



**Universidad**  
Zaragoza

## Trabajo Fin de Máster

Impacto de las Trampas Extracelulares de Neutrófilos (NETs) en el pronóstico de la infección por Virus Respiratorio Sincitial (VRS) y Gripe en niños hospitalizados.

*Impact of Neutrophil Extracellular Traps (NETs) on the prognosis of infection by Respiratory Syncytial Virus (RSV) and Flu in hospitalized children.*

Autora:

Laura Andrés Zallo

Directores:

Profesor Feliciano Ramos Fuentes  
Dr. Juan Pablo García Íñiguez

Facultad de Medicina Universidad de Zaragoza  
Curso Académico 2019-2020



Facultad de Medicina  
Universidad Zaragoza

## **Impacto de las Trampas Extracelulares de Neutrófilos (NETs) en el pronóstico de la infección por Virus Respiratorio Sincitial (VRS) y Gripe en niños hospitalizados.**

Máster Universitario en Condicionantes Genéticos, Nutricionales y Ambientales del  
Crecimiento y Desarrollo

Línea de investigación: "Impacto de las Trampas Extracelulares de Neutrófilos (NETs)  
en el pronóstico de la infección por Virus Respiratorio Sincitial (VRS) y gripe"

Departamento de Microbiología, Pediatría, Radiología y Salud Pública  
Facultad de Medicina, Universidad de Zaragoza  
Curso 2019-2020

Hospital Infantil Universitario "Miguel Servet"

**Autora:** Laura Andrés Zallo

**DNI:** 51134327Z

**Tutor Académico:** Profesor Feliciano J. Ramos Fuentes

**DNI:** 08795117D

**Tutor Académico:** Dr. Juan Pablo García Íñiguez

**DNI:** 16590947N

## Resumen

**Contexto:** La bronquiolitis constituye causa de hospitalización más frecuente en el lactante. El virus respiratorio sincitial (VRS), principal responsable, se ha relacionado con la respuesta inmune de los neutrófilos.

**Objetivos:** Estudiar las características clínicas de los niños hospitalizados con bronquiolitis y el posible impacto de las Trampas Extracelulares de Neutrófilos (NETs) en el pronóstico de las infecciones respiratorias.

**Pacientes y métodos:** Estudio observacional descriptivo prospectivo realizado sobre niños hospitalizados por bronquiolitis causada por el VRS o Gripe. Se recogieron datos de antecedentes, clínicos, de diagnóstico y tratamiento; se recogieron muestras biológicas de aspirado nasofaríngeo para el estudio bioquímico-microbiológico.

**Resultados:** De 123 lactantes estudiados, un 10,6% presentaban antecedente de prematuridad y un 13,8% presentaron apneas. Los niños con apneas presentaban un peso menor de forma significativa. En todos los grupos de edad fue mayor el porcentaje de niños con bronquiolitis moderada. El uso de corticoides se dio en niños de más edad, con peor saturación basal y bronquiolitis grave. El uso de antibioterapia mostró diferencias en cuanto a la edad, la duración del ingreso, la realización y alteraciones de pruebas complementarias. La fiebre no se relaciona con mayor uso de antibióticos y sí con menor número de apneas.

**Conclusiones:** La mayoría de ingresos se producen en los primeros meses de vida. La prematuridad no conlleva mayor duración del ingreso ni necesidad de oxigenoterapia. A pesar del elevado uso de pruebas complementarias y tratamientos farmacológicos, el uso de antibióticos y corticoides se relaciona con variables de peor evolución clínica.

**Palabras clave:** Virus respiratorio sincitial, bronquiolitis, trampas extracelulares de neutrófilos.

## **Abstract**

**Background:** Bronchiolitis is the most frequent cause of hospitalization in infants. Respiratory syncytial virus (RSV), the main reason for this, has recently been related to the immune response of neutrophils.

**Main objectives:** To study the clinical characteristics of hospitalized children with bronchiolitis and the possible impact of NETs on the prognosis of respiratory infections.

**Patients and Methods:** Prospective descriptive observational study carried out on children hospitalized for bronchiolitis caused by RSV or influenza virus. Personal history with clinical data at admission, as well as biochemical values and information about diagnosis and treatment were recorded. In addition, biological samples were taken from the nasopharyngeal aspirate for subsequent biochemical and microbiological study.

**Results:** Out of 123 infants studied, 10.6% had a history of prematurity and 13.8% had apnea. The children with apnea had a significantly lower weight. In all age groups, the percentage of children with moderate bronchiolitis was higher. The use of corticosteroids occurred in older children, with worse baseline saturation and severe bronchiolitis. The use of antibiotic therapy showed differences in terms of age, duration, performance and findings in complementary tests. Fever is not related to increased use of antibiotics and it is related to fewer apneas.

**Conclusions:** Most of admissions occur in the first months of life. Prematurity does not lead to a longer hospital stay or increased need for oxygen therapy. Despite the high use of supplementary tests and pharmacological treatments, the use of antibiotics and corticosteroids is related to variables with worse clinical evolution.

**Keywords:** Respiratory syncytial virus, bronchiolitis, neutrophil extracellular traps.

# ÍNDICE

1. Introducción	
1.1 Infección por Virus Respiratorio Sincitial	1
1.2 Bronquiolitis	3
1.3 Posibles líneas de investigación de nuevos tratamientos	9
2. Hipótesis	15
3. Objetivos	
3.1. Objetivo general	15
3.2. Objetivos específicos	15
4. Metodología: Pacientes y métodos	16
5. Resultados	
5.1. Estadística descriptiva	21
5.2. Estadística analítica	41
6. Discusión	48
7. Limitaciones	52
8. Conclusiones	53
9. Bibliografía y referencias	54

## Abreviaturas por orden alfabético

- Abs: Anticuerpos (del inglés *antibodies*)
- ARN: Ácido ribonucleico
- CEICA: Comité de Ética de Investigación Clínica de Aragón
- CH: Complejo de histonas
- CPAP: *Continuous Positive Airway Pressure*
- DAMP: Patrones moleculares asociados a la lesión, por sus siglas en inglés: *damage-associated molecular patterns*
- DAP: Ductus arterioso persistente
- DNA: Acido desoxirribonucleico, por sus siglas en inglés *deoxyribonucleic acid*
- ELISA: Enzimoinmunoanálisis de adsorción, por sus siglas en inglés: *Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay*)
- FC: Frecuencia cardíaca
- FiO<sub>2</sub>: Fracción inspirada de oxígeno
- H3cit: Histona C3 citrulinada
- HSJD: Hospital Sant Joan de Déu
- ICT: Técnica de inmunocromatografía
- IF: Inmunofluorescencia
- IFN-α: Interferón alfa
- IFN-γ: Interferón gamma
- IL: Interleucina
- LRN: Longitud de recién nacido
- MPO: Mieloperoxidasa
- NE: Elastasa neutrofílica, por sus siglas en inglés: *Neutrophil elastase*.
- NET: Trampas extracelulares de neutrófilos, por sus siglas en inglés: *Neutrophil Extracellular Traps*
- NLR: *Nucleotide-binding oligomerization domain (NOD)-like receptors*
- NOD: *Nucleotide-binding oligomerization domain*
- PAD4: Proteína-arginina deaminasa 4
- PCR: Proteína C reactiva
- PCR-TR: Reacción en cadena de la polimerasa a tiempo real, por sus siglas en inglés: *Real Time-Polymerase Chain Reaction*.

- PCT: Procalcitonina
- pDCs: *Plasmacytoid dendritic cells*
- PEG: Pequeño para edad gestacional
- PRN: Peso de recién nacido
- RN: Recién nacido
- ROS: Especies reactivas de oxígeno
- Sat. O<sub>2</sub>: Saturación de oxígeno
- SDS: Puntuación de desviación estándar, por sus siglas en inglés: *Standard Deviation score*
- Th1/th2: *T-helper 1/2*
- TLR: *Toll-like receptor*
- UCI: Unidad de Cuidados Intensivos
- VMI: Ventilación Mecánica Invasiva
- VMNI: Ventilación Mecánica No Invasiva
- VRS: Virus respiratorio sincitial

# **1 INTRODUCCIÓN: REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA Y CUERPO TEÓRICO. JUSTIFICACIÓN DEL TEMA ELEGIDO**

## **1.1. Infección por Virus Respiratorio Sincitial**

### **1.1.1. Aspectos microbiológicos**

El virus respiratorio sincitial (VRS) constituye un agente causante de afectación aguda del tracto respiratorio superior, pudiendo afectar a personas de todas las edades. Las manifestaciones clínicas varían en función de la edad, el estado de salud y si se trata de una infección primaria o secundaria. (1)

El VRS es un mixovirus constituido por ácido ribonucleico (ARN) de cadena simple, que pertenece a la familia de los *Pneumoviridae*, género *Orthopneumovirus* (2). Existen dos subtipos, A y B, presentes simultáneamente en la mayoría de los brotes. Los subtipos A generan una enfermedad más grave. A su vez, dentro de estos subtipos predominan varios genotipos distintos; las cepas dominantes cambian de forma anual, lo que puede explicar las reinfecciones frecuentes. (1,3)

La transmisión principal del VRS se produce por inoculación de membranas mucosas nasofaríngeas u oculares después de tener contacto con secreciones o fómites que contienen el virus. Con un período de incubación estimado entre 4 y 6 días, el contacto directo es la forma más común de transmisión, así como mediante gotas de aerosoles (1). El VRS sobrevive durante horas en manos y fómites (3). Por ello, el lavado de manos y las precauciones de contacto constituyen medidas fundamentales para prevenir la transmisión derivada de la atención médica. Los estudios de la dinámica de transmisión sugieren que la infección de los bebés con mayor frecuencia sigue a la infección de hermanos mayores (1)

### **1.1.2. Epidemiología del VRS en Pediatría**

El VRS causa brotes estacionales en todo el mundo. En nuestro medio, en el hemisferio norte, el brote se produce entre los meses de octubre o noviembre hasta abril o mayo, con pico de incidencia en enero o febrero (4).

En niños se trata de una infección muy frecuente; prácticamente la totalidad de los niños se han infectado para los dos años de edad, y la reinfección es común (1).



### **1.1.3. Morbilidad**

El VRS es la causa más frecuente de infección del tracto respiratorio inferior en niños menores de 1 año (4).

En la revisión sistemática y meta-análisis de Stein et al., 2016 (5), la tasa anual global de hospitalización por VRS en niños menores de 5 años fue de 4,4 por 1.000 (con un intervalo de confianza del 95%: 3,0-6,4) (5). Las tasas de hospitalización por VRS fueron más altas entre los niños menores de 6 meses (20 por 1.000, con un intervalo de confianza del 95%: 0,7-41,3) y los lactantes prematuros menores de 1 año (63,9 por 1.000, con un intervalo de confianza del 95%: 37,5-109,7).

En el estudio internacional "PERCH" multicéntrico de casos y controles de 2019, el VRS fue el patógeno más común aislado de niños de 1 a 59 meses hospitalizados por neumonía grave en África y Asia, representando el 31 por ciento de los casos (6). Así mismo, la infección por VRS supone también una causa fundamental de carga asistencial en las consultas ambulatorias y de urgencias cada año en pleno brote epidémico.

### **1.1.4. Mortalidad**

El VRS es una causa importante de mortalidad infantil. Globalmente, se estima que es responsable de hasta un 2,3% de las muertes de población neonatal (edad entre 0 a 27 días de vida), de un 6,7% de mortalidad entre los 28 y 364 días y de un 1,6% de mortalidad infantil en edades comprendidas entre el año y los 4 años de edad (7).

En el grupo de primer año de vida, se estima que el VRS causa más muertes que ningún otro agente infeccioso, a excepción de la malaria. En lugares con recursos limitados, la mortalidad por VRS ocurre principalmente en recién nacidos a término. En países ricos en recursos sanitarios, la mayoría de la mortalidad se produce en niños con antecedente de prematuridad y en aquellos en los que subyace una enfermedad cardiopulmonar u otras condiciones crónicas (por ejemplo una inmunodeficiencia) (1)

## **1.2. Bronquiolitis, manifestación clínica de infección por VRS de gran repercusión.**

Una de las manifestaciones clínicas de la infección por el virus respiratorio sincitial es la bronquiolitis, entidad de gran repercusión en pediatría.

La bronquiolitis se define como el primer episodio de dificultad respiratoria aguda en niños menores de dos años, frecuentemente en menores de seis meses, caracterizado por síntomas de vía respiratoria superior (rinitis, tos, con o sin fiebre) los primeros días, seguido de inflamación de la vía aérea inferior, con disminución de la entrada de aire alveolar o sibilantes. Existe controversia en cuanto a esta definición, puesto que existen dudas acerca de si considerar el segundo episodio de sibilancias en menores de 2 años como bronquiolitis (8,9).

Se trata de una enfermedad inflamatoria aguda del tracto respiratorio inferior, resultante de la obstrucción de pequeñas vías aéreas (bronquios y bronquiolos) por edema, restos epiteliales, tapones de moco e infiltrado celular inflamatorio. La obstrucción del bronquiolo conduce a una situación de hiperinsuflación pulmonar, con atelectasias pulmonares, lo que condiciona una alteración de la relación ventilación-perfusión que conlleva, en última instancia, a la aparición de hipoxemia (8)

Habitualmente, se inicia por una infección de vías respiratorias superiores, causada frecuentemente por numerosos virus estacionales. La infección por el VRS constituye la causa más frecuente, seguido por el rinovirus (10). Les siguen como causantes de forma menos frecuente el virus parainfluenza, el metapneumovirus humano, el virus influenza, adenovirus, coronavirus, y bocavirus humano. Así mismo, la infección del tracto respiratorio inferior y episodios de sibilantes se asocian con infecciones por *Mycoplasma pneumoniae* y *Bordetella pertussis*. (8)

### **1.2.1. Epidemiología**

La bronquiolitis es la infección del tracto respiratorio inferior más frecuente en el lactante y la causa de hospitalización más frecuente en menores de un año (4). El pico se produce entre los 2 y 6 meses de edad. La mayoría de los casos se tratan ambulatoriamente, siendo las primeras 48-72 horas cuando se requiere una vigilancia más estrecha.

Presenta un período de incubación de entre dos y ocho días. Se transmite por mecanismo directo, a través de secreciones respiratorias y, por mecanismo indirecto, incluso más importante, por fómites y por las manos de personal y familia (el VRS puede sobrevivir entre 6-12h). (8)

El predominio estacional en nuestro medio es otoño-invierno y las reinfecciones son frecuentes dado que la respuesta inmunitaria primaria a la infección por VRS es pobre e incompleta.

Entre los factores de riesgo de desarrollar enfermedad grave o complicada, encontramos los siguientes (8,11):

- Prematuridad (edad gestacional menor de 36 semanas).
- Bajo peso al nacimiento (< 2.500 g).
- Edad menor de 12 semanas de vida.
- Enfermedad pulmonar crónica (displasia broncopulmonar, fibrosis quística),
- Defectos anatómicos de la vía aérea
- Cardiopatías congénitas con repercusión hemodinámica,
- Enfermedad neurológica
- Inmunodeficiencia.
- Ausencia de lactancia materna.

Existen también otros factores de riesgo que pueden contribuir a padecer una enfermedad más grave (8): El tabaquismo pasivo, el hacinamiento y la pobreza, la asistencia a guarderías, el hecho de haber nacido aproximadamente dos meses antes o después del inicio de la epidemia, ser hermanos gemelos o mellizos, tener hermanos mayores y la altitud (superior a 2.500 metros) pueden contribuir a padecer enfermedad más grave

### **1.2.2. Curso clínico**

Clínicamente, se pueden distinguir tres fases en la evolución de la enfermedad (8):

- Cuadro inicial (del primer al tercer día): Síntomas de vías respiratorias altas (rinitis y tos, síntoma predominante), pudiendo aparecer fiebre. La tos se caracteriza por ser seca, en accesos, paroxística, y no suele cursar con el “gallo” inspiratorio típico de la tosferina, con la que es necesario hacer el diagnóstico diferencial.
- Síntomas de vías respiratorias bajas (del tercer al séptimo día): Sibilancias aisladas en los casos más leves, o acompañadas de roncus difusos, estertores finos o subcrepitantes en los casos más graves. Los lactantes suelen presentar rechazo de las tomas e irritabilidad.
- Fase secretora (del séptimo al decimocuarto día): Aumento de la rinitis y tos más productiva.

En los casos más graves, podemos encontrar asociada disnea con aumento de la frecuencia respiratoria, retracciones intercostales y subcostales, hiperinsuflación torácica, inquietud y cianosis periférica. En lactantes pequeños, especialmente en prematuros, pueden aparecer episodios de apnea que requieren una vigilancia más estricta (8,12).

El cuadro tiene tendencia a la resolución espontánea. La mayoría son formas leves y los síntomas desaparecen en menos de una semana, aunque la tos, último síntoma en desaparecer, puede persistir hasta 3-4 semanas. (10).

Una de las escalas existentes, que nos sirven para clasificar el grado de gravedad de un paciente con bronquiolitis, es la escala del Hospital Sant Joan de Déu de Barcelona (13):

	<b>0</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>
<b>Sibilantes/ Estertores</b>	NO	Espiratorios/ inspiratorios	Inspiratorios/ Espiratorios	
<b>Entrada de aire</b>	Normal	Regular, simétrica	Asimétrica	Muy disminuida
<b>Tiraje</b>	NO	Subcostal + Intercostal inferior	+ supraclavicular + aleteo nasal	+ intercostal sup. + supraesternal
<b>FC</b>				
<b>&lt; 1 año</b>	<130	130-149	150-170	>170
<b>1-2 años</b>	<110	110-120	120-140	>140
<b>FR</b>				
<b>&lt; 3 meses</b>	<40	40-59	60-70	>70
<b>3-12 meses</b>	<30	30-49	50-60	>60
<b>12-24 meses</b>	<30	30-39	40-50	>50
<b>Sat O<sub>2</sub></b>				
<b>Sin O<sub>2</sub></b>	≥95%	91-94%	<91%	
<b>O<sub>2</sub> (FiO<sub>2</sub> &gt; 40)</b>	Sin O <sub>2</sub>	>94%	≤94%	

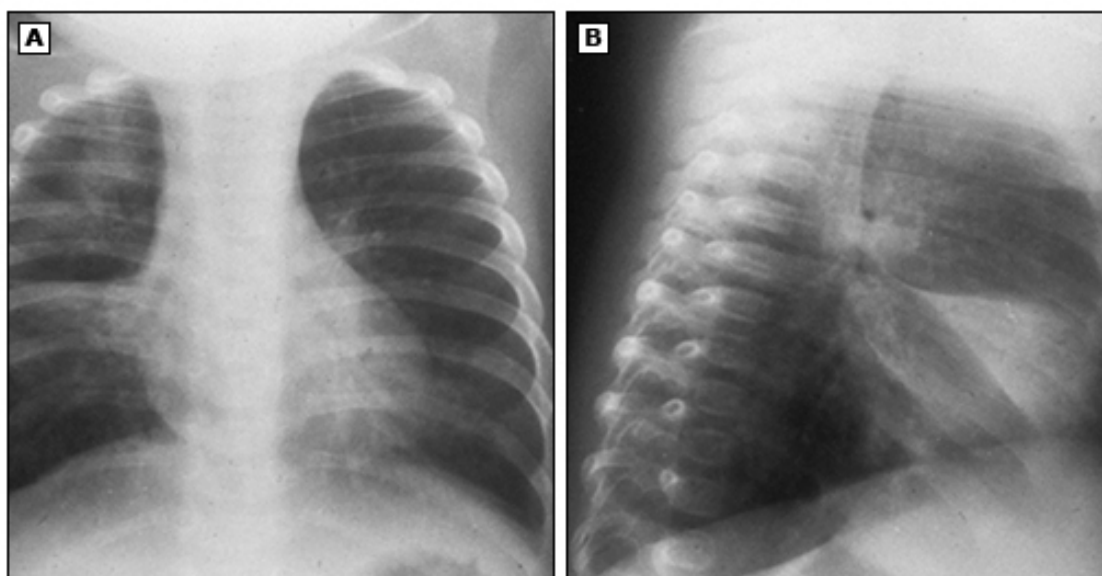
**Tabla 1.1.** Escala de gravedad de bronquiolitis del Hospital Sant Joan de Déu. Leve: Menor de 6 puntos. Moderada: 6-10 puntos. Grave: Más de 10 puntos.

### 1.2.3. Diagnóstico

En cuanto al diagnóstico de la bronquiolitis, se realiza de forma clínica. Las radiografías de tórax y estudios de laboratorio no son necesarios para realizar el diagnóstico y no deben realizarse de forma rutinaria (9). Sin embargo, puede ser necesaria su realización para evaluar la comorbilidad con una posible infección bacteriana secundaria, complicaciones u otras condiciones en el diagnóstico diferencial, particularmente en los niños con antecedente de enfermedad cardiopulmonar. (9)

Los hallazgos radiográficos de la bronquiolitis, que son variables y no específicos, incluyen hiperinsuflación y engrosamiento peribronquial. (14)

Las atelectasias con pérdida de volumen pueden deberse al estrechamiento de las vías respiratorias y a los taponamientos por mucosidad. La consolidación segmentaria y los infiltrados alveolares son más característicos de la neumonía bacteriana que la bronquiolitis. Dado que los hallazgos radiográficos son malos indicadores del diagnóstico etiológico y deben usarse junto con otras características clínicas para tomar decisiones sobre el diagnóstico y el tratamiento. De lo contrario, se corre el riesgo de que las radiografías desafortunadamente alteren el tratamiento y puedan conducir a un uso inapropiado de antibioterapia. (8,14)



**Figura 1.1.** Radiografías que muestran hallazgos de bronquiolitis. 1. Atelectasia de lóbulo medio. 2. Infiltraciones peribronquiales con broncogramas aéreos. 3. Hiperinsuflación pulmonar con aplanamiento de los diafragmas. (8)

#### 1.2.4. Tratamiento:

En relación al tratamiento de las bronquiolitis, continúa constituyendo en el momento actual un motivo de controversia. Se basa en medidas de soporte, dado que la mayoría de tratamientos farmacológicos no poseen relevancia significativa (15), según podemos leer en las distintas Guías de Práctica Clínica). (9,16,17)

Entre las medidas de soporte se incluyen las siguientes:

- Lavados nasales: Se recomienda antes de las tomas, antes de cada tratamiento inhalado y cuando se observen signos de obstrucción de la vía respiratoria alta. Se propone hacerlo de forma suave y limitado a fosas nasales.
- Posición semiincorporada (cabecero de la cama elevado 30°).
- Nutrición: Fraccionar las tomas; en caso de fatiga importante, se debe valorar colocación de sonda nasogástrica o fluidoterapia intravenosa por riesgo de aspiración. También se recomienda una hidratación abundante.
- Oxigenoterapia: Se encuentra indicada en casos de bronquiolitis moderada o grave, que presenten dificultad respiratoria importante, cianosis o saturación de oxígeno menor de 92%. Se recomienda la administración de oxígeno de forma intermitente, interrumpiéndola cuando los valores sean mayores de 92%, haya disminuido el trabajo respiratorio y el lactante pueda alimentarse de forma adecuada. Existen las opciones de terapia de bajo flujo (flujo aproximado de 2 litros por minuto), con la que se recomienda iniciar la oxigenoterapia con gafas nasales; y la oxigenoterapia de alto flujo (flujos de 5 a 40 litros por minuto), indicada en casos de insuficiencia respiratoria grave, hipoxemia con necesidades de  $FiO_2$  mayores de 0,4 o en episodios de apneas recurrentes.
- Ventilación no invasiva con CPAP: Indicada en caso de fallo respiratorio inminente (signos de agotamiento, disminución de esfuerzo respiratorio, apnea o fracaso para mantener saturaciones adecuadas a pesar de oxigenoterapia)

Según las Guías de Práctica Clínica, no hay evidencia científica que justifiquen el uso de los siguientes fármacos de forma rutinaria:

- Salbutamol nebulizado: Su uso no se recomienda (9,16). El protocolo del Grupo de Vías Respiratorias de 2015 tampoco lo recomienda porque se ha estudiado que no mejoran la saturación de oxígeno, la frecuencia respiratoria, no disminuye la tasa de ingresos ni los días de estancia en el hospital. Sin

embargo, afirma que produce una pequeña mejoría en la escala de síntomas de poca repercusión clínica.

- Adrenalina nebulizada: Su uso no se recomienda (9,16). Según el protocolo del Grupo de Vías Respiratorias de 2015 la administración de adrenalina nebulizada no ha demostrado ser eficaz en la reducción de la duración del ingreso hospitalario, necesidad de oxígeno suplementario, ingreso en UCI o de la necesidad de ventilación mecánica, aunque pueda producir una mejoría clínica transitoria.
- Nebulizaciones con suero salino hipertónico al 3%: Según la “Guía de Práctica Clínica de la Academia Americana de Pediatría” de 2014, y el “Protocolo del Grupo de Vías Respiratorias” de 2015, no se recomienda su administración en urgencias, pero sí sería una opción de tratamiento en pacientes ingresados. La “Guía NICE” de bronquiolitis 2015 recomienda no administrarlo.
- Corticoides sistémicos o inhalados: No se recomiendan. (9,16)
- Antibioterapia: No se recomienda, salvo sospecha de sobreinfección bacteriana. (9,16)
- Terapia con Heliox: Mezcla gaseosa de helio y oxígeno de menor densidad que el aire, puede tener utilidad en las bronquiolitis graves que requieren cuidados intensivos, aunque no hay pruebas de que reduzca la necesidad de intubación ni de ventilación mecánica. (18)
- Antivíricos: Se ha estudiado el uso de ribavirina, análogo de la guanosina, con actividad de amplio espectro contra varios virus, especialmente contra los ARN. Podría usarse en pacientes inmunodeprimidos graves con infección por VRS, como en lactantes con enfermedad pulmonar crónica y cardiopatía congénita cianótica. Actualmente no se recomienda su uso, ya que se han descrito casos de teratogenicidad en estudios con animales, aunque esto no se ha observado en la práctica clínica. (19)
- Otros tratamientos ensayados como la inmunoglobulina endovenosa o la DNasa recombinante no han mostrado efectos beneficiosos en pacientes graves. (18).

A pesar de la evidencia disponible y accesible en las Guías de Práctica Clínica, el uso de estos tratamientos continúa siendo elevado. Trabajos como el de Montejo et al., de 2019, muestra que un elevado porcentaje de pacientes con bronquiolitis aguda continúan siendo tratados con broncodilatadores, corticoides y antibióticos, a pesar de la falta de utilidad demostrada de estos tratamientos.

### **1.3. Posibles líneas de investigación de nuevos tratamientos: Neutrófilos y trampas extracelulares de neutrófilos (NETs).**

En las bronquiolitis por VRS, microscópicamente, hay un reclutamiento masivo de neutrófilos a las vías aéreas de los niños infectados, constituyendo aproximadamente el 80% de las células del infiltrado inflamatorio (20,21). Una vez en la vía aérea, el VRS es capaz de activar neutrófilos, incluyendo degranulación y secreción de IL-8 (22), y también inhibe la apoptosis de los mismos a través de mecanismos dependientes del factor nuclear kappa (23). Toda esta información sugiere que los neutrófilos pueden jugar un papel significativo en la patogenia de la enfermedad.

#### **1.3.1. Neutrófilos e inmunidad innata**

Los neutrófilos son fundamentales en la respuesta inmune del huésped frente a agresiones externas. Son las primeras células en llegar al foco de la infección y por tanto, en actuar y desencadenar el resto de la cascada inmune formando parte protagonista de la inmunidad innata frente a *microorganismos*. Los neutrófilos pueden identificar y unirse a las bacterias gracias a los *Toll-Like Receptors* (TLRs) produciéndose una cascada de activación, transcripción, adhesión e infiltración de los mismos. Esta unión desencadena una activación de las *Nucleotide-Binding Oligomerization Domain (NOD)-like receptors* (NLRs) que son unas proteínas que inducen la expresión de determinados genes desencadenando la producción y liberación de citocinas. Éstas provocan una migración quimiotáctica de los neutrófilos hasta los capilares del foco de infección; allí las moléculas de adhesión de las células endoteliales provocan su infiltración, que en el caso de las infecciones respiratorias ocurre en el aparato respiratorio del paciente. (24)

La forma de actuar de los neutrófilos como agentes bactericidas es muy diversa e incluye fenómenos de fagocitosis; degranulación de proteasas y otras sustancias bactericidas; liberación de especies reactivas de oxígeno (ROS) y, tal como se ha descrito en los últimos años, la formación de trampas extracelulares de neutrófilos (NETs por sus siglas en inglés) (25). La alteración de cualquiera de estas funciones, desde el reclutamiento o activación hasta las distintas formas de eliminar gérmenes, se traduce en expresiones clínicas con diversas manifestaciones que van a tener como denominador común una alteración de la inmunidad innata (26).

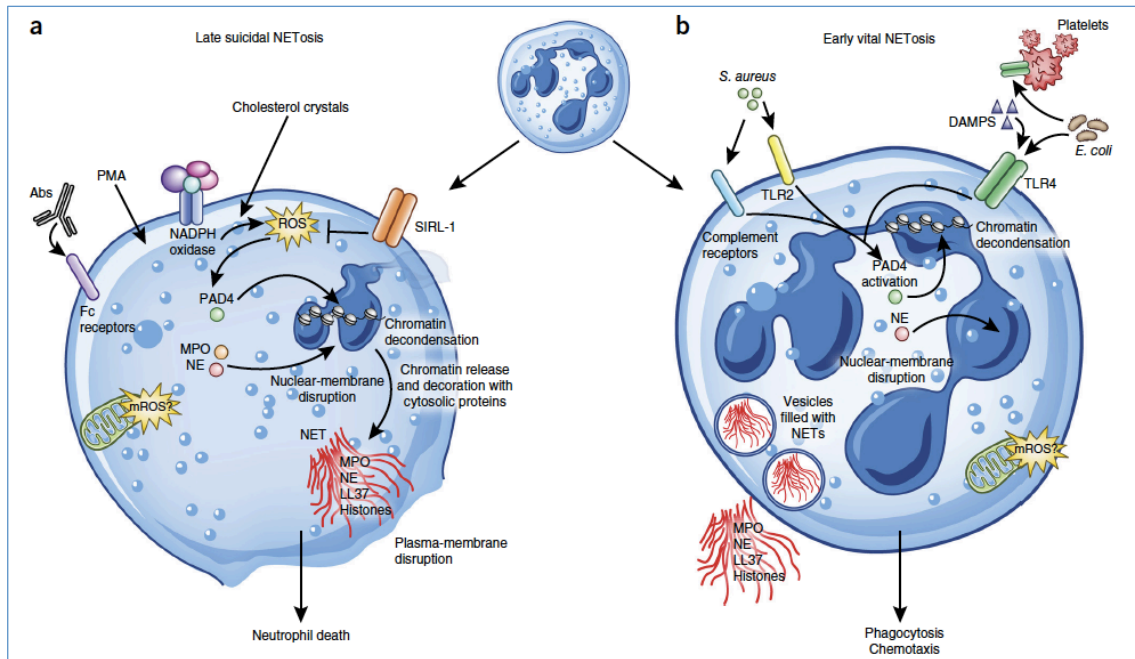


### 1.3.2. Definición de las Trampas extracelulares de neutrófilos

Las trampas extracelulares de neutrófilos (NETs por sus siglas en inglés) son estructuras de filamentos de cromatina recubiertos con histonas, proteasas y proteínas granulares y citosólicas. El término NETosis describe el proceso por el cual los neutrófilos producen y liberan NETs. Este proceso permite a los neutrófilos inmovilizar y atrapar a las bacterias, hongos o virus, lo que resulta en una eliminación del patógeno más eficiente. El término original de NETosis se usaba para indicar la muerte de los neutrófilos que tenía lugar con la liberación de las NETs. En algunos casos, sin embargo, la estimulación neutrofílica derivada del patógeno permite inducir una forma de NETosis rápida y vital, en la cual los neutrófilos aún pueden mantener sus funciones fagocíticas después de producir las NETs. Experimentos en ratones desprovistos de la capacidad de producir NETs muestran que tienen una aumentada susceptibilidad a varios patógenos, lo que demuestra la importancia de estas moléculas en la infección. (27)

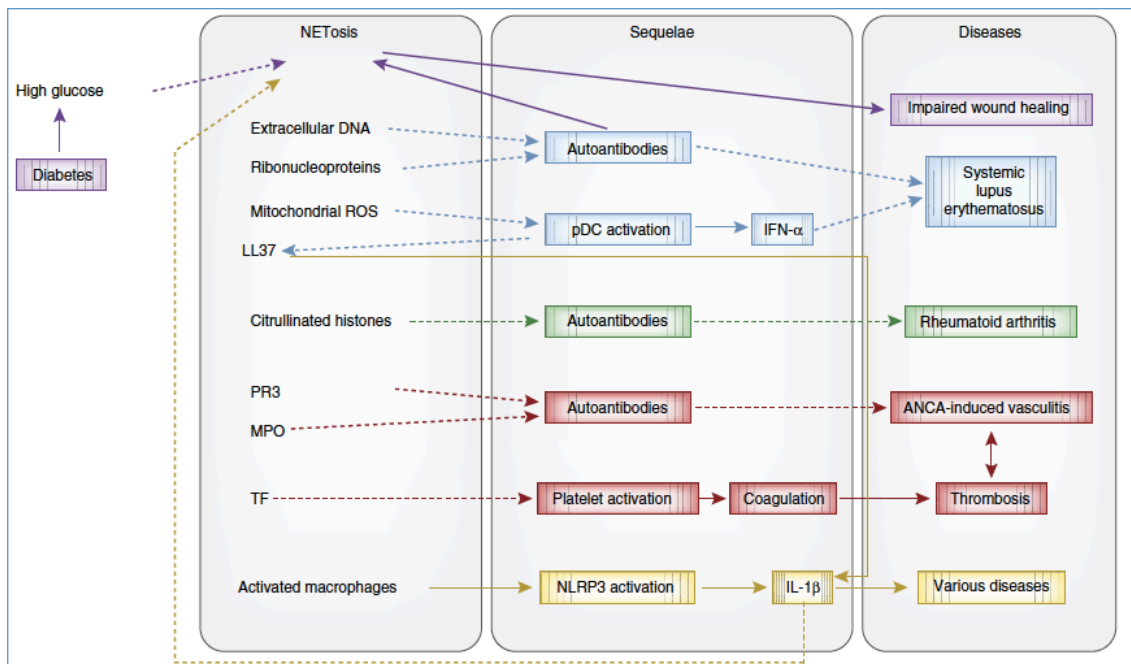
Como se muestra en la *figura 2*, tomada del trabajo de Jorch et al., 2017 (27), el proceso de NETosis se produce tras una compleja cadena de reacciones moleculares. En la *imagen a*, se describe la reacción conocida como “NETosis suicida tardía”, en la que diferentes estímulos, como los (auto)anticuerpos (Abs) o cristales de colesterol, inducen la “NETosis suicida”, que ocurre horas después de su estimulación. Después de la activación de la NADPH oxidasa, se producen especies reactivas de oxígeno (ROS), lo que conlleva la activación de la enzima proteína-arginina deaminasa 4 (PAD4), una enzima que convierte la arginina en citrulina en las histonas, con el resultado de la descondensación de la cromatina en el núcleo del neutrófilo. Posteriormente la elastasa neutrofílica (NE) y mieloperoxidasa (MPO) son translocadas dentro del núcleo para promover mayor despliegue de cromatina, con la resultante disrupción de la membrana nuclear. La cromatina es liberada dentro del citosol, donde se ve envuelta de las proteínas citosólicas y granulares. Finalmente, las NETs son liberadas gracias a la disrupción de la membrana plasmática y el neutrófilo muere. En la *imagen b*, se describe la “NETosis vital temprana”, que es inducida en minutos por ejemplo por *S.aureus* a través de los receptores del complemento y ligandos de TLR2 (*Toll-like receptor-2*), o por *E.coli* directamente vía TLR4 (*Toll-like receptor-4*) o indirectamente a través de la vía de plaquetas activadas por TLR-4. De este modo, PAD4 es activada, quizás sin necesidad de oxidantes e induce la descondensación de la cromatina. Como sucede en la NETosis suicida, la NE es traslocada dentro del núcleo para promover mayor despliegue de cromatina y

disrupción de la membrana nuclear. Sin embargo, en este caso, la cromatina decorada con proteínas se expulsa vía vesículas y el neutrófilo permanece vivo para funciones adicionales, como la fagocitosis. La manera en la que la producción mitocondrial de especies reactivas de oxígeno está envuelta en una u otra forma de NETosis no se ha elucidado completamente todavía.



**Figura 1.2.** Visión general de la NETosis. a) NETosis suicida tardía. b) NETosis vital temprana.

Hay evidencia reciente que sugiere que las NETs podrían jugar un papel importante también en las enfermedades no infecciosas. Durante la NETosis, proteínas intracelulares se quedan expuestas al espacio extracelular, lo que resulta en la potencial presentación de autoantígenos al sistema inmune del huésped y la consecuente liberación de patrones moleculares asociados a la lesión (DAMP), lo que amplifica la respuesta inmune. Se ha descrito que la NETosis podría participar en las condiciones fisiopatológicas implicadas en enfermedades como el lupus eritematoso sistémico, artritis reumatoide, diabetes, aterosclerosis, vasculitis, trombosis, cáncer, cicatrización y trauma. Las NETs pueden dañar el tejido del huésped, contribuir al desarrollo de la autoinmunidad y conducir a otros eventos disfuncionales, como las metástasis, trombosis y coagulación inapropiada (Fig.1.3)



**Figura 1.3.** Visión general de cómo la NETosis se ve envuelta en la progresión de enfermedades no infecciosas. Se piensa que los componentes producidos en la NETosis están envueltos en la progresión de la enfermedad. Se representan los componentes involucrados, las secuelas que preceden a la enfermedad y las enfermedades. Los diferentes colores representan los enlaces. Las líneas punteadas representan los enlaces que requieren más evidencia. En el caso de la diabetes, los niveles elevados de glucosa pueden inducir la producción de NET y comenzar así la cadena. pDCs: *Plasmacytoid dendritic cells*; IFN-  $\alpha$  interferon-  $\alpha$ . (Jorch et al., 2017)

Aunque los neutrófilos tienen funciones pro-inflamatorias, también ayudan a resolver la inflamación. Los neutrófilos fagocitan células muertas y restos celulares y por ello ayudan a eliminar una fuente de inflamación estéril. Además, envían señales para reclutar monocitos, los que, a su vez, fagocitan neutrófilos apoptóticos o necróticos, lo que en última instancia resulta en la resolución de la inflamación (28,29).

Si existen subtipos de neutrófilos inflamatorios y anti-inflamatorios sigue siendo un área de investigación ávida pero no resuelta. Dado que no todos los neutrófilos *in vitro* e *in vivo* son capaces de producir NETs, es posible que existan diferentes subtipos de neutrófilos, algunos de ellos podrían causar inflamación, mientras que otros podrían llevar a cabo funciones reparadoras (27).

### **1.3.3. Virus Respiratorio Sincitial en niños y NETs, importancia clínica y posible diana terapéutica.**

Volviendo a la participación de los neutrófilos en las infecciones respiratorias, como las ocasionadas por VRS, se ha visto recientemente que las NETs tienen una función protectora frente a los virus, atrapándolos y previniendo su diseminación a las células diana del huésped (30).

Recientemente, se ha demostrado que partículas de VRS y una de sus glucoproteínas unidas a la membrana son capaces de inducir la formación de NETs por parte de neutrófilos humanos (31). La proteína de fusión (proteína F) del VRS interviene en la fusión del virus con la célula del huésped y es esencial para la duplicación viral, tanto in vivo como in vitro (32) y es considerada como la principal diana para el desarrollo de nuevos fármacos anti VRS y de la vacuna. La proteína F induce la formación de NETs relacionada con Mieloperoxidasa (MPO) y Elastasa Neutrofílica (NE) a través de la activación del receptor *Toll Like 4* (TLR-4). Además, la proteína F estimula la generación de ROS, que es una señal necesaria para la formación de NETs in vitro (31). Se ha postulado que, aunque las NETs contribuyan a la defensa antiviral capturando viriones del VRS, una formación exagerada de NETs puede ocurrir en la infección del tracto respiratorio por VRS. Un estudio reciente en 5 niños con bronquiolitis por VRS en UCI a los que se les practicó lavado broncoalveolar, reveló la presencia en este de NETs expresando NE y otro de sus componentes, la Histona 3 citrulinada (H3cit) (33). Además, la infección de terneros con VRS bovino indujo una extensa liberación de NETs co-localizados con tapones celulares densos que contenían células epiteliales descamadas y gran cantidad de neutrófilos, que obstruían las vías aéreas (33). Por tanto, existen datos in vitro y en animales de experimentación, así como en un grupo de 5 niños, sugiriendo que las NETs pueden contribuir a la inmunopatología de la infección grave por VRS, así como al desarrollo de obstrucción de la vía aérea.

Por ello, parece interesante conocer si esto es así en un número mucho mayor de niños con infección por VRS hospitalizados, así como si los aspirados nasales, practicados de rutina en el diagnóstico clínico, son útiles (una vez cuantificados) como marcador de gravedad.

La participación de las NETs en la patogenia y en la gravedad de estos pacientes puede ser de gran relevancia clínica en su manejo, ya que existen potenciales tratamientos para neutralizar a las NETs, como DNasas o inhibidores de la NETosis.

#### **1.3.4. Medición de NETs**

En muchos estudios, la NETosis es medida mediante una tinción de DNA de membrana plasmática impermeable, el Sytox Green, u otros marcadores de DNA después de la activación de la NETosis mediante forbol 12-miristato 13-acetato, un inductor de NET.

En el trabajo de Jorch et al., 2017 (27) , se sugiere que siempre debiera ser necesario realizar ensayos adicionales antes de extraer conclusiones sobre las NETs. La tinción de Sytox green funciona bien para la tinción de DNA extracelular porque no entra a las células vivas. Sin embargo, se debe tener en mente que en algún momento durante la muerte celular, las células pueden permeabilizarse lo suficiente como para permitir la penetración de Sytox green y en las infecciones, las bacterias pueden liberar su DNA. Por ello, sugieren que merece la pena medir histonas como segundo marcador, y/o elastasa y otras proteasas de neutrófilos. Una solución óptima pueden constituirlos los anticuerpos que detectan complejos DNA-histonas. Un tercer e importante marcador para determinar neutrófilos como fuente de complejos DNA-histonas es medir la elastasa neutrofílica en los complejos. Cuando la actividad proteolítica de la elastasa puede ser detectada *in vivo* en estrecha proximidad a los complejos de DNA-histona, entonces los NET son probablemente los culpables.

#### **1.3.5. Justificación del trabajo**

Dada la prevalencia e impacto de las infecciones por VRS y gripe, así como de una de sus principales manifestaciones, la bronquiolitis aguda, en la población infantil, resulta de vital importancia estudiar posibles factores pronóstico que puedan estar implicados en una mejor evolución de la enfermedad, o que puedan abrir el camino de posibles dianas terapéuticas.

Para ello, por un lado, este trabajo se centra en tratar de describir las características epidemiológicas y clínicas de los pacientes afectados, para lo que hemos estudiado las diversas variables que se describen en el apartado correspondiente.

Por otro lado, se está demostrando que las NETs están implicadas en numerosas entidades, de carácter infeccioso y no infeccioso, como enfermedades autoinmunes o distintos tipos de cáncer. Es por ello que estudiar el estado de las NETs en niños afectados de bronquiolitis, ya sea producida por VRS o por el virus de la gripe, constituye un objetivo importante de investigación, que permita diseñar posibles dianas terapéuticas en el futuro próximo y conseguir algún tratamiento que pueda mejorar el pronóstico.

## **2. HIPÓTESIS**

Los niños afectados de bronquiolitis grave causada por los virus VRS y gripe A o B presentarían características clínicas que predispongan a una peor evolución clínica. Así mismo, dada la ausencia de estudios de NETs en población infantil, desconocemos qué papel tienen las NETs en la bronquiolitis y si se asocian a mejor o peor pronóstico. Este estudio se diseña como punto de partida de investigación de esta red compleja de moléculas y su influencia en una entidad tan frecuente e importante como es la bronquiolitis por VRS o gripe A o B.

## **3. OBJETIVOS**

### **3.1. Objetivos generales:**

- Estudiar las características clínicas de los niños ingresados con bronquiolitis por virus respiratorio sincitial y virus de la gripe A y/o B.
- Estudiar la presencia de moléculas implicadas en la NETosis en las muestras de aspirado nasofaríngeo y/o de sangre de los niños afectados de bronquiolitis causadas por el VRS y los virus de la gripe y el papel que tendrían en su evolución clínica.

### **3.2. Objetivos específicos:**

- Determinar la prevalencia de antecedente de prematuridad en lactantes con bronquiolitis.
- Analizar la utilización de las diferentes opciones terapéuticas durante el ingreso de niños con bronquiolitis en un hospital de tercer nivel.
- Estudiar el grado de co-infección en niños con bronquiolitis.
- Analizar los distintos patrones radiológicos presentes en niños con bronquiolitis.
- Estudiar la prevalencia de prescripción de antibioterapia en niños con bronquiolitis.

## **4. METODOLOGÍA: PACIENTES Y MÉTODOS**

### **4.1. Tipo de estudio.**

Para lograr nuestros objetivos se diseñó un estudio observacional descriptivo prospectivo, que realizamos dentro del Servicio de Pediatría del Hospital Infantil Universitario Miguel Servet.

### **4.2. Criterios de inclusión:**

- Niños ingresados con diagnóstico microbiológico confirmado de VRS ó gripe (A ó B o las 2) u otro virus respiratorio como el Metapneumovirus o Adenovirus.
- Menores o igual de 2 años de edad.
- Firma del consentimiento informado del estudio.

### **4.3. Criterios de exclusión:**

- Ausencia de cuadro clínico con síntomas claramente respiratorios propios de infección respiratoria de vías altas y/o bronquiolitis aguda.

### **4.4. Reclutamiento y recogida de datos clínicos**

Entre los meses de noviembre de 2017 y febrero de 2018, y entre el mismo período de 2018 y 2019 respectivamente, en época epidémica de los virus VRS y gripe, se reclutaron en el estudio, previa firma de consentimiento informado, a los niños de edad menor o igual a 2 años con diagnóstico de bronquiolitis, ingresados en el servicio de Pediatría en la sección de Lactantes, Escolares, Infecciosos y Unidad de Cuidados Intensivos (UCI) Pediátrica del Hospital Infantil Universitario Miguel Servet. Posteriormente, para realizar el estudio de los casos revisamos las historias clínicas de los pacientes incluidos inicialmente.

No introducimos, modificamos, o suprimimos ningún dato en los sistemas de información, y la realización del proyecto no supuso contacto directo con los pacientes para obtener información adicional a la ya obtenida en el primer ingreso.

En todo momento trabajamos con datos anonimizados, y a partir de ellos

construimos una nueva base de datos para el estudio, desprovista de datos personales, en la que a cada paciente se le asignó un código numérico por asignación correlativa comenzando por el número 1, de manera que la correlación entre paciente y código de dicha base sólo fue conocida por los investigadores del estudio, sin posibilidad de que terceros pudieran identificar a los pacientes en dicha base de datos. Así mismo, en un fichero que se mantuvo en todo momento en uno de los ordenadores del Servicio de Pediatría, para asegurar la confidencialidad de los datos, se relacionaba los datos identificativos personales del paciente (nombre o iniciales, número de Historia Clínica, entre otros) con el número de caso o código del paciente para el estudio.

Así mismo, en un inicio se intentó reclutar a pacientes “controles”. Se diseñó incluir una muestra significativa en el estudio entre los meses de febrero a mayo de 2020. Dada la situación excepcional de pandemia de Covid-19 y la consecuente suspensión de intervenciones programadas, así como la intención de extremar las medidas de precaución ante posibles contagios, la inclusión de estos pacientes en el trabajo no ha sido posible completarla, así como tampoco la recogida de sus muestras mediante aspirado nasofaríngeo, dado que podía constituir una importante fuente de contagio. Por ello, aunque inicialmente diseñamos el estudio incluyendo como grupo de comparación al grupo de “controles”, al final esto no pudo ser posible. Por ello constituye una próxima línea de investigación futura, que con toda probabilidad aporte información concluyente acerca de la presencia de las *trampas extracelulares de neutrófilos* en población sana, con lo que se pueda estimar mejor los resultados de los niños afectos de bronquiolitis.

#### **4.5. Recogida de muestras biológicas**

Aprovechando que a estos niños ingresados hubo que practicarles un aspirado nasal para el diagnóstico microbiológico tras su llegada, se tomó una pequeña muestra adicional del mismo (en torno a 1 mL), para incorporarla a una colección con fines de nuestra investigación biomédica. Si además el paciente permanecía hospitalizado más de 3-4 días, solicitábamos su autorización para tomar nueva muestra de aspirado nasal. En el caso de que precisase extracción de sangre a su ingreso o durante su hospitalización, les solicitamos a los progenitores nos autorizaran a extraerle 1-2 ml adicionales para incorporarlos a la mencionada colección. Esta colección se ha conservado en el Servicio de Microbiología del Hospital Infantil Universitario Miguel Servet bajo la responsabilidad del Dr. Salvador Bello Dronda, registrada por el responsable de la colección en el Registro Nacional de Biobancos,



sección colecciones, que depende del Instituto de Salud Carlos III.

#### **4.6. Aspectos éticos y consentimiento informado**

Tanto para la obtención de las muestras biológicas como para recoger la información contenida en su historia clínica, incorporarla a la colección y utilizarla en nuestras investigaciones, los progenitores firmaron previamente un consentimiento informado, que se explicó en detalle previamente.

El estudio, realizado sobre población pediátrica y englobado dentro de la línea de investigación “Impacto de las Trampas Extracelulares de Neutrófilos (NETs) en el pronóstico de la infección por Virus Respiratorio Sincitial (VRS) y gripe”, diseñado inicialmente por el grupo de investigación de Neumología del Hospital Infantil Universitario Miguel Servet, (el cual trabaja entre otras líneas, en las infecciones respiratorias, su impacto en la salud, los marcadores pronósticos y las posibles nuevas formas de tratamiento de las mismas), fue aprobado en diciembre de 2017 por el Comité de Ética de Investigación Clínica de Aragón (CEICA) del Hospital Infantil Universitario “Miguel Servet”.

#### **4.7. Variables recogidas:**

- *Antecedentes familiares:* Antecedente de padre o madre afectos de asma bronquial, antecedente de tabaquismo en el embarazo.
- *Antecedentes personales:* Antecedente de prematuridad (y en su caso, indicación de tratamiento con Palivizumab), edad gestacional, tipo de parto, peso de recién nacido (PRN en gramos), longitud de recién nacido (LRN en cm). Se calculó el *Standard Deviation score* (SDS) para PRN y la LRN según las tablas de referencia de población española (34). Antecedente de pequeño para edad gestacional (PEG). El criterio para definir pequeño para edad gestacional fue el siguiente: LRN y/o PRN < -2 SDS; antecedente de displasia broncopulmonar y si continuaban con tratamiento en el momento del ingreso; antecedente de cardiopatía, fibrosis quística u otra enfermedad pulmonar crónica, inmunodeficiencia, enfermedad u afectación neurológica; antecedente de bronquiolitis previa; antecedente de acudir a guardería.
- *Variables antropométricas y clínicas al diagnóstico e ingreso:* Género, edad, peso (kg) y talla (cm) al ingreso, fecha de ingreso. Se calculó el SDS para el peso y la talla según las tablas de referencia españolas (35). También se

- recogió la presencia de síntomas respiratorios al ingreso (taquipnea, tiraje, rinitis, ruidos respiratorios, tos, dificultad respiratoria u otros); síntomas no respiratorios (rechazo de las tomas, irritabilidad, fiebre, letargia, vómitos, dolor abdominal u otros); presencia de apneas; grado de gravedad clínica según escala de Hospital San Joan de Déu (13) (Tabla 1.1); prescripción de antibioterapia previa al ingreso.
- *Variables clínicas durante el ingreso:* Duración del ingreso en días; saturación al ingreso; si precisó ingreso en UCI, oxigenoterapia de alto flujo, Ventilación Mecánica No Invasiva (VMNI) o Invasiva (VMI) y la duración de éstas; si fue éxito o no.
  - *Estudios complementarios:* Diagnóstico microbiológico de VRS y/o de gripe A o B, así como de otros virus respiratorios (Metapneumovirus, rotavirus, adenovirus y otros); si padecía una co-infección o no; método utilizado de diagnóstico microbiológico (reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en tiempo real, detección del antígeno en sangre u orina, cultivo en muestra biológica u otros); si se realizó radiografía de tórax o no y tipo de alteración objetivada (engrosamiento peribronquial, consolidación parenquimatosa, atelectasia, derrame pleural, aire ectópico u otras); si se realizó estudio analítico en sangre y hallazgos objetivados en su caso (recuento leucocitario y desglose de la fórmula en neutrófilos, linfocitos, monocitos y eosinófilos, niveles de proteína C reactiva (PCR), procalcitonina (PCT) y de iones).
  - *Sobre el tratamiento durante el ingreso:* Si necesitó oxigenoterapia (especificando litros máximos por minuto), fluidoterapia o nutrición enteral; si recibió aerosolterapia o tratamiento nebulizado; si recibió antibioterapia con azitromicina u otro tipo de antibiótico y/o antiviral, nutrición enteral o por vía oral o fluidoterapia intravenosa; y por último, si recibió tratamiento con esteroides sistémicos.
  - *Estudio bioquímico y microbiológico de primera muestra de aspirado nasofaríngeo (en primeras 24-48 horas del ingreso):* Se pretende estudiar la PCR del virus, los complejos DNA-histonas, las moléculas CH3, IL-37, IL-4, IL-5, IL-13, IFN- $\gamma$  y la microbiota. El mismo análisis se realizará en caso de recogerse una segunda muestra de aspirado nasofaríngeo si el niño permanece ingresado hasta tres o cuatro días y los padres dan el consentimiento.
  - *Estudio bioquímico y microbiológico de muestra de sangre (en primeras 24-48 horas del ingreso, y sólo en caso de ser necesaria para el diagnóstico y tratamiento del niño):* Las moléculas CH3, IL-37, IL-4, IL-5, IL-13 e IFN- $\gamma$ .

#### **4.8. Análisis estadístico:**

Para realizar el análisis de los datos se utilizó el paquete estadístico *IBM SPSS Statistics* versión 21.0 (SPSS Inc; Chicago, EEUU), con el que inicialmente se construyó una base de datos con todas las variables recogidas.

Posteriormente se realizó un análisis descriptivo de las variables descritas anteriormente mediante el cálculo de las frecuencias absolutas y los porcentajes (frecuencias relativas) en el caso de las variables categóricas; en el caso de las variables continuas cuantitativas, se estudió su distribución normal mediante el test de normalidad de Kolmogorov-Smirnov; en el caso de las variables cuantitativas con distribución normal, se calculó la media y desviación estándar (DE o *SD*); en el caso de no seguir una distribución normal, se expresaron los resultados descriptivos mediante mediana y el rango intercuartil.

Para los contrastes de hipótesis se utilizó los siguientes test estadísticos según procediera: t de Student,  $\chi^2$ , test exacto de Fischer y correlación de Pearson. Se consideró estadísticamente significativo un valor de  $p < 0,05$ .

#### **4.9. Análisis bioquímico y microbiológico**

El diseño de este trabajo incluyó inicialmente, además del estudio profundo de las variables clínicas de los niños que componen la muestra de estudio, el análisis tanto inmunológico como microbiológico de las muestras de aspirado nasofaríngeo recogidas.

El aspirado nasofaríngeo remanente recogido al diagnóstico viral inicial, así como 1 cc adicional de aspirado nasal recogido en aquellos casos que permanecieran ingresados al menos 3 días (siempre con el consentimiento de los padres), serían utilizados para nuestro estudio. Se procedió a la congelación de los remanentes del aspirado nasal a  $-80^{\circ}$  para proceder a su almacenamiento. El diseño del estudio incluyó la posterior determinación de los siguientes parámetros:

1. Identificación y cuantificación de compuestos de NETs, mediante técnica ELISA:
  - a. Nucleosomas (complejos histona-DNA)
  - b. Histona C3 citrulinada (H3cit)
  - c. Catelicilina LL-37 (Péptido Antimicrobiano del grupo de las catelicilinas)
2. Identificación de respuesta inmune adaptativa Th1/th2 y cuantificación de la misma por técnica ELISA mediante niveles de citosinas IL-5, IL-13 e IFN gamma.

## 5. RESULTADOS

### 5.1. Estadística descriptiva

#### 5.1.1. Descripción general de la muestra

De un total de 126 niños que ingresaron por bronquiolitis o infección respiratoria de vías altas, con diagnóstico confirmado de VRS ó gripe (A ó B), y que firmaron el consentimiento informado del estudio, 3 niños fueron excluidos finalmente porque no padecían un cuadro clínico con síntomas claramente respiratorios. De esta manera, la muestra final la formaban un total de 123 niños de edad menor o igual a 2 años.

En cuanto al género, un 52% eran varones y un 48% mujeres.

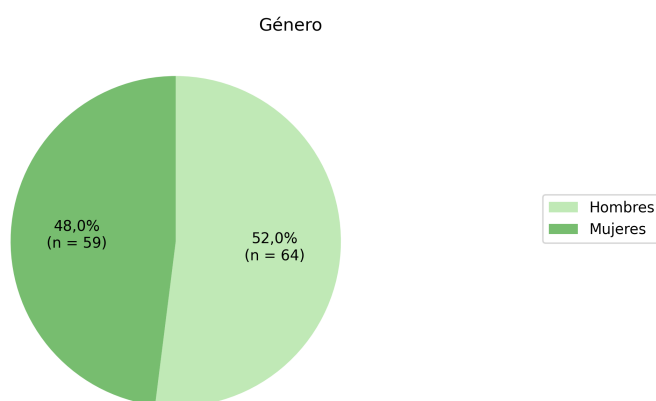


Figura 5.1. Género de los pacientes

#### 5.1.2. Antecedentes familiares

##### 5.1.2.1. Tabaquismo durante el embarazo:

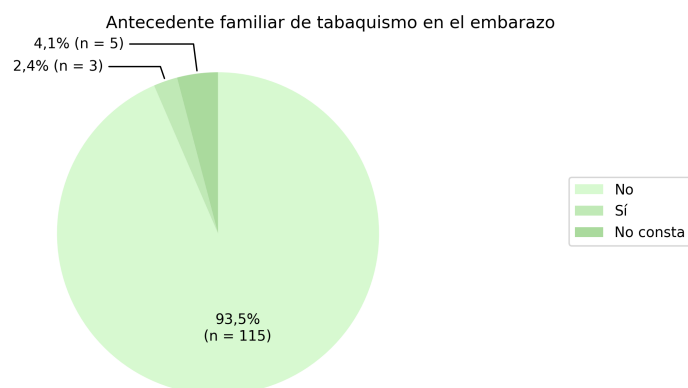


Figura 5.2. Antecedente de tabaquismo en el embarazo.

En el 93,5% de los casos, correspondiente a 115 pacientes del total de 123, no existía antecedente de tabaquismo durante el embarazo; en el 2,4% de los casos (3 pacientes) sí se había producido y en un 4,1% de los casos (5 pacientes) no constaba en la historia clínica.

#### 5.1.2.2. Antecedente de asma bronquial en padre y/o madre:

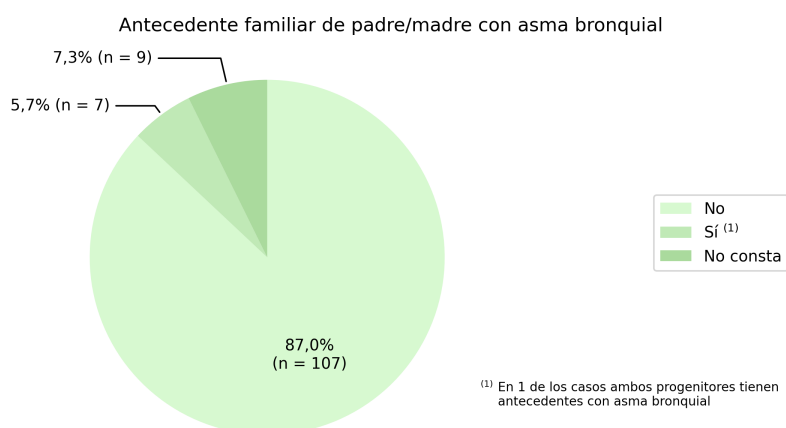


Figura 5.3. Antecedente de padre/madre con asma bronquial.

Del total de niños, existía el antecedente de asma bronquial en 7 de los niños. En unos de los casos, ambos progenitores padecían asma bronquial. En la mayoría, un 87% de los casos, este antecedente no tenía lugar.

#### 5.1.3. **Antecedentes personales**

##### 5.1.3.1. Edad gestacional

La mayoría de pacientes nacieron a término, con una mediana de 39 semanas de edad gestacional. El paciente con menor edad gestacional contaba con 25 semanas, y en el extremo opuesto, 17 pacientes nacieron con 41 semanas de gestación.

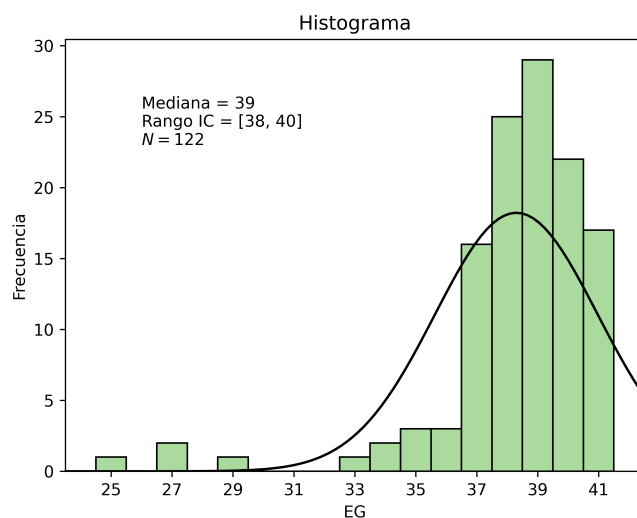


Figura 5.4. Edad gestacional.

### 5.1.3.2. Tipo de parto

En la mayoría de casos, 65,9%, el parto fue eutócico, seguido por un 25,2% de cesáreas, y el resto, un 7,3% de los casos, se trató de partos instrumentados. En un 1,6% de los pacientes, no constaba el tipo de parto.

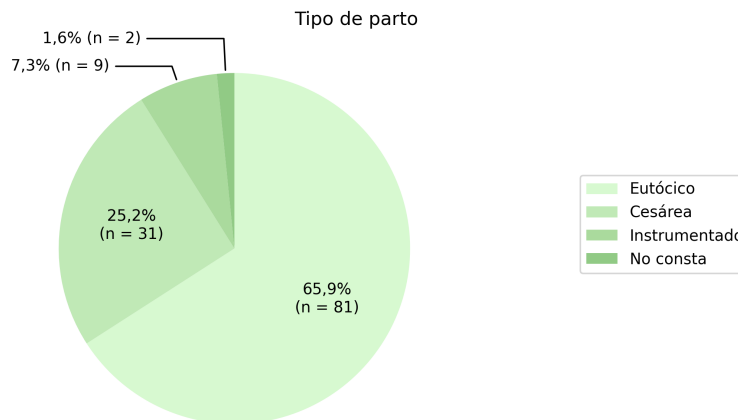


Figura 5.5. Tipo de parto.

### 5.1.3.3. Antecedente de prematuridad, displasia broncopulmonar y tratamiento con palivizumab.

Un 10,6% de los niños presentaban antecedente de prematuridad, mientras que la mayoría de ellos habían nacido a término (un 89,4% del total).

En el caso de los niños con prematuridad, en 2 de los casos (un 15,4%) constaba antecedente de displasia broncopulmonar. En 3 de los niños que nacieron

prematuros constaba el antecedente de haber recibido palivizumab como tratamiento preventivo de la infección por VRS.

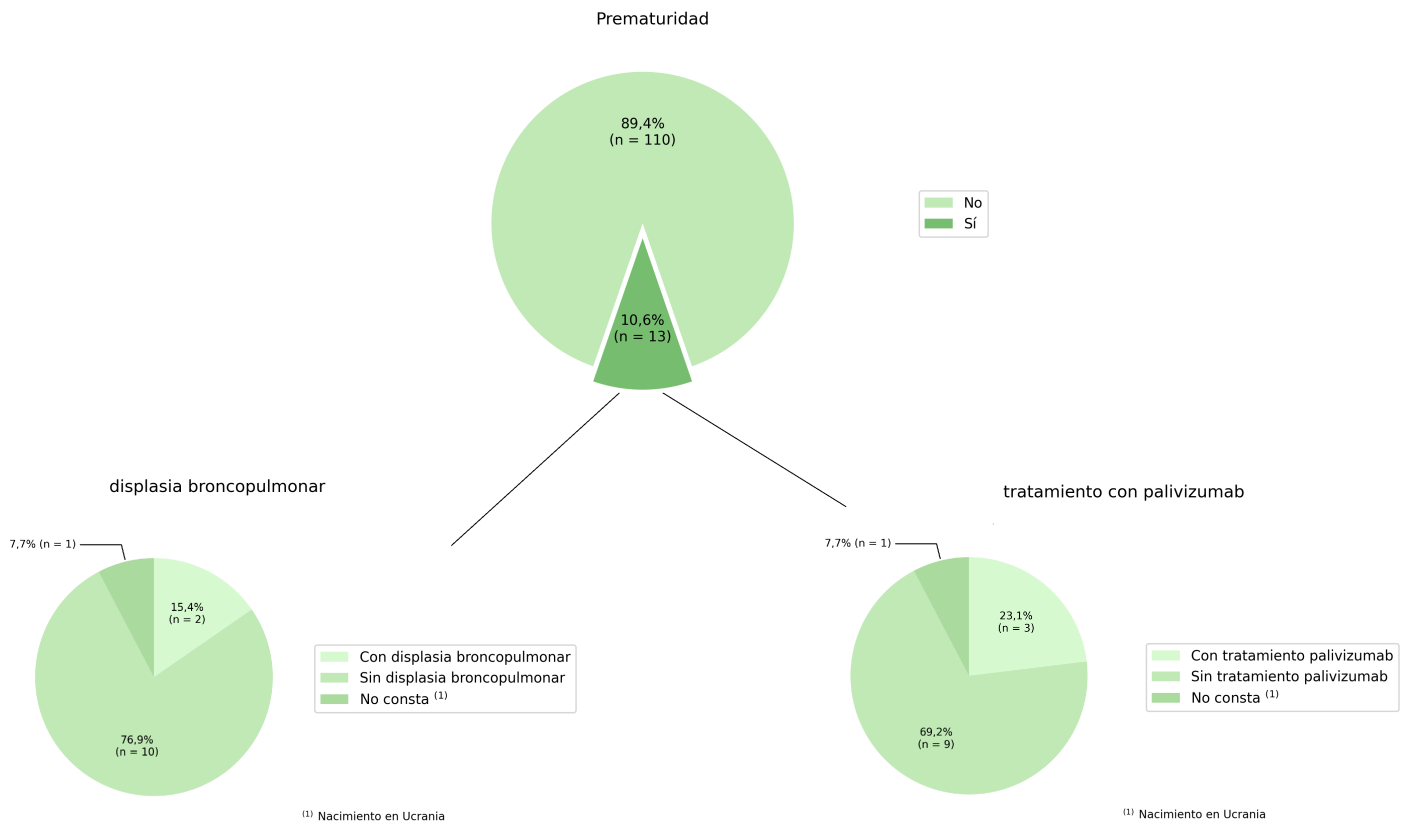


Figura 5.6. Antecedente de prematuridad, displasia broncopulmonar y tratamiento con palivizumab.

#### 5.1.3.4. Datos antropométricos al nacimiento

Variable	N	Media	Desviación típica	Mínimo	Máximo
Edad gestacional	122	38,30	2,671	25	41
Peso RN (g)	121	3.105,31	680,59	712	4.090
Peso RN (SDS)	120	0,0831	1,13	-4,36	2,57
Longitud RN (cm)	87	49,03	3,93	29	57
Longitud RN (SDS)	86	0,13	1,31	-4,60	4,30

Tabla 5.1. Datos antropométricos al nacimiento.

Los niños de este estudio pesaron al nacimiento, de media, 3.105,31 g, con un mínimo de 712 g, máximo de 4.090 g y una desviación típica de 680,59 g. La media del SDS del PRN fue de 0,0831.

Presentaron al nacimiento una longitud de recién nacido de 49,03 cm de media, con un mínimo de 29 cm, máximo de 57 cm y una desviación típica de 3,93 cm. La media del SDS de la LRN fue de 0,13.

#### 5.1.3.5. Antecedente de pequeño para edad gestacional

Presentaban antecedente de pequeño para la edad gestacional el 4,9% (un total de 6 pacientes). El 93,5% de los niños nacieron con peso adecuado para su edad gestacional.

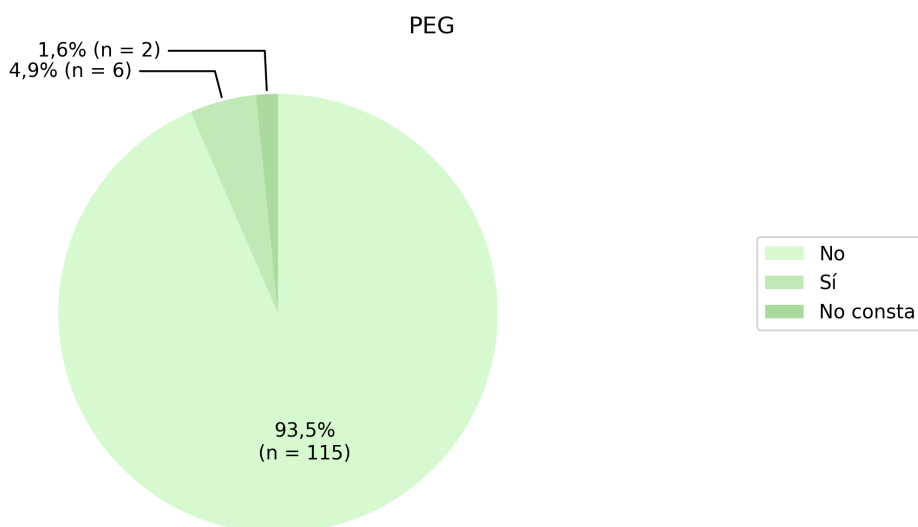


Figura 5.7. Antecedente de pequeño para la edad gestacional.



### 5.1.3.6. Antecedente de enfermedad crónica

La prevalencia de antecedente de enfermedad consta en la siguiente tabla:

Tipo de enfermedad	Frecuencia	Porcentaje (%)
Cardiopatía	8/123	6,4
Enfermedad pulmonar	8/123	6,4
Afectación neurológica	7/123	5,6
Inmunodeficiencia	0/123	0

Tabla 5.2. Prevalencia de antecedente de enfermedad (cardiopatía, enfermedad pulmonar, afectación neurológica y/o inmunodeficiencia).

Un 6,4% de los casos presentaban antecedente de cardiopatía, un 6,4% enfermedad pulmonar diferente de displasia broncopulmonar, un 5,6% algún tipo de afectación neurológica y ninguno de los pacientes padecía una inmunodeficiencia conocida.

En los siguientes gráficos se detallan estos antecedentes:

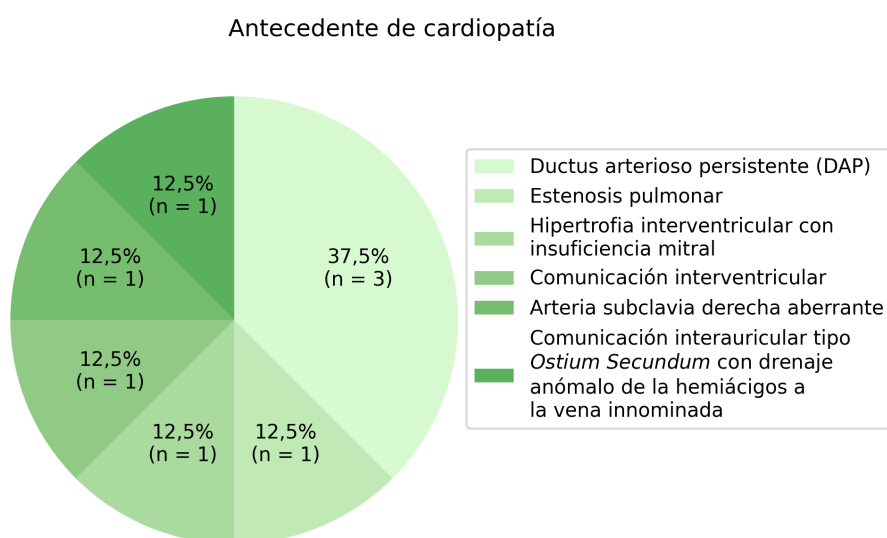


Figura 5.8. Antecedente de cardiopatía.

De los ocho niños con antecedente de cardiopatía:

- En tres casos se trataba de antecedente de *ductus* arterioso persistente (DAP), un niño tenía estenosis pulmonar; uno de los niños padecía hipertrofia interventricular con insuficiencia mitral, un niño una comunicación interventricular, otro niño presencia de arteria subclavia derecha aberrante y el último niño una comunicación interauricular tipo *Ostium Secundum* con drenaje anómalo de la hemiacigos a la vena innominada.

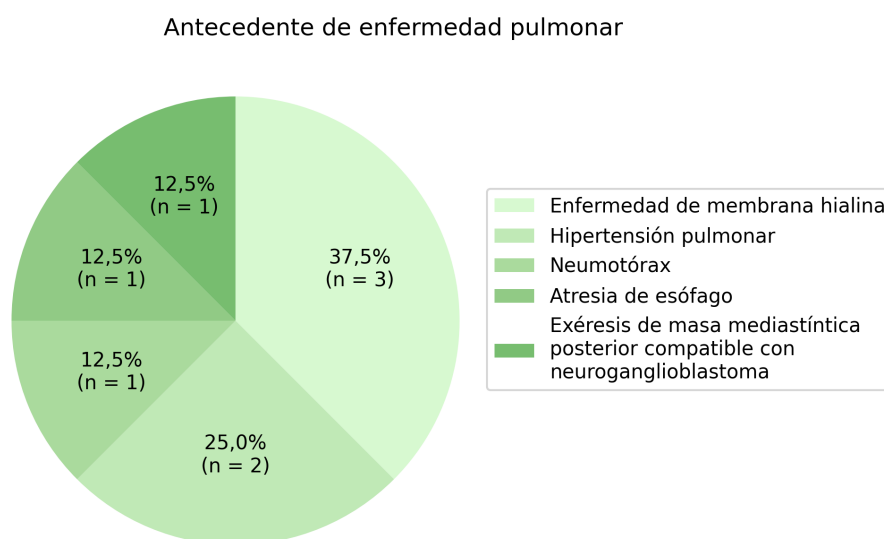


Figura 5.9. Antecedente de enfermedad pulmonar.

De los ocho niños con enfermedad pulmonar (no se incluye la displasia broncopulmonar en este apartado):

- Tres niños tenían antecedente de enfermedad de membrana hialina, dos niños antecedente de hipertensión pulmonar, un niño había tenido un neumotórax, otro de los pacientes atresia de esófago con fístula traqueoesofágica intervenida y el último niño había sido intervenido previamente de exéresis de masa mediastínica posterior compatible con neuroganglioblastoma.

#### Antecedente de afectación neurológica

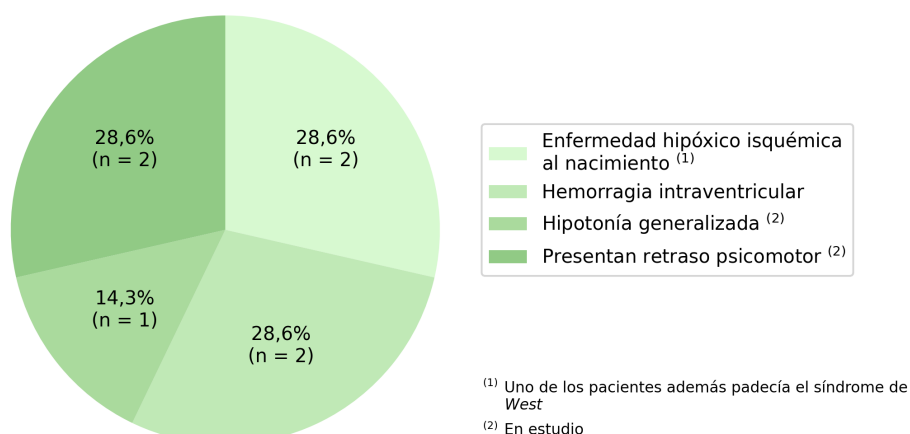


Figura 5.10. Antecedente de afectación neurológica.

De los siete niños con alguna afectación neurológica:

- Dos niños habían padecido enfermedad hipóxica isquémica al nacimiento (uno de ellos además tenía síndrome de West), dos niños tenían antecedente de hemorragia intraventricular, un niño se encontraba en estudio por hipotonía generalizada y dos niños presentaban retraso psicomotor, también a estudio.

#### 5.1.3.7. Antecedente de bronquiolitis previa

El 26% de los niños habían presentado un episodio de bronquiolitis previamente al episodio del ingreso, mientras que el 74% de los casos no lo presentaban.

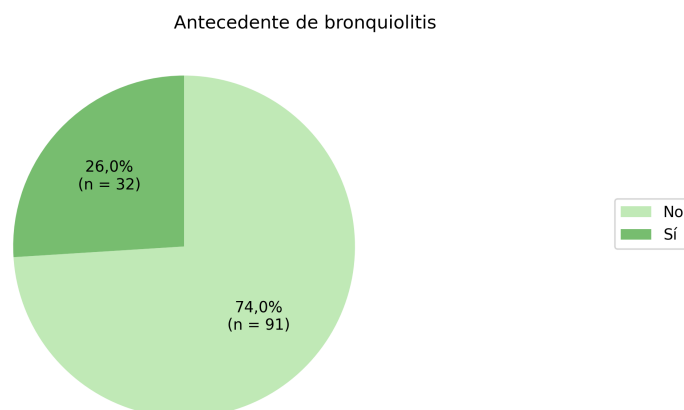


Figura 5.11. Antecedente de bronquiolitis previa

#### 5.1.3.8. Antecedente de acudir a guardería.

En cuanto a la guardería, el 8,1% de los niños acudían a la guardería previamente al ingreso; sin embargo, el 53,7% de los casos no lo hacía y en el 38,2% de las historias revisadas no constaba este dato.

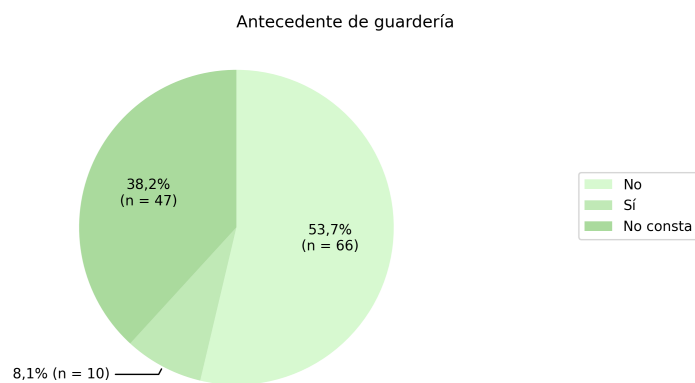


Figura 5.12. Antecedente de acudir a guardería.

#### 5.1.4. **Variables recogidas durante el ingreso**

La mediana de edad al ingreso (expresada en edad decimal), fue de 0,42 años, con rango intercuartil como figura en el siguiente histograma:

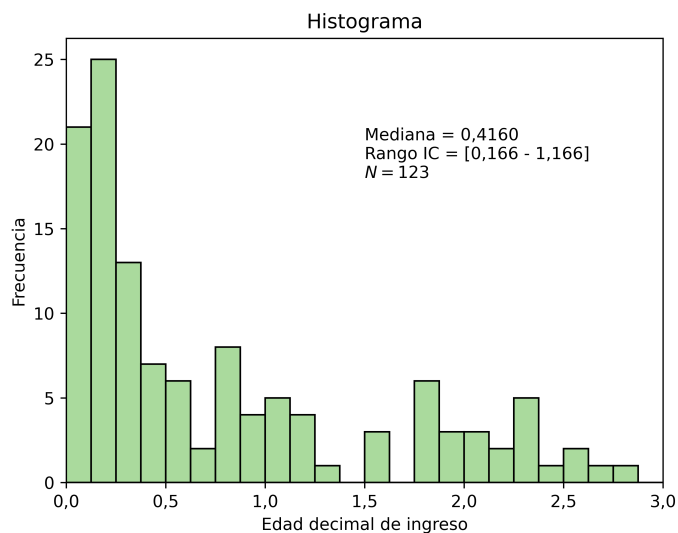


Figura 5.13. Edad decimal al ingreso

#### 5.1.4.1. Datos antropométricos al ingreso

Variable	N	Media	Desviación típica	Mínimo	Máximo
Talla (cm)	113	66,7	12,17	43,50	92,30
SDS Talla	113	-0,032	1,44	-6,16	2,80
Peso (kg)	122	7,43	2,94	2,28	15,21
SDS Peso	122	-0,51	1,53	-6,78	4,01

Tabla 5.3. Datos antropométricos al ingreso.

- Un peso medio de 7,43 kg, con un mínimo de 2,28 kg, máximo de 15,21 kg y una desviación típica de 2,94 kg. La media del SDS del peso fue de -0,51.
- Una talla media de 66,7 cm de media, con un mínimo de 43,50 cm, máximo de 92,30 cm y una desviación típica de 12,17 cm. La media del SDS de la talla fue de -0,032

#### 5.1.4.2. Sintomatología al ingreso (motivo de consulta)

La mediana de duración de los días de sintomatología en domicilio, antes de consultar a Urgencias, fue de 3,50 días, con un percentil 25 de 2,0 días y un percentil 75 de 5,0 días.

Un total de 121 pacientes (el 98,37%) presentaban síntomas respiratorios (taquipnea, tiraje, rinitis, tos y/o dificultad respiratoria) al ingreso.

La media de saturación basal al ingreso fue de 94,7%, con una desviación típica de 3,1, un mínimo de saturación de 88% y un máximo del 100%.

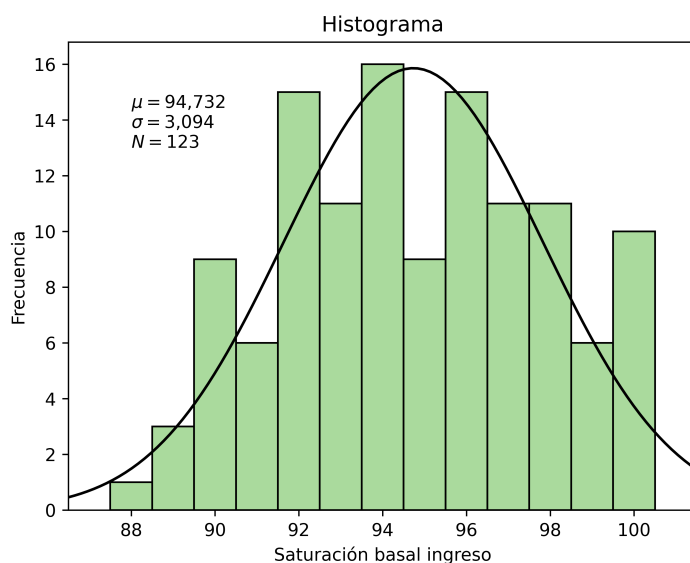


Figura 5.14. Nivel de saturación basal al ingreso.

En cuanto a la sintomatología no respiratoria, como se resume en la tabla 5.4, un porcentaje importante de los niños, un 64,23%, en total 79 niños, presentaba rechazo de las tomas al ingreso. Un 65% (80 niños), presentaron fiebre al ingreso. Un 30% de los pacientes presentaba clínica de vómitos y de forma menos frecuente también clínica de irritabilidad (3 pacientes, un 2,44%), letargia (7 pacientes, un 5,69%) y en un 21,14% de estos niños aparecían otros síntomas frecuentes en este tipo de infecciones víricas como deposiciones diarreicas, conjuntivitis, crisis convulsiva y/o disminución de diuresis.

Sintomatología no respiratoria	Frecuencia	Porcentaje (%)
Rechazo de las tomas	79/123	64,23
Fiebre	80/123	65
Irritabilidad:	3/123	2,44
Letargia:	7/123	5,69
Vómitos	37/123	30,08
Otros	26/123	21,14

Tabla 5.4. Sintomatología no respiratoria al ingreso.

5.1.4.3. Apneas. Un 86,2% de los niños no presentaron apneas mientras que un 13,8% sí habían presentado apneas al ingreso.

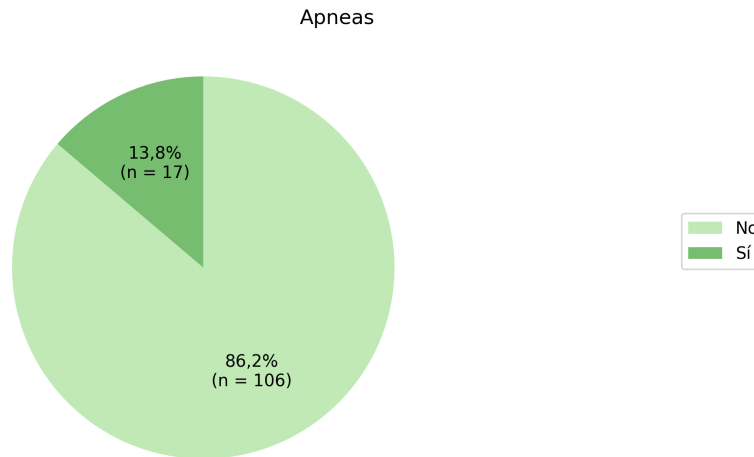
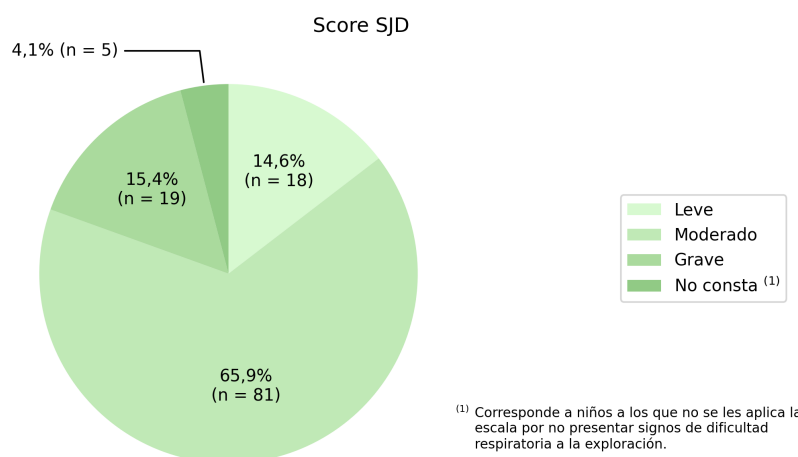


Figura 5.15. Frecuencia de apneas al ingreso.

5.1.4.4. Score de Gravedad al ingreso de SJD

Para objetivar la gravedad clínica de los pacientes, utilizamos el score del Hospital SJD (13), que establece tres niveles de gravedad, leve, moderado y grave. El 14,6% de los niños ingresados presentaban una bronquiolitis leve al ingreso; el 65,9% moderada y el 15,4% presentaban bronquiolitis grave. Hubo 5 niños a los que no se les aplicó el score puesto que presentaban síntomas todavía de infección de vías respiratorias altas, sin síntomas de dificultad respiratoria propias de la bronquiolitis.



(1) Corresponde a niños a los que no se les aplica la escala por no presentar signos de dificultad respiratoria a la exploración.

Figura 5.16. Grupos de gravedad según score de HSJD.

5.1.4.5. Duración del ingreso. La duración mediana de días de ingreso fue de 5 días, con un percentil 25 de 4 días y un percentil 75 de 6 días de ingreso.

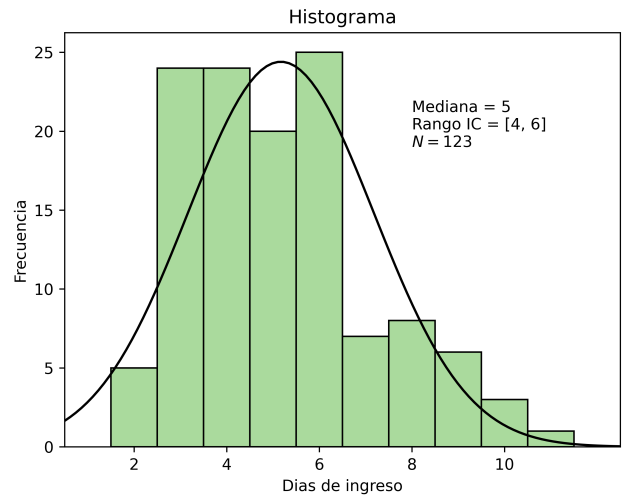


Figura 5.17. Duración del ingreso (días).

5.1.4.6. Tratamiento con antibioterapia previa al ingreso.

Cuando acudieron a Urgencias a consultar, el 11,4% de los niños ya habían recibido tratamiento con antibiótico prescrito para el episodio actual. La mitad de esos casos habían sido tratados con Amoxicilina, seguidos por Azitromicina en un 21,4% y Amoxicilina y Azitromicina en la misma proporción respectivamente.

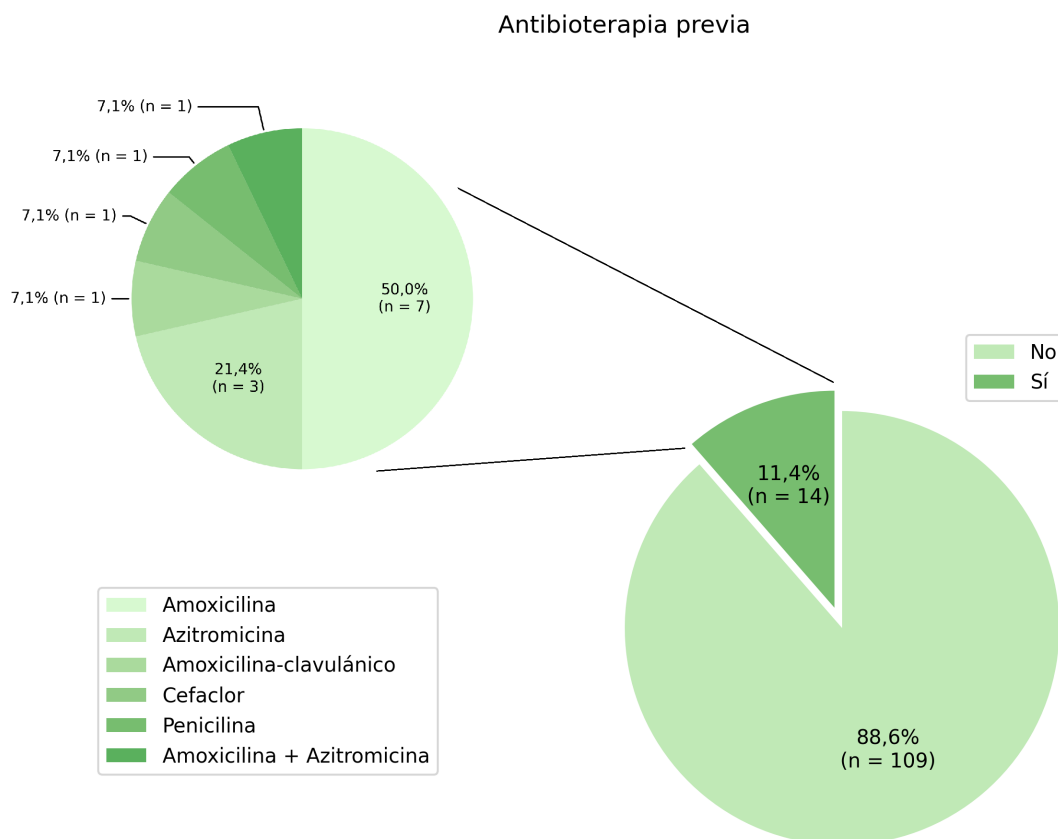


Figura 5.18. Antibioterapia recibida previa al ingreso.



#### 5.1.4.7. Ingreso en UCI

De los niños recogidos en esta muestra, 4 pacientes precisaron ingreso en UCI, lo que supone un 3,3% del total de niños.

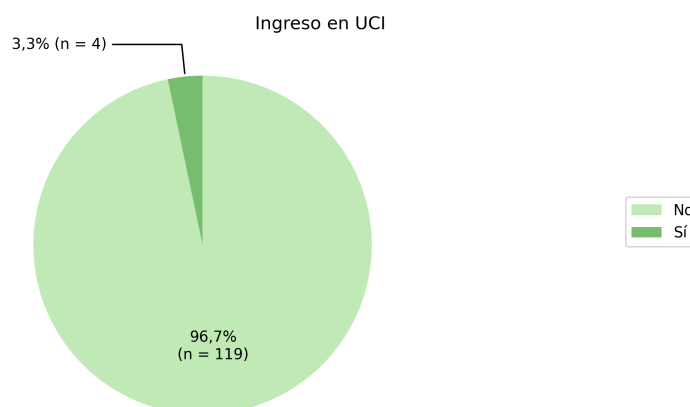


Figura 5.19. Pacientes que ingresaron en UCI

De los 4 pacientes de UCI:

- La mitad de los casos necesitaron ventilación mecánica (VM) no invasiva (NI)
- El 100% recibió terapia con oxigenoterapia de alto flujo
- Por el contrario, ningún paciente precisó VM invasiva (VMI).

La duración media de los días de ingreso en UCI fue de 3 días; la duración media de oxigenoterapia de alto flujo de 1,31 días y de VMNI de 3 días.

Ninguno de los pacientes fue *exitus*.

#### 5.1.4.8. Etiología vírica

Del total de 123 niños que formaban esta muestra, 117 del total (95,1%) fueron diagnosticados de infección por VRS. En 2 de los casos se trataba de coinfección como se detalla más adelante.

Seis niños del total de 123 (4,9%), estuvieron afectados por el virus de la Gripe A. En 3 de ellos se trató de una co-infección. Se diagnosticó de Gripe B a un total de 5 niños (4,1%), 4 de ellos en co-infección.

El esquema de las co-infecciones (en 6 niños del total, un 4,9%) tuvo lugar de la siguiente forma:

- 3 niños por gripe B y VRS
- 1 niño por gripe A y VRS
- 1 niño por gripe A y B
- 1 niño por gripe A y rotavirus

#### 5.1.4.9. Método diagnóstico microbiológico del VRS

La mayor parte de los casos (75,2%) fueron diagnosticados mediante técnica de inmunocromatografía (ICT) y el 20,5% mediante técnica de PCR a tiempo real. Un 2,6% de los pacientes se diagnosticaron mediante inmunofluorescencia.

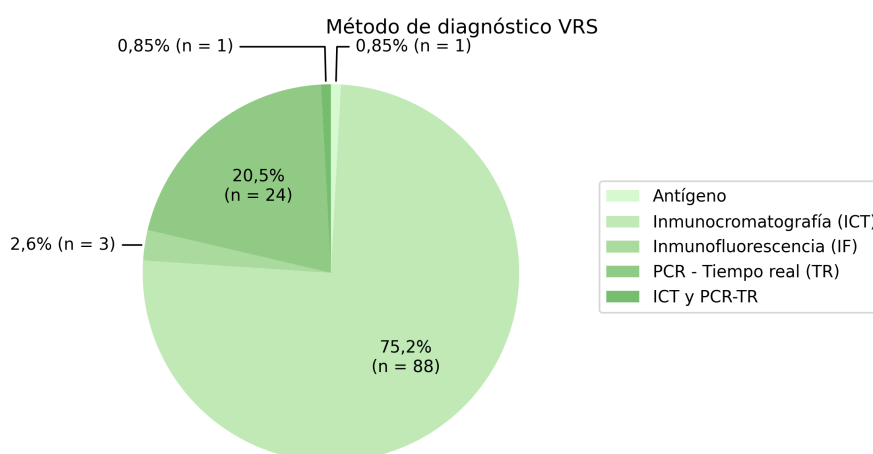


Figura 5.20. Método diagnóstico de la infección por VRS.

En el caso de los 6 niños diagnosticados de infecciones causadas por la Gripe A o B, así como en las coinfecciones, se realizó el diagnóstico mediante PCR a tiempo real.

Técnica diagnóstica	Frecuencia	Porcentaje (%)
PCR-Tiempo real (TR)	24	<b>20,5</b>
Antígeno	1	0,85
Inmunocromatografía (ICT)	88	<b>75,2</b>
Inmunofluorescencia (IF)	3	2,6
ICT y PCR-TR	1	0,85
Total	117	100

Tabla 5.5. Método diagnóstico de la infección por VRS.

#### 5.1.4.10. Radiografía de tórax

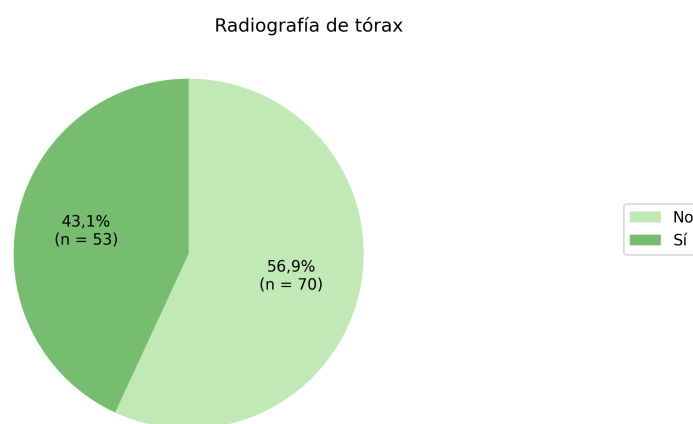


Figura 5.21. Frecuencia de realización de radiografía de tórax durante el ingreso.

En el 43,1% de los casos se realizó radiografía de tórax durante el ingreso. Los hallazgos radiológicos encontrados se detallan en la siguiente tabla:

Tipo de alteración	Porcentaje (%)
Sin alteraciones	7,5
Engrosamiento peribronquial	64,2
Consolidación parenquimatosa	58,5
Atelectasia	26,4
Engrosamiento peribronquial + consolidación parenquimatosa	35,8
Engrosamiento peribronquial + atelectasia	20,8
Derrame pleural	1,8
Aire ectópico	0

Tabla 5.6. Hallazgos radiológicos más frecuentes.

De todos los casos a los que se les realizó radiografía de tórax, sólo en un 7,5% no se encontró ninguna alteración.

Los hallazgos más frecuentes los constituyen el engrosamiento peribronquial (64,2%), seguido por la consolidación parenquimatosa (58,5%) y atelectasias (26,4%).

En un porcentaje no despreciable (un 35,8% de los casos), en la radiografía se informa de la existencia tanto de engrosamiento peribronquial y consolidación parenquimatosa, y en un 20,8% de los casos de la existencia tanto de engrosamiento peribronquial y atelectasia. Sólo en un 1,8% se objetivó signos de derrame pleural.

#### 5.1.4.11. Estudio analítico y hallazgos

En cuanto a la realización de analítica sanguínea para ampliar el estudio, se realizó en un 41,5% de los casos.

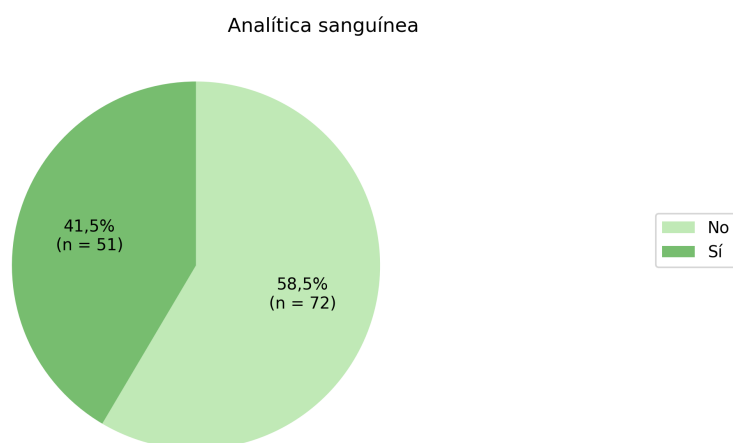


Figura 5.22. Realización de analítica sanguínea durante el ingreso.

Los hallazgos se detallan en la siguiente tabla:

Parámetro	Media	Desviación típica	Mínimo	Máximo
Leucocitos ( $\times 10^3/\mu\text{L}$ )	1.3273,04	5.294,37	5.300	28.000
Neutrófilos ( $\times 10^3/\mu\text{L}$ )	6.508,21	3.483,5	1.600	15.463,8
Linfocitos ( $\times 10^3/\mu\text{L}$ )	5.000,87	2.630,97	881,5	10.900
Monocitos ( $\times 10^3/\mu\text{L}$ )	1.711,32	797,44	300	4.000
Eosinófilos ( $\times 10^3/\mu\text{L}$ )	224,14	542,18	0	3.464,5
Proteína C reactiva (mg/dL)	3,12	4,03	0,06	16,49
Procalcitonina (ng/mL)	0,51	0,77	0,05	3,3
Sodio (mEq/L)	135,92	2,38	130	143

Tabla 5.7. Hallazgos analíticos.

#### 5.1.4.12. Tratamiento recibido

##### 5.1.4.14.1. Oxigenoterapia

El 80,5% de los niños precisaron oxigenoterapia durante su ingreso, mientras que en el 19,5% no fue necesario. La mediana de necesidad de flujo de oxígeno máximo fue de 1,0 litros por minuto, con un percentil 25 de 1 litros por minuto y un percentil 75 de 2 litros por minuto.

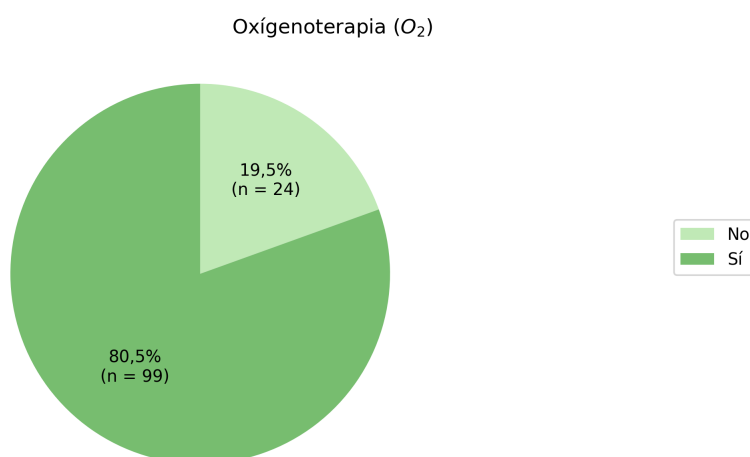


Figura 5.23. Frecuencia de pacientes que reciben oxigenoterapia durante el ingreso.

##### 5.1.4.14.2. Fluidoterapia

Todos los niños recibieron alimentación oral, aunque en un 40% se pautó fluidoterapia por escasa tolerancia debido a la dificultad respiratoria.

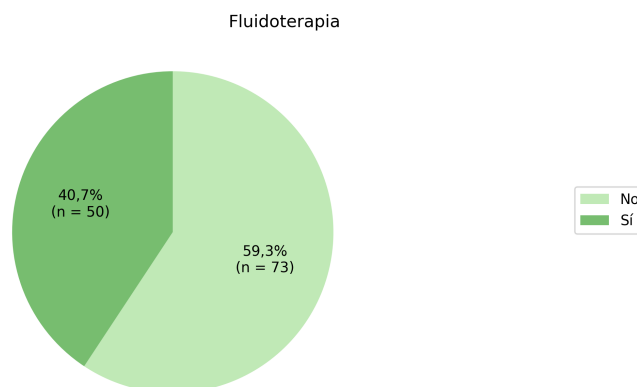


Figura 5.24. Frecuencia de pacientes que reciben fluidoterapia durante el ingreso.

##### 5.1.4.14.3. Tratamiento broncodilatador, adrenalina y corticoides

Como figura en la siguiente tabla (5.8), la mayoría de los niños recibieron tratamiento broncodilatador durante su ingreso (hasta un 78,9%). En un 46,3% de los casos se utilizó terapia con adrenalina nebulizada y en un 23,6% corticoides

sistémicos. Ningún paciente recibió tratamiento con Dornasa alfa.

Tratamiento	Frecuencia	Porcentaje (%)
Broncodilatadores en nebulización	90/123	73,2
Broncodilatadores en aerosolterapia	97/123	78,9
Adrenalina nebulizada	57/123	46,3
Esteroides sistémicos	29/123	23,6

Tabla 5.8. Prevalencia de prescripción de tratamiento broncodilatador, adrenalina nebulizada y corticoterapia durante el ingreso.

#### 5.1.4.14.4. Antibioterapia durante el ingreso

Del total de niños, 43 pacientes (35%) recibieron antibióticos y/o antivirales durante su ingreso. Uno de esos pacientes recibió tratamiento con Oseltamivir en monoterapia. Por el contrario, en 80 de los casos (65%) no se prescribió antibioterapia durante su ingreso.

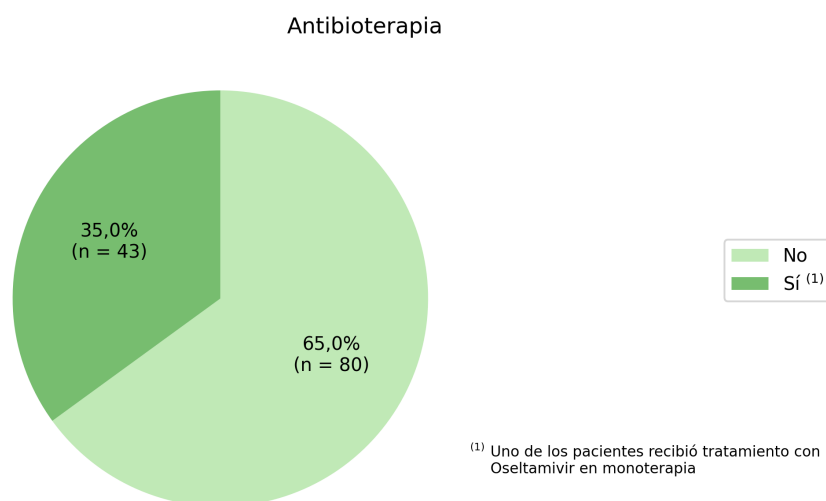


Figura 5.25. Antibioterapia recibida durante el ingreso.

El antibiótico intravenoso usado de forma más frecuente fue la ampicilina, en un 14,6% de los casos. En forma oral, el más usado fue amoxicilina, en un 15,4% de

los casos. El uso de todas las opciones utilizadas se detalla en la siguiente tabla:

Tratamiento antibiótico/antiviral	Frecuencia	Porcentaje (%)
Azitromicina	14/123	11,4
Amoxicilina	19/123	15,45
Amoxicilina-clavulánico	11/123	8,94
Cefuroxima	0/123	0
Ampicilina	18/123	14,63
Cefotaxima	3/123	2,44
Oseltamivir	3/123	2,44

*Tabla 5.9. Opciones de antibioterapia utilizadas durante el ingreso.*

#### 5.1.4.15. Análisis bioquímico y microbiológico de las muestras biológicas.

En cuanto al análisis bioquímico y molecular a partir de las muestras de moco seco, así como de muestras sanguíneas de los pacientes, éste no se ha podido llevar a cabo por las circunstancias que se enumeran en el apartado de metodología y limitaciones. Por ello, queda pendiente su realización para continuar su estudio en esta misma línea de investigación.

En cuanto a los resultados, esperaríamos encontrar diferencias en la cuantificación de estos compuestos según las diferencias clínicas de cada grupo de pacientes (en función de su gravedad, mayor o menor necesidad de oxigenoterapia o de días de ingreso).

## 5.2. Estadística analítica

### 5.2.1. Estudio comparativo de la prevalencia de apneas según distintas variables clínicas al ingreso.

Se comparó la prevalencia de apneas en función de las variables que se muestran en la tabla 5.10.

VARIABLE	Apneas SÍ n= 17	Apneas NO n= 106	Chi <sup>2</sup> /t*	p
Prematuridad	4= 30,8%	9= 69,2%	3,5	0,061
Cesárea	<b>9= 29,0%</b>	<b>22= 71,0%</b>	<b>7,75</b>	<b>0,005</b>
PRN<2SDS	0= 0%	5= 100%	0,86	0,35
Edad (meses)	0-6: 14= 20%	0-6: 56= 80%	7,76	0,051
	6-12: 3= 15,8%	6-12: 16= 84,2%		
	12-18: 0= 0%	12-18: 9= 100%		
	18-24: 0= 0%	18-24: 25= 100%		
Género	<b>Varón: 7=10,9%</b>	<b>Varón: 57= 89,1%</b>	0,93	0,33
	<b>Mujer: 10=16,9%</b>	<b>Mujer: 49= 83,1%</b>		
Peso ingreso (Kg)	<b>5,41 ±2,14</b>	<b>7,76 ±2,93</b>	<b>3,98*</b>	<b>&lt;0,001</b>
SDS peso	-0,68 ±2,29	-0,48 ±1,39	0,34*	0,74
Duración del ingreso (días)	<b>0-3: 3= 10,3%</b>	<b>0-3: 26= 89,7%</b>	1,39	0,49
	<b>4-7: 10= 13,2%</b>	<b>4-7: 66= 86,8%</b>		
	<b>&gt;7: 4 =22,2%</b>	<b>&gt;7: 14= 77,8%</b>		
Fiebre	<b>5= 6,3%</b>	<b>75= 93,8%</b>	<b>11,01</b>	<b>0,001</b>
Score HSJD	<b>Leve: 4= 22,2%</b>	<b>Leve: 14= 77,8%</b>	1,40	0,49
	<b>Mod: 10= 12,3%</b>	<b>Mod: 71= 87,7%</b>		
	<b>Grave: 2= 10,5%</b>	<b>Grave: 17= 89,5%</b>		
Sat.O <sub>2</sub> (%)	<b>95-100: 11=17,7%</b>	<b>95-100: 51=82,3%</b>	2,43	0,296
	<b>91-94: 3=7,1%</b>	<b>91-94: 39= 92,9%</b>		
	<b>&lt;91: 3 =15,8%</b>	<b>&lt;91: 16= 84,2%</b>		

Tabla 5.10. Análisis comparativo de la presencia de apneas en función de tener antecedente de prematuridad, cesárea, PRN <2SDS, de la edad al ingreso y el género, así como el peso al ingreso (y SDS), la duración del ingreso, la presencia de fiebre, la escala de gravedad y la saturación de oxígeno (Sat.O<sub>2</sub>).



Como se recoge en la tabla 5.10, tras realizar la prueba de contraste de hipótesis  $\chi^2$ , se encontraron diferencias significativas en el grupo de niños que habían nacido por cesárea y en el grupo de niños con fiebre. Para comparar las variables de peso y SDS del peso al ingreso, se aplicó el estadístico *t de Student*, que mostró diferencias significativas en cuanto al peso. Se estudió también la posible diferencia entre tener antecedente de tabaquismo gestacional y el antecedente de atopía familiar, sin encontrarse resultados significativos (estos 2 últimos datos no figuran en la tabla 5.10)

### 5.2.2. Estudio comparativo del grado de gravedad según el antecedente de prematuridad y otras variables de interés clínico.

Con el objetivo de estudiar cómo influye la gravedad clínica en el ingreso del lactante, se estudió si existía diferencias significativas teniendo antecedente de prematuridad, en cuanto a la edad al ingresar, la duración del ingreso y alteraciones en la radiografía.

VARIABLE	Leve n= 18	Moderado n= 81	Grave n= 19	Chi <sup>2</sup>	p
<b>Prematuridad</b>	4= 30,8%	5= 38,5%	4=30,8%	6,19	0,045
<b>Edad (meses)</b>	0-6: 17= 24,6%	<b>0-6: 50 = 72,5%</b>	2=2,9%	30,88	<0,001
	6-12: 0= 0,0%	<b>6-12:13 = 76,5%</b>	4=23,5%		
	12-18: 0= 0,0%	<b>12-18:5 = 55,6%</b>	4=44,4%		
	18-24: 1= 4,3%	<b>18-24: 13= 56,5%</b>	9=39,1%		
<b>Duración del ingreso (días)</b>	<b>0-3: 5= 17,2%</b>	<b>0-3: 17=58,6%</b>	<b>0-3: 7=24,1%</b>	5,23	0,264
	<b>4-7: 8= 11,3%</b>	<b>4-7: 53= 74,6%</b>	<b>4-7:10=14,1%</b>		
	<b>&gt;7: 5=27,8%</b>	<b>&gt;7: 11= 61,1%</b>	<b>&gt;7: 2=11,1%</b>		
<b>Radiografía alterada</b>	3= 6,7%	32= 71,1%	10=22,2%	5,27	0,072

Tabla 5.11. Estudio comparativo del grado de severidad en función de tener antecedente de prematuridad, la edad al ingreso y la duración de éste, así como el tener una radiografía alterada.

Como se muestra en la tabla 5.11, se encontraron diferencias significativas en cuanto al antecedente de prematuridad y la edad al ingreso. Por el contrario, no se encontraron ni en relación a la duración del ingreso ni a tener una radiografía de tórax

patológica.

Además, se demostró correlación significativa inversa entre la edad decimal al ingreso y la duración en días del mismo; es decir, a menor edad, los niños presentaron un ingreso más prolongado de forma significativa ( $r = -0,3$ ,  $p = 0,003$ )

### 5.2.3. Análisis comparativo del uso de corticoides durante el ingreso en función de distintas variables clínicas.

En primer lugar se comparó el uso de corticoterapia en función de la edad decimal al ingreso, la duración de clínica en domicilio, la duración del ingreso en días, la saturación de oxígeno (Sat.O<sub>2</sub>) y los hallazgos analíticos.

VARIABLE INDEPENDIENTE	VARIABLE DEPENDIENTE		t	IC (95%)	p
	CT SÍ n= 29	CT NO n= 94			
Edad al ingreso (años)	1,52 ±0,75	0,53 ±0,62	-6,47	( -1,30- -0,68)	<0,001
Duración del ingreso (días)	4,72 ±2,22	5,31 ±1,93	1,37	(-0,26-1,43)	0,17
Días síntomas antes de ingreso (días)	4,62 ±5,28	4,35 ±3,11	-0,34	(-1,84- 1,30)	0,73
Sat. Oxígeno (%)	92,21 ±2,38	95,51 ±2,87	5,62	( 2,14- 4,47)	<0,001
PCR (mg/dL)	1,32 ±1,57	3,75 ±4,44	2,86	(0,72- 4,14)	0,006
PCT (ng/mL)	0,41 ±0,37	0,55 ±0,87	0,51	(-0,39- 0,65)	0,612
Leucocitos (n/mL)	12.140,8 ±5.908,6	13.672,6 ±5.094,7	0,86	(-2.061,4- 5.125,04)	0,395
Neutrófilos (n/mL)	6.462,1 ±3.468,5	6.524,0 ±3.538,9	0,05	(-2.310,9- 2.434,8)	0,958
Linfocitos (n/mL)	4.125,8 ±3.091,7	5.319,1 ±2.416,7	1,36	(-578,5- 2.964,9)	0,181
Monocitos (n/mL)	1.461,8 ±799,7	1.797,1 ±790,9	1,21	(-224,5- 895,06)	0,233
Eosinófilos (n/mL)	160,9 ±247,0	247,3 ±618,4	0,45	(-304,06- 476,9)	0,657

Tabla 5.12. Análisis comparativo del uso de corticoterapia durante el ingreso en función de la edad al ingreso, su duración, los días de clínica en domicilio, la saturación de oxígeno y hallazgos analíticos.

Como se muestra en la tabla 5.12, tras realizar la prueba de contraste de hipótesis *t de Student*, existe diferencia significativa en cuanto a la edad al ingreso, la saturación de oxígeno y los niveles de PCR.

En segundo lugar se comparó el uso de corticoterapia en función de si se trataba del primer episodio de bronquiolitis, de la presencia o ausencia de fiebre, de radiografía alterada, de la gravedad clínica expresada según la escala del Hospital Sant Joan de Déu de Barcelona (13) y la necesidad de oxigenoterapia durante el ingreso.

VARIABLE	CT SÍ n= 29	CT NO n= 94	Chi <sup>2</sup>	p
1ª Bronquiolitis	8=9,4%	77= 90,6%	39,40	<0,001
Fiebre	25= 31,3%	55= 68,8%	7,48	0,006
Radiografía alterada	16= 34,0%	31= 66,0%	4,62	0,032
Score gravedad	Leve = 0=0%	Leve= 18=100%	33,66	<0,001
	Moderado=14=17,3%	Mod = 67=82,7%		
	Grave= 14=73,7%	Grave= 5=26,3%		
Oxigenoterapia	28= 28,3%	71= 71,7%	6,23	0,013

Tabla 5.13. Análisis comparativo del uso de corticoterapia durante el ingreso en función de carecer de antecedente de bronquiolitis, la presencia de fiebre, radiografía de tórax alterada, la gravedad clínica y necesidad de oxigenoterapia

Como se muestra en la tabla 5.13, tras realizar la prueba de contraste de hipótesis *Chi<sup>2</sup>*, se encuentra diferencia significativa en todos los grupos analizados. En todos ellos, a excepción del grupo con puntuación grave en la escala de gravedad, es mayor el porcentaje de niños que no reciben corticoterapia durante el ingreso que el grupo que sí que la reciben en el resto de variables analizadas.

#### 5.2.4. Análisis comparativo del uso de antibioterapia durante el ingreso en función de distintas variables clínicas.

En primer lugar se comparó el uso de antibioterapia en función de la edad decimal al ingreso, la duración de clínica en domicilio, la duración del ingreso en días, la saturación de oxígeno y los hallazgos analíticos.

En segundo lugar se comparó el uso de antibioterapia en función de si se había recibido o no antibioterapia antes del ingreso, de la presencia o ausencia de fiebre, de radiografía realizada y/o alterada o no, de la gravedad clínica expresada según la escala del Hospital Sant Joan de Déu de Barcelona (13), de la realización de analítica sanguínea, la necesidad de oxigenoterapia o corticoterapia durante el ingreso.

VARIABLE INDEPENDIENTE	VARIABLE DEPENDIENTE		t	IC (95%)	p
	ATB Sí n=42	ATB NO n=81*			
Edad al ingreso (años)	0,98 ±0,78	0,66 ±0,76	-2,19	(-0,61- -0,03)	0,030
Duración del ingreso (días)	5,93 ±2,19	4,78 ±1,80	-3,12	(-1,88- -0,42)	0,002
Días síntomas antes de ingreso (días)	4,74 ±5,08	4,25 ±2,78	-0,69	(-1,89- 0,91)	0,489
Sat. Oxígeno (%)	94,81 ±3,04	94,69 ±3,14	-0,2	(-1,29- 1,05)	0,842
PCR (mg/dL)	4,35 ±4,79	1,42 ±1,59	-3,07	(-4,87- -0,99)	0,04
PCT (ng/mL)	0,75 ±0,95	0,20 ± 0,15	-2,92	(-0,94- -0,16)	0,07
Leucocitos (n/mL)	14.099,3 ±6.201,1	12.098,9 ±3471,8	-1,39	(-4.895,4- 894,7)	0,171
Neutrófilos (n/mL)	7.545,6 ±3.633,2	5.107,8 ±2.778,7	-2,50	(-4.398,4 - -477,2)	0,016
Linfocitos (n/mL)	4.735,0 ±2.999,2	5.364,7 ±2.045,8	0,84	(-888,1- 2.147,4)	0,407
Monocitos (n/mL)	1.653,3 ±947,9	1.791,9 ±539,1	0,56	(-363,4 - 640,5)	0,580
Eosinófilos (n/mL)	243,8 ±703,1	196,4 ±151,6	-0,27	(-399,2 - 304,3)	0,786

Tabla 5.14. Análisis comparativo del uso de antibioterapia durante el ingreso en función de la edad al ingreso, su duración, los días de clínica en domicilio, la saturación de oxígeno y hallazgos analíticos.\*El paciente que recibió oseltamivir se trató en el grupo de no antibioterapia.

Como se muestra en la tabla 5.14, tras realizar la prueba *t de Student*, se encontró diferencia significativa en los grupos de la edad decimal al ingreso, duración del ingreso y los niveles elevados de PCR, PCT y neutrófilos.

VARIABLE	ATB SÍ n= 42	ATB NO n= 81	Chi <sup>2</sup>	p
ATB previos	8= 57,1%	6= 42,9%	3,72	0,054
Fiebre	<b>33= 41,3%</b>	<b>47= 58,8%</b>	<b>5,14</b>	<b>0,023</b>
Radiografía realizada	<b>32= 60,4%</b>	<b>21=39,6%</b>	<b>28,50</b>	<b>&lt;0,001</b>
Radiografía alterada	<b>31= 66,0%</b>	<b>16= 34,0%</b>	<b>34,23</b>	<b>&lt;0,001</b>
Score gravedad	Leve = 5 =27,8%	Leve= 13=72,2%	0,39	0,82
	Moderado= 28 =34,6%	Moderado= 53= 65,4%		
	Grave= 7 =36,8%	Grave= 12= 63,2%		
Analítica realizada	<b>29= 56,9%</b>	<b>22= 43,1%</b>	<b>19,99</b>	<b>&lt;0,001</b>
Oxigenoterapia	35= 35,4%	64= 64,6%	0,33	0,56
Corticoterapia	10=34,5%	19=65,5%	0,002	0,97

Tabla 5.15. Análisis comparativo del uso de antibioterapia durante el ingreso en función del uso de antibioterapia previa, la presencia de fiebre, la realización de radiografía de tórax y sus hallazgos, la gravedad, realización de analítica, necesidad de oxigenoterapia y de corticoterapia.\*El paciente que recibió oseltamivir se trató en el grupo de no antibioterapia.

Como se muestra en la tabla 5.15, tras la realización de la prueba *Chi*<sup>2</sup>, se encuentra diferencia significativa en el grupo de niños con fiebre, en el grupo de niños al que se le realizó radiografía y en los que tenían radiografía alterada, así como en el grupo en el que se realizó analítica sanguínea. En todos ellos, a excepción del grupo de niños con fiebre, es mayor el porcentaje de niños que reciben antibioterapia durante el ingreso. en el grupo de niños con fiebre este porcentaje es menor.

#### 5.2.5. Análisis comparativo de la necesidad de oxigenoterapia durante el ingreso en función de distintas variables clínicas.

Se comparó la necesidad de oxigenoterapia en función de la edad decimal al ingreso, la duración de clínica en domicilio, la duración del ingreso en días y la saturación de oxígeno. Como se muestra en la tabla 5.16, se encontraron diferencias significativas en cuanto a la duración del ingreso y la Sat. de oxígeno:

VARIABLE INDEPENDIENTE	VARIABLE DEPENDIENTE		t	IC (95%)	p
	O <sub>2</sub> SÍ n=99	O <sub>2</sub> NO n=24			
Edad al ingreso (años)	0,77 ±0,79	0,73 ±0,73	-0,24	(-0,39- 0,31)	0,81
Duración del ingreso (días)	5,37 ±2,06	4,33 ±1,55	-2,31	<b>(-1,93- -0,15)</b>	<b>0,022</b>
Días síntomas antes de ingreso	4,22 ±3,45	5,21 ±4,63	1,17	(-0,68- 2,66)	0,245
Sat. Oxígeno (%)	94,12 ±2,96	97,25 ±2,29	4,83	<b>(1,85- 4,41)</b>	<b>&lt;0,001</b>

Tabla 5.16. Análisis comparativo de la necesidad de oxigenoterapia en función de la edad al ingreso, su duración, los días de clínica en domicilio y la saturación de oxígeno.

Así mismo se realizó estudio comparativo entre la necesidad de oxígeno suplementario y el tener antecedente de prematuridad, de tabaquismo gestacional, la presencia de apneas y de fiebre. Como se muestra en la tabla 5.17, no se encontraron diferencias significativas entre estos grupos.

VARIABLE	O <sub>2</sub> SÍ n=99	O <sub>2</sub> NO n=24	Chi <sup>2</sup>	p
AP Prematuridad	13=100%	0=0%	3,52	0,060
Tabaquismo gestacional	3=100%	0=0%	2,07	0,35
Apneas	14=82,4%	3=17,6%	0,04	0,83
Fiebre	64=80%	16=20,0%	0,035	0,85
Radiografía alterada	42=89,4%	5=10,6%	3,81	0,051

Tabla 5.17. Análisis comparativo de la necesidad de oxigenoterapia durante el ingreso en función del AP de prematuridad, de tabaquismo gestacional, la presencia de apneas, fiebre y de radiografía alterada.

## 6. DISCUSIÓN

Uno de los objetivos fundamentales de este trabajo es estudiar las características epidemiológicas y clínicas de los lactantes ingresados con bronquiolitis en nuestro medio.

En esta muestra, la mayoría de los lactantes tenían menos de un año al ingreso, con un 50% menores de 6 meses. Existe un discreto predominio de varones (52% frente a un 48% de mujeres), lo que concuerda con otros estudios previos que establecen mayor riesgo de ingreso por bronquiolitis en lactantes varones (36,37). El hábito tabáquico durante la gestación, que se ha relacionado previamente con mayor riesgo de desarrollar bronquiolitis en el período de lactante, así como con una peor evolución clínica (36), muestra un porcentaje pequeño en esta muestra (2,4% de los casos).

Otro de los objetivos es estudiar el antecedente de prematuridad, establecido como factor de riesgo de desarrollar enfermedad grave o complicada (4,11). En nuestra muestra, la mayoría de pacientes nacieron a término; un 10,6% de los casos presentaron antecedente de prematuridad, prevalencia menor si la comparamos con otros trabajos previos (36). En el caso de los niños con prematuridad, 2 de los pacientes (15,4%) presentaban antecedente de displasia broncopulmonar y 3 de los niños que nacieron prematuros habían recibido palivizumab como tratamiento preventivo de la infección por VRS. Los datos de prevalencia de antecedente de enfermedad crónica muestran que un 6,4% de los pacientes habían padecido una cardiopatía, un 6,4% de los pacientes enfermedad pulmonar diferente de displasia broncopulmonar y el 5,6% afectación neurológica. Estos resultados, a pesar de tratarse de una muestra pequeña, nos sugieren que se está realizando un esfuerzo muy importante en niños con factores de riesgo como la prematuridad o enfermedades crónicas para evitar el desarrollo de la infección por VRS, lo que justificaría que la mayoría de los niños recogidos en el estudio son nacidos a término y no tienen antecedentes relevantes antes de su ingreso. Como se recoge en el trabajo de Hall et al., de 2009 (4), el impacto de esta entidad en niños previamente sanos impone que focalicemos nuestro esfuerzo también en ellos.

En nuestro estudio, no se encontraron diferencias significativas entre los niños con antecedente de prematuridad y aquellos sin este antecedente en cuanto a la duración del ingreso ni en la necesidad de oxigenoterapia. Tampoco se encontraron diferencias significativas respecto a las mismas variables en los niños con antecedente de PRN menor de 2SDS. Los lactantes con antecedente de prematuridad sí

presentaban de forma significativa un score clínico moderado al ingreso.

De los niños recogidos en el estudio, presentaron cuadro de vías respiratorias altas 6 niños (4,9%), mientras que los 117 restantes (el 95,1%) presentaron cuadro de bronquiolitis aguda. Un 27% de estos niños ya habían presentado antecedente de bronquiolitis previa, mientras que en el aproximadamente 70% de los casos (85 pacientes) se trataba del primer episodio. Dentro del grupo con primer episodio es menor el uso de corticoides de forma significativa (un 90,6% de los niños no se trataron con corticoide frente al 9,4% que sí lo hicieron).

La incidencia de apneas en niños afectos con bronquiolitis oscila entre el 1,2% y el 28,8% (38). En nuestro estudio, el porcentaje de apneas al ingreso es de un 13,8%. Por el contrario, la incidencias de apneas durante el ingreso no se recogió. En el análisis de contraste de hipótesis se encontraron diferencias significativas en cuanto al antecedente de cesárea, el peso al ingreso y la fiebre. El efecto de la fiebre sobre la aparición de apneas aparece en estudios previos como factor protector frente a éstas (39); en este trabajo el grupo con fiebre que no desarrolla apneas es mayor que los que sí lo hacen de forma significativa, lo que sugiere que podría tener un efecto protector. En el trabajo de Ramos-Fernández et al., de 2017, se muestra como el parto por cesárea como factor de riesgo de desarrollar apneas. En este trabajo, por el contrario, parece que existe diferencia significativa en el sentido contrario, puesto que un mayor porcentaje de niños nacidos por cesárea no tuvieron apneas de forma significativa. En el mismo trabajo (38), se establece que el peso menor del percentil 3 al ingreso constituye un factor de riesgo. En nuestra serie, tras aplicar la *t de Student* existe diferencia significativa en cuanto al peso, con una media de peso menor en el grupo de niños con apneas (5,41 Kg  $\pm$ 2,14) que al contrario (7,76 Kg  $\pm$ 2,93). Sin embargo, cuando nos referimos al SDS del peso no se demuestran diferencias significativas. En la serie estudiada, tampoco se encuentran diferencias significativas ni en relación a la prematuridad, el PRN, la edad al ingreso y la duración del ingreso, la gravedad clínica o la saturación de oxígeno.

En cuanto a la gravedad clínica al ingreso, en nuestro estudio no se encontraron diferencias significativas en cuanto a la duración del ingreso. En cambio, en todos los grupos de edad, es mayor el porcentaje de niños con score de gravedad moderado según la escala del Sant Joan de Déu. Además, se demostró de forma significativa una correlación inversa entra la edad y la duración del ingreso: Los lactantes con menor edad al ingreso presentaban una duración del mismo más prolongado.



En cuanto a los ingresos en UCI, sólo un 3,3% del total de niños precisaron ingreso en esta Unidad. Debido al pequeño tamaño muestral del estudio y a que sólo se incluyeron aquellos niños cuyos padres o tutores firmaron el consentimiento informado y no a todos los lactantes con bronquiolitis, pensamos que se trata de una muestra poco representativa en cuanto a los ingresos en UCI.

El uso de pruebas complementarias, a pesar de que las Guías sólo las indican en casos de evolución complicada, es muy elevado en la muestra de estudio. En el 43,1% de los casos se realizó radiografía de tórax. De éstas, hasta un 92,5% mostraron alteraciones, lo que supone una prevalencia más elevada que en otros trabajos publicados (36). La elevada realización de radiografías puede conllevar un mayor uso de antibioterapia, al identificarse imágenes de atelectasia o engrosamiento peribronquial como signos de sobreinfección bacteriana. En nuestro estudio, hasta un 34,2% de los niños recibió tratamiento antibiótico.

Según las Guías de Práctica Clínica (9,16) las analíticas sanguíneas no deben realizarse de rutina, salvo que existan signos de empeoramiento clínico que hagan sospechar sobreinfección bacteriana. A pesar de ello en nuestro estudio se realizó en un 41,5% de los casos. De la misma forma, a pesar de no recomendarse en las Guías de Práctica Clínica, el porcentaje de fluidoterapia por escasa tolerancia (40%), así como la utilización de tratamiento broncodilatador durante el ingreso (78,9%), continúan siendo muy elevados en nuestro medio.

En cuanto al uso de corticoides existe controversia. Por un lado las Guías de Práctica Clínica no los recomiendan (9,16) y la revisión Cochrane no encuentra beneficios significativos en el score clínico y/o la duración del ingreso de los niños ingresados (40). Sin embargo, algunos estudios sí encuentran datos favorables (41,42) con el uso de dexametasona. En nuestro estudio, los resultados del análisis comparativo en cuanto al uso de corticoterapia durante el ingreso (tablas 5.12 y 5.13), nos indican que a pesar de darse en un porcentaje elevado de niños (23,6%), esta tiene lugar de forma significativa en niños de más edad cuando ingresan (media 1,52 años  $\pm$ 0,75), con peor saturación basal (92,21  $\pm$ 2,38) y puntuación grave en el score de SJD.

En cambio, es mayor de forma significativa el porcentaje de niños que no reciben corticoterapia durante el ingreso que el grupo que sí que la reciben, tanto aquellos con primer episodio de bronquiolitis previa, con fiebre, radiografía de tórax alterada, y necesidad de oxigenoterapia, lo que sugiere que la tendencia es a no pautar corticoides en estos grupos clínicos.

En el estudio comparativo del uso de antibioterapia (tablas 5.14 y 5.15), se obtuvieron diferencias significativas en cuanto a la edad al ingreso, la duración del ingreso, la realización de pruebas complementarias (radiografía y analítica), así como tener una radiografía patológica o los hallazgos analíticos de elevación de PCR, PCT y neutrófilos. El porcentaje de niños que recibió antibióticos con fiebre era menor de forma significativa que el grupo sin fiebre.

Estos resultados nos llevan a pensar que el uso de antibioterapia es elevado (un 34,2%), y parece tener relación con la realización de pruebas complementarias (radiografía y analítica sanguínea). Si bien es menester ser cauto a la hora de solicitarlas en los casos de bronquiolitis para evitar un uso innecesario de medicación y un sobretratamiento no indicado en las Guías de Práctica Clínica, los resultados obtenidos orientan a que su uso se relaciona con los casos que muestran signos clínicos de complicación en la evolución (mayor duración del ingreso), así como signos radiológicos (alteración de la radiografía de tórax) o analíticos (elevación de PCR, PCT y neutrofilia). Por otro lado, en nuestra muestra, la fiebre no parece ser un indicador clínico que se utilice como guía a la hora de pautar antibióticos, puesto que el porcentaje de niños que recibió antibióticos y tenía fiebre es menor que el grupo de niños con fiebre y que no recibió antibióticos de forma significativa.

## 7. LIMITACIONES

La limitación fundamental de este trabajo ha sido no poder realizar el análisis bioquímico y microbiológico de las muestras biológicas que se recogieron bajo consentimiento informado. Debido a las circunstancias excepcionales de la pandemia de infección por COVID-19 que han tenido lugar este año, y la consecuente sobrecarga asistencial tanto de los Servicios de Bioquímica como de Microbiología, los análisis expuestos en el apartado de Metodología, que permitirían ahondar en la importancia pronóstica de las trampas extracelulares de neutrófilos y su papel y posible implicación fisiopatológica en las infecciones por VRS y gripe, no se han podido llevar a cabo.

Así mismo, en este estudio se pensó incluir una muestra significativa de pacientes “controles” entre los meses de febrero a mayo de 2020. Con el objetivo de extremar las medidas de precaución ante posibles contagios, la inclusión de estos pacientes en el trabajo no ha sido posible completarla.

Por todo ello, nuestro deseo es poder continuar con la investigación, porque pensamos que con toda probabilidad aportará información concluyente acerca de la presencia de las *trampas extracelulares de neutrófilos* en los niños afectos de bronquiolitis y cómo pueden influir en su evolución y pronóstico. Así mismo, constituye un objetivo de investigación relevante en la búsqueda de nuevas dianas terapéuticas de una entidad tan importante y con tanta repercusión en Pediatría.

## 8. CONCLUSIONES

- La mayoría de ingresos por infecciones respiratorias y bronquiolitis, causadas por los virus VRS y Gripe, ocurren en los primeros meses de vida.
- La prevalencia de lactantes con antecedente de prematuridad afectados de bronquiolitis por VRS es menor que la recogida en la literatura. Estos pacientes presentan con más frecuencia una gravedad clínica moderada de forma significativa. En cambio no presentan mayor duración del ingreso ni mayor necesidad de oxigenoterapia.
- A pesar de las recomendaciones de las Guías de Práctica Clínica, el uso en nuestro medio, tanto de pruebas complementarias como de tratamientos farmacológicos, continua siendo muy elevado.
- La edad al ingreso, la saturación de oxígeno y la puntuación grave en la escala de bronquiolitis se relacionan con un mayor uso de corticoides.
- La fiebre no se relaciona con un mayor uso de antibióticos de forma significativa.
- Las variables relacionadas con un mayor uso de antibióticos son tener mayor edad al ingreso, una duración del mismo más prolongada, la mayor realización de pruebas complementarias, así como tener alteraciones en la radiografía y en la analítica (elevación de PCR, PCT y neutrófilos).

## 9. BIBLIOGRAFÍA

1. Barr FE, Graham BS. Respiratory syncytial virus infection: Clinical features and diagnosis. Up to Date, 2019 [Consultado mayo-julio 2020].
2. Rima B, Collins P, Easton A, Fouchier R, Kurath G, Lamb R.A, et al. ICTV Virus Taxonomy Profile: Pneumoviridae. *The Journal of General Virology*. 2017;98(12),2912–2913.
3. Hall C.B, Walsh E.E, Schnabel K.C, Long C.E, McConnochie K.M, Hildreth S.W, et al. Occurrence of Groups A and B of Respiratory Syncytial Virus over 15 Years: Associated Epidemiologic and Clinical Characteristics in Hospitalized and Ambulatory Children. *The Journal of Infectious Diseases*.1990; 162(6):1283–1290.
4. Hall C.B, Weinberg G.A, Iwane M.K, Blumkin A.K, Edwards K.M, Staat M.A, et al. The Burden of Respiratory Syncytial Virus Infection in Young Children, *The New England Journal of Medicine*. 2009. 360:588-598.
5. 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
6. Pneumonia Etiology Research for Child Health (PERCH) Study Group. Causes of severe pneumonia requiring hospital admission in children without HIV infection from Africa and Asia: the PERCH multi-country case-control study. *Lancet*. 2019; 394:757.
7. 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.
8. Piedra PA, Stark AR. Bronchiolitis in infants and children: Clinical features and diagnosis. Up to Date, 2020 [Consultado mayo-julio 2020].
9. Ralston SL, Lieberthal AS, Meissner HC, Alverson BK, Baley JE, Gadomski AM, et al. American Academy of Pediatrics. Clinical practice guideline: the diagnosis, management, and prevention of bronchiolitis. *Pediatrics*. 2014;134:e1474-502.
10. García García ML, Korta Murua J, Callejón Callejón A. Bronquiolitis aguda viral. *Protoc diagn ter pediatr*. 2017;1:85-102
11. Wang EE, Law BJ, Stephens D. Pediatric Investigators Collaborative Network on Infections in Canada (PICNIC) prospective study of risk factors and

- outcomes in patients hospitalized with respiratory syncytial viral lower respiratory tract infection. *J Pediatr* 1995; 126:212.
12. Ramos-Fernández JM, Moreno-Pérez D, Gutiérrez-Bedmar M, Ramírez-Álvarez M, Martínez García Y, Artacho-González L, et al. Apneas en lactantes con bronquiolitis: incidencia y factores de riesgo para un modelo de predicción. *Anales de Pediatría*. 2018;88(3):160-166
  13. Balaguer M, Alejandre C, Vila D, Esteban E, Carrasco JL, Cambra FJ, et al. Bronchiolitis Score of Sant Joan de Deu: BROSJOD Score, Validation and Usefulness. *Pediatr Pulmonol*. 2016; 9999:1–7.
  14. Swingler GH, Hussey GD, Zwarenstein M. Randomised controlled trial of clinical outcome after chest radiograph in ambulatory acute lower-respiratory infection in children. *Lancet* 1998; 351:404.
  15. Montejo M, Benito I, Montiel A y Benito J. Una iniciativa para reducir el uso de medicación innecesaria en lactantes con bronquiolitis en atención primaria. *Anales de Pediatría*. 2019; 90 (1): 19-25.
  16. Bronchiolitis in children: diagnosis and management. NICE Guideline. 2015.
  17. Blecua MC, Crespo MP, Merino AG, Gandarillas IM, Grupo de Vías Respiratorias. Protocolo de Bronquiolitis Diagnóstico y tratamiento en Atención Primaria. Protocolo del GVR (publicación P-GVR-4) [Consultado mayo-julio 2020].
  18. Piedra PA, Stark AR. Bronchiolitis in infants and children: Treatment, outcome, and prevention. Up to Date, 2020 [Consultado mayo-julio 2020].
  19. Barr FE, Graham BS. Respiratory syncytial virus infection: Treatment. Up to Date, 2020 [Consultado mayo-julio 2020].
  20. McNamara PS, Ritson P, Selby A, Hart CA, Smyth RL. Bronchoalveolar lavage cellularity in infants with severe respiratory syncytial virus bronchiolitis. *Arch Dis Child* 2003; 88:922–6.
  21. Geerdink RJ, Pillay J, Meyaard L, Bont L. Neutrophils in respiratory syncytial virus infection: a target for asthma prevention. *J Allergy Clin Immunol* 2015; 136:838–47.
  22. Jaovisidha P, Peeples ME, Brees AA, Carpenter LR, Moy JN. Respiratory syncytial virus stimulates neutrophil degranulation and chemokine release. *J Immunol* 1999; 163: 2816–20.
  23. Lindemans CA, Co er PJ, Schellens IM, de Graa PM, Kimpen JL, Koenderman L. Respiratory syncytial virus inhibits granulocyte apoptosis through a phosphatidylinositol 3-kinase and NF-kappaB-dependent mechanism. *J Immunol* 2006; 176: 5529–37.

24. Craig A, Mai J, Cai S, Jeyaseelan S. Neutrophil recruitment to the lungs during bacterial pneumonia. *Infect Immun*. 2009;77:568-575.
25. Segal AW. How neutrophils kill microbes. *Annu Rev Immunol*. 2005;23:197-223
26. Mayadas TN, Cullere X, Lowell CA. The Multifaceted Functions of Neutrophils. *Annu Rev Pathol*. 2014;9:181-218
27. Jorch S.K. & Kubes, P. An emerging role for neutrophil extracellular traps in noninfectious disease. *Nature Medicine*. 2017; 23(3): 279–287
28. Soehnlein O. & Lindbom, L. Phagocyte partnership during the onset and resolution of inflammation. *Nat. Rev. Immunol*. 2010; 10: 427–439
29. Hurst SM, Wilkinson TS, McLoughlin RM, Jones S, Horiuchi S, Yamamoto N, et al. Il-6 and its soluble receptor orchestrate a temporal switch in the pattern of leukocyte recruitment seen during acute inflammation. *Immunity*. 2001;14: 705–714
30. Jenne CN, Wong CHY, Zemp FJ, McDonald B, Rahman MM, Forsyth PA, et al. Neutrophils recruited to sites of infection protect from virus challenge by releasing neutrophil extracellular traps. *Cell Host Microbe* 2013; 13: 169–180.
31. Funchal GA, Jaeger N, Czepielewski RS, Machado MS, Muraro SP, Stein RT, et al. Respiratory syncytial virus fusion protein promotes TLR-4–dependent neutrophil extracellular trap formation by human neutrophils. *PLoS One* 2015; 10:e0124082.
32. Karron RA, Buonagurio DA, Georgiu AF, Whitehead SS, Adamus JE, Clements-Mann ML, et al. Respiratory syncytial virus (RSV) SH and G proteins are not essential for viral replication in vitro: clinical evaluation and molecular characterization of a cold-passaged, attenuated RSV sub- group B mutant. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1997; 94:13961–6.,
33. Cortjens B, de Boer OJ, de Jong R, Antonis AFG, Piñeros YSS, Lutter R, et al. Neutrophils extracellular traps cause airway obstruction during respiratory syncytial virus disease. *J Pathol* 2015; 238:401–11.
34. Carrascosa A, Fernández JM, Ferrández A, López-Siguero JP, López D, Sánchez E, et al. “Estudio Transversal Español de Crecimiento 2010: I.- Valores de peso y longitud en 9.362 (4.884 varones, 4.478 niñas) recién nacidos de 26-42 semanas de edad gestacional”. *An Pediatr (Barc)* 2008; 68, pp. 544-551
35. Hernández M, Castellet J, Narvaíza J.L, Rincón M, Ruiz I, Sánchez E, et al. (1988): “Curvas y tablas de crecimiento”. Bilbao: Fundación Orbegozo y Ed. Garsi; ISBN 84-7391-177-6.

36. Piñero J.A, Alfayate S, Menasalvas A, Salvador C, Moreno A y Sánchez-Solís M. Características epidemiológicas, clínicas y terapéuticas de lactantes hospitalizados por bronquiolitis. *Anales de Pediatría*. 2012; 77 (6): 391-396.
37. Koehoorn M, Karr CJ, Demers PA, Lencar C, Tamburic L, Brauer M. Descriptive epidemiological features of bronchiolitis in a population-based cohort. *Pediatrics*. 2008;122:1196-1203.
38. Ramos-Fernández J.M, Moreno-Pérez D, Gutiérrez-Bedmar M, Ramírez-Álvarez M, Martínez García Y, Artacho-González L, et al. Apneas en lactantes con bronquiolitis: incidencia y factores de riesgo para un modelo de predicción. *An Pediatr (Barc)*. 2018;88(3):160-166.
39. Schiller O, Levy I, Pollak U, Kadmon G, Nahum E, Schonfeld T. Central apnoeas in infants with bronchiolitis admitted to the paediatric intensive care unit. *Acta Paediatr*. 2011;100:216-9.
40. Patel H, Platt R, Lozano JM, Wang EE. Glucocorticoids for acute viral bronchiolitis in infants and young children. *Cochrane Database Syst Rev*. 2004:CD004878.
41. Schuh S, Coates AL, Binnie R, Allin T, Goia C, Corey M, et al. Efficacy of oral dexamethasone in out patients with acute bronchiolitis. *J Pediatr*. 2002;140:27-32.36.
42. Plint A, Johnson D, Patel H, Wiebe N, Correll R, Brant R, et al. Epinephrine and dexamethasone in children with bronchiolitis. *N Engl J Med*. 2009;360:2079-89.