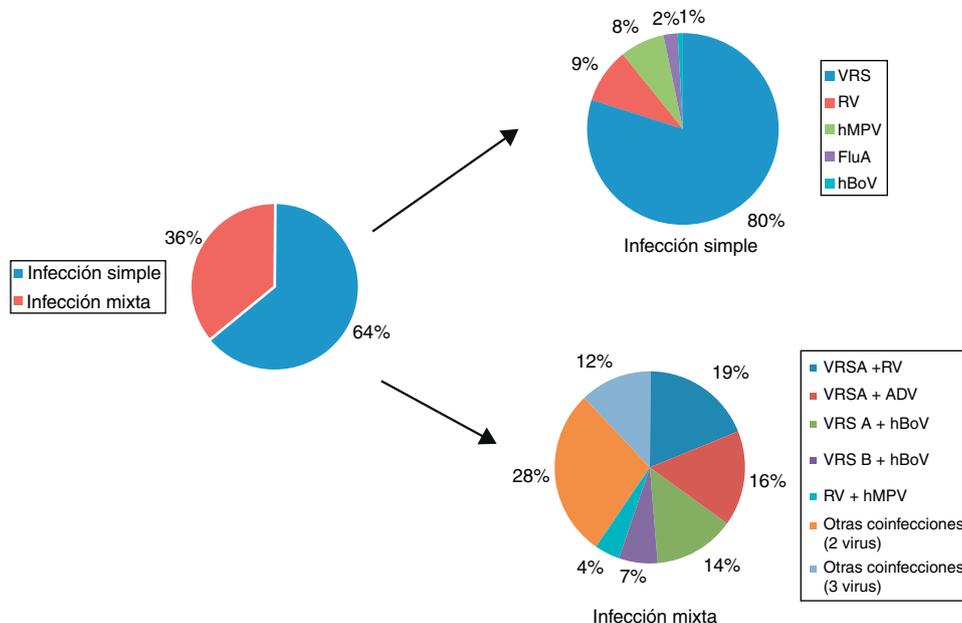


Figura 1 Frecuencia de infección respiratoria simple y mixta.

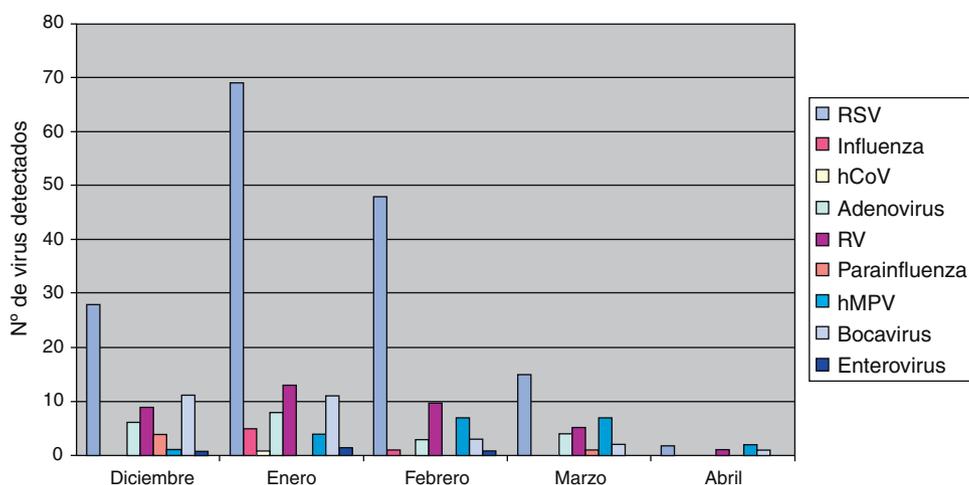


Figura 2 Distribución estacional de los virus respiratorios detectados en 235 niños hospitalizados con bronquiolitis aguda (2008-2009).

identificación de virus respiratorios presentaron un resultado positivo. La mayoría de las investigaciones describen al VRS como el agente etiológico encontrado con más frecuencia^{4,9,10}. En nuestros resultados se observó que en la mayor parte de los niños hospitalizados con bronquiolitis aguda se detectó VRS (162/235, 68,9%). Esta prevalencia es comparable con los resultados encontrados en un estudio multicéntrico realizado en Portugal (70%)⁹, aunque otras series revelaron una tasa menor (40-45%)^{4,11}. Por otra parte, al igual que en estudios previos, el segundo agente causal de bronquiolitis aguda en nuestro trabajo fue el RV. No obstante, estudios recientes^{4,12,13} observaron una prevalencia mayor de RV como agente único causante de bronquiolitis que la detectada en nuestra serie. Incluso, algunos estudios lo detectaron como primer agente causal de bronquiolitis en niños mediante RT-PCR específica^{8,14}. Esta variabilidad de detección del agente etiológico principal de bronquiolitis entre distintos estudios puede deberse a las distintas técnicas diagnósticas empleadas o a los diferentes criterios de inclusión utilizados en cada uno de ellos, como edad de los pacientes y hospitalización. Además, otro factor importante que puede influir en los resultados de estas series es el periodo de tiempo estudiado. De este modo, una limitación de nuestro trabajo es que únicamente se analizaron muestras respiratorias durante la estación anual de VRS (diciembre-abril), lo que favorece la obtención de un porcentaje de detección elevado para dicho virus.

La RT-PCR reveló la presencia de un único agente respiratorio causal en el 55,3% de los casos de bronquiolitis aguda estudiados (130/235). Un estudio realizado por Aberle et al (2005)¹⁰ mostró un porcentaje similar (57%). El VRS seguido del RV fueron los virus respiratorios detectados en la mayoría de casos diagnosticados de infección simple. Algunos estudios recientes han sugerido que los niños con bronquiolitis producidas por RV tienen mayor riesgo de desarrollar sibilancias recurrentes que aquellos con bronquiolitis por VRS^{15,16}. Se detectaron otros virus respiratorios con menor frecuencia: hMPV, influenza virus y hCoV. Estos hallazgos apoyan que la causa de las bronquiolitis agudas no es sinónimo de VRS y también pueden ser producidas por otros virus respiratorios. De acuerdo con estudios previos, la detección mixta

de virus respiratorios fue de un 20-30% donde la asociación observada con más frecuencia fue VRS con RV^{8,17,18}.

Destacó la escasa presencia de bocavirus y la ausencia de adenovirus, enterovirus y hCoV como agentes causales de infecciones simples. En consecuencia, sus síntomas clínicos pueden ser más leves y no necesitar hospitalización, de este modo el papel que juegan estos virus en las bronquiolitis es controvertido. Aunque puede que la detección de estos virus en muestras respiratorias de niños con bronquiolitis sea un hallazgo casual, no se observaron en un estudio control con niños sin sintomatología respiratoria¹⁹. Sin embargo, estudios recientes apuntan que hBoV se detecta con frecuencia en niños asintomáticos²⁰. Así que, se necesita realizar investigaciones adicionales para establecer la importancia de algunos virus en infecciones respiratorias.

Por otra parte, en este trabajo únicamente se detectaron 6 virus gripales. No obstante, la actividad gripal durante la temporada 2008-2009 fue similar a las temporadas anteriores. Puede que la baja detección de estos virus se deba a que los cuadros clínicos que producen no cumplan con los criterios de bronquiolitis establecidos en esta serie.

En cuanto a la distribución estacional, en nuestro estudio se observó que las bronquiolitis causadas por VRS siguieron la distribución estacional típica con un pico de incidencia durante los meses de invierno (enero 2009), de modo similar a lo descrito anteriormente por otros autores¹¹. hMPV se detectó con mayor frecuencia en marzo al igual que en otras investigaciones donde situaron el pico de incidencia en los meses de primavera⁸. Sin embargo, hBoV apareció en diciembre y enero, resultados similares a los detectados por Arnold et al²¹.

En conclusión, los resultados del presente estudio mostraron que en la mayoría de niños hospitalizados menores de 18 meses diagnosticados de bronquiolitis aguda se detectó algún virus respiratorio (204/235) y de estos, el 36% de los niños presentaron una infección mixta. El 68,9% del total de los niños con clínica de bronquiolitis al ingreso hospitalario presentaron infección por VRS, mientras que la frecuencia de infección por otros virus respiratorios fue baja y principalmente se detectaron en infecciones mixtas.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Bibliografía

- González de Dios J, Ochoa Sangrador C. Consensus conference on acute bronchiolitis (V): prevention of acute bronchiolitis. *An Pediatr*. 2010;72:353.e1-26.
- Shay DK, Holman RC, Newman RD, Liu LL, Stout JW. Bronchiolitis-associated hospitalizations among US children, 1980-1996. *JAMA*. 1999;282:4140-6.
- Boyce TG, Mellen BG, Mitchel Jr EF, Wright PF, Griffin MR. Rates of hospitalization for respiratory syncytial virus infection among children in Medicaid. *J Pediatr*. 2000;137:865-70.
- Freytmuth F, Vabret A, Cuvillon-Nimal D, Simon S, Dina J. Comparison of multiplex PCR assays and conventional techniques for the diagnostic of respiratory virus infections in children admitted to hospital with an acute respiratory illness. *J Med Virol*. 2006;78:1498-504.
- Xepapadaki P, Psarras S, Bossios A, Tsolia M, Gourgiotis D. Human metapneumovirus as a causative agent of acute bronchiolitis in infants. *J Clin Virol*. 2004;30:267-70.
- Richard N, Komurian-Pradel F, Javouhey E, Perret M, Rajoharison A. The impact of dual viral infection in infants admitted to a pediatric intensive care unit associated with severe bronchiolitis. *Pediatr Infect Dis J*. 2008;27:213-7.
- McConnochie KM. Bronchiolitis. What's in the name? *Am J Dis Child*. 1983;137:11-3.
- Chung JY, Han TH, Kim SW, Kim CK, Hwang ES. Detection of viruses identified recently in children with acute wheezing. *J Med Virol*. 2007;79:1238-43.
- Antunes H, Rodrigues H, Silva N, Ferreira C, Carvalho F, Ramalho H, et al. Etiology of bronchiolitis in a hospitalized pediatric population: Prospectivemulticenter study. *J Clin Virol*. 2010;48:134-6.
- Aberle JH, Aberle SW, Pracher E, Hutter HP, Kundi M, Popow-Kraupp T. Single versus dual respiratory virus infections in hospitalized infants. *Pediatr Infect Dis J*. 2005;24:605-10.
- Midulla F, Scagnolari C, Bonci E, Pierangeli A, Antonelli G, De Angelis D, et al. Respiratory syncytial virus, human bocavirus and rhinovirus bronchiolitis in infants. *Arch Dis Child*. 2010;95:35-41.
- Jartti T, Lehtinen P, Vourinen T, Ruuskanen O. Age and previous wheezing episodes are linked to viral etiology and atopic characteristics. *Pediatr Infect Dis J*. 2009;28:311-7.
- Jacques J, Moret H, Renois F, Lévêque N, Motte J, Andréoletti L. Human bocavirus quantitative DNA detection in French children hospitalized for acute bronchiolitis. *J Clin Virol*. 2008;43:142-7.
- Lemanske RF, Jackson DJ, Gangnon RE, Evans MD, Li Z, Shult PA. Rhinovirus illness during infancy predicts subsequent childhood wheezing. *J Allergy Clin Immunol*. 2005;116:571-7.
- Piippo-Savolainen E, Korppi M, Korhonen K, Remes S. Adult asthma after non-respiratory syncytial virus bronchiolitis in infancy: subgroup analysis of the 20-year prospective follow-up study. *Pediatr Int*. 2007;49:90-5.
- Jackson DJ, Gangnon RE, Evans MD, Roberg KA, Anderson EL, Pappas TE. Wheezing rhinovirus illnesses in early life predict asthma development in high-risk children. *Am J Respir Crit Care Med*. 2008;178:667-72.
- Nagayama Y, Tsubaki T, Nakayama S, Swada K, Taguchi K, Tateno N, et al. Gender analysis in acute bronchiolitis due to respiratory syncytial virus. *Pediatr Allergy Immunol*. 2006;17:29-36.
- Miron D, Srugo I, Kra-Oz Z, Keness Y, Wolf D, Amirav I, et al. Sole pathogen in acute bronchiolitis: is there a role for other organisms apart from respiratory syncytial virus? *Pediatr Infect Dis J*. 2010;29:e7-10.
- Kesebir D, Vazquez M, Weibel C, Shapiro ED, Ferguson D, Landry ML, et al. Human bocavirus infections in young children in the United States: Molecular epidemiological profile and clinical characteristics of a newly emerging respiratory virus. *J Infect Dis*. 2006;194:1276-82.
- Longtin J, Bastien M, Gilca R, Leblanc E, De Serres G, Bergeron MG, et al. Human bocavirus infections in hospitalized children and adults. *Emerg Infect Dis*. 2008;14:217-21.
- Arnold JC, Singh KK, Spector AA, Sawyer MH. Human bocavirus: prevalence and clinical spectrum at a children's hospital. *Clin Infect Dis*. 2006;43:283-8.