



Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica

www.elsevier.es/eimc



Original

Relevancia clínica de la codetección viral en lactantes con bronquiolitis por virus respiratorio sincitial



Albert Bernet Sánchez^{a,b,*}, Alba Bellés Bellés^{a,b}, Mercè García González^{a,b}, Laura Minguell Domingo^c y Eduard Solé Mir^{b,c}

^a Sección de Microbiología, Hospital Universitari Arnau de Vilanova, Lleida, España

^b Institut de Recerca Biomèdica de Lleida (IRBLleida), Lleida, España

^c Servicio de Pediatría, Hospital Universitari Arnau de Vilanova, Lleida, España

INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

Historia del artículo:

Recibido el 15 de marzo de 2023

Aceptado el 24 de abril de 2023

On-line el 10 de junio de 2023

Palabras clave:

Virus respiratorio sincitial

Codetección

Coinfección

Virus respiratorios

Bronquiolitis

R E S U M E N

Introducción: La bronquiolitis es una infección respiratoria grave en lactantes causada principalmente por el virus respiratorio sincitial (VRS). El objetivo de este estudio es evaluar si la codetección de VRS y otros virus respiratorios puede desencadenar un cuadro de mayor o menor gravedad que la presencia de VRS exclusivamente.

Métodos: Se realizó un estudio prospectivo en menores de 2 años que acudieron a urgencias del Hospital Universitario Arnau de Vilanova de Lleida con diagnóstico de bronquiolitis aguda desde 2016 a 2019. A todos ellos se les realizó PCR de VRS y gripe en muestra nasofaríngea (GeneXpert®) y a los pacientes con detección de VRS se les realizó PCR múltiple de virus respiratorios. Se recogieron datos clínicos de los pacientes (tiempo de hospitalización, índice de BROJSOD, ingreso en UCI, necesidad de soporte respiratorio, traslado a un centro de tercer nivel) y se realizaron análisis bivariantes para comparar el grupo de bronquiolitis con detección exclusiva de VRS con el de codetección con otros virus respiratorios.

Resultados: Durante el período de estudio se diagnosticaron 437 bronquiolitis por VRS. En 199 de ellas (199/437; 45,5%) se detectó concomitantemente otro virus respiratorio. El análisis bivalente de los datos no mostró diferencias estadísticamente significativas en ninguna de las variables estudiadas.

Conclusiones: La codetección viral en lactantes con bronquiolitis por VRS se da con elevada frecuencia, aunque no parece afectar a la gravedad del cuadro clínico.

© 2023 Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Todos los derechos reservados.

Clinical relevance of viral codetection in infants with respiratory syncytial virus bronchiolitis

A B S T R A C T

Keywords:

Respiratory syncytial virus

Codetection

Coinfection

Respiratory viruses

Bronchiolitis

Introduction: Respiratory syncytial virus (RSV) is the main cause of severe bronchiolitis, especially in infants. The aim of this study is to assess whether codetection of RSV and other respiratory viruses could affect the severity of this infection comparing with unique RSV detection.

Methods: A prospective study from 2016 to 2019 including children under 2 years who were admitted in the Emergency Service of the Hospital Universitari Arnau de Vilanova de Lleida (Spain) was performed. Nasopharyngeal samples from all patients were sent to the laboratory for RSV real-time PCR detection (GeneXpert®). A multiplex PCR that detects other respiratory viruses was done in all RSV-positive samples. Patients' medical records were checked to collect clinical data (hospital length of stay, BROJSOD score, ICU admission, need for ventilatory support or transfer to a reference hospital). Patients were divided in 2 groups: infants with unique RSV detection and infants with viral codetection. Bivariant analyses were performed to analyze the data obtained.

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: abernet.lleida.ics@gencat.cat (A. Bernet Sánchez).

Results: During the period of study 437 RSV bronchiolitis were diagnosed. In 199 of them (177/437; 45.5%) another respiratory virus was detected concomitantly. Bivariant analyses do not show statistically significant differences between both groups.

Conclusions: Viral codetection in infants with RSV bronchiolitis is frequent. However, it does not seem to affect the severity of this infection.

© 2023 Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. Published by Elsevier España, S.L.U. All rights reserved.

Introducción

La bronquiolitis aguda es una infección viral propia de los lactantes que afecta a las vías respiratorias inferiores y que cursa con obstrucción e inflamación de los bronquiolos terminales¹. Los signos y síntomas suelen empezar con rinitis y tos, que pueden evolucionar hasta taquipnea, sibilancias, estertores, uso de musculatura accesoria y/o aleteo nasal^{2,3}. La mayoría de los lactantes presentan una enfermedad leve, pero en el 2,5% de los casos puede ser necesario el ingreso hospitalario, sobre todo a causa de la obstrucción de la vía aérea y del distrés respiratorio⁴, produciéndose unos 7.000-14.000 ingresos hospitalarios-año en España⁵. El principal virus implicado es el virus respiratorio sincitial (VRS), aunque otros virus respiratorios también pueden producir este cuadro^{2,4,6}.

Las codetecciones virales en este tipo de infecciones son frecuentes, y su implicación en la gravedad del cuadro clínico es un hecho poco estudiado, más aún en las bronquiolitis por VRS. Se han propuesto varias hipótesis para explicar la asociación entre múltiples virus respiratorios y la gravedad de las infecciones respiratorias agudas, como la modificación de las respuestas inmunitarias después de la infección inicial, la susceptibilidad del huésped a múltiples agentes virales y las asociaciones de virus respiratorios específicos con bacterias colonizadoras del tracto respiratorio⁷. Además, cabe destacar que detectar un agente viral no implica necesariamente la participación en el proceso infeccioso actual⁸.

El objetivo del presente trabajo es evaluar si los casos con codección viral en las bronquiolitis por VRS que acuden al servicio de urgencias presentan un mejor o peor pronóstico clínico que aquellos con detección exclusiva de VRS.

Métodos

Pacientes incluidos en el estudio

Estudio prospectivo en el que se incluyeron todos los lactantes menores de 2 años que acudieron al servicio de urgencias del Hospital Universitario Arnau de Vilanova de Lleida con diagnóstico de bronquiolitis desde el 1 de noviembre de 2016 al 30 de abril de 2019, y con detección de VRS positiva en muestra nasofaríngea.

Se consideró como bronquiolitis aguda el primer episodio de dificultad respiratoria en un niño de menos de 24 meses de edad con sibilancias y/o crepitantes asociado con síntomas del tracto respiratorio superior durante el período epidémico⁹.

Detección de los virus respiratorios

Se tomó una muestra nasofaríngea a cada paciente con un esco-billón en un medio estándar de transporte de virus (Universal Virus Transport®, Becton Dickinson, Franklin Lakes, EE. UU.) de 1 o 3 ml. Las muestras fueron remitidas al Laboratorio de Microbiología para la realización de técnicas moleculares. La detección de virus de influenza A (Flu A), influenza B (Flu B) y VRS se realizó de forma urgente con una PCR múltiple en tiempo real (GeneXpert®, Xpert® Flu/RSV XC, Cepheid Inc., Sunnyvale, EE. UU.).

En todos los pacientes en los que se detectó VRS se amplió el estudio molecular de virus respiratorios. Para ello, se realizó una extracción con una elución de 60 µL partiendo de 200 µL de muestra (Virus Mini Kit v2.0, equipo EZ1® [Qiagen GmbH, Alemania] o DSP Virus/Pathogen Minikit, sistema QIAasymplicity® [Qiagen GmbH, Alemania], según instrucciones del fabricante.

Desde 2016 hasta el primer semestre de 2018 la detección del resto de los virus respiratorios se realizó con Allplex® Respiratory Panel (Seegene, Seúl, Corea del Sur) en el termociclador CFX96® (Bio-Rad Laboratories, Hercules, EE. UU.). Esta técnica detecta adenovirus (Adv), enterovirus (EV), virus parainfluenza (PiV) 1, 2, 3 y 4, metaneumovirus (MPV), bocavirus (BoV), rinovirus (HRV) y coronavirus (CoV) NL63, 229E y OC43. A partir del segundo semestre de 2018 y durante 2019 se realizó con el kit Light Mix® (TIB Molbiol, Berlín, Alemania) en el termociclador LightCycler® 480 II (Roche Diagnostics, Penzberg, Alemania), que incluye, además de los previamente citados, parechovirus (PeV) y CoV de forma genérica, diferenciando los subtipos HKU1 y MERS.

Recogida de datos

Se revisaron las historias clínicas de los pacientes diagnosticados de bronquiolitis aguda por VRS y se recogieron los siguientes datos clínicos y microbiológicos: resultados de la detección del resto de los virus respiratorios, edad, índice Bronchiolitis Score of Saint Joan de Déu (BROSJOD)¹⁰, duración de la hospitalización (tiempo de estancia del paciente en el centro hospitalario, incluyendo la sala de urgencias, observación y planta), necesidad de oxigenoterapia, días de tratamiento con oxígeno, máxima concentración de fracción inspiratoria de oxígeno (FiO₂) requerida, necesidad de soporte respiratorio o ventilación mecánica, admisión a unidad de cuidados intensivos (UCI) pediátricos, necesidad de alimentación por sonda nasogástrica (SNG), necesidad de traslado a un centro de tercer nivel y administración de palivizumab previa al ingreso. Este estudio fue aprobado por el comité ético del Hospital Universitari Arnau de Vilanova.

Análisis estadístico

El análisis descriptivo incluyó la mediana y el intervalo intercuartílico para las variables cuantitativas, y las frecuencias absolutas y relativas para las cualitativas.

Se realizaron análisis bivariantes para comparar los 2 grupos de pacientes en función de la detección viral en las muestras nasofaríngeas (VRS únicamente o codección viral) y 2 grupos de edad de los lactantes (menores y mayores de 3 meses). Para ello se utilizó la prueba de chi-cuadrado para variables categóricas y la U de Mann-Whitney para variables cuantitativas. Se estimó un modelo de regresión logística para estimar la asociación de la presencia de infecciones mixtas en relación con la edad, permitiendo relaciones no lineales. Para el análisis estadístico se utilizó el software R214, aplicando un nivel de significación de 0,05.

Resultados

Detección de virus respiratorios en lactantes con bronquiolitis por VRS

Durante el período de estudio se diagnosticaron 437 episodios de bronquiolitis por VRS en 435 lactantes. En 199 de las 437 muestras (45,5%) se detectó otro agente viral además del VRS.

Los principales virus codetectados fueron HRV (83/199; 19%), BoV (75/199; 17,2%), Adv (41/199; 38%), CoV (23/199; 5,26%), PiV (10/199; 2,29%), EV (6/199; 1,37%), Flu A (5/199; 1,14%) (4 del subtipo H3 y uno del subtipo H1), Flu B (3/199; 0,69%) y MPV (4/199; 0,92%). La detección de PeV se realizó únicamente en el último año y se detectó en un solo episodio (1/199; 0,23%). Se detectaron 2 virus aparte del VRS en 47 episodios (10,75%) y 3 virus en 5 episodios (1,14%). El virus más frecuentemente detectado en estas detecciones múltiples fue el Adv (20/41), seguido del CoV (11/23) y del BoV (35/75).

Datos clínicos y epidemiológicos

El 52,9% de las bronquiolitis por VRS (231/437) se dieron en pacientes menores de 3 meses de edad. La duración media de la estancia en el hospital (tanto en la sala de urgencias como observación o planta) fue de 5 días y requirieron suplementación con oxígeno el 62,9% (275/437), con una duración media del aporte de un día. La FiO₂ máxima requerida fue de 27% de media.

Requirieron SNG el 20,9% de los episodios (91/437), soporte respiratorio el 21,6% (94/437), ingreso en UCI neonatal el 29,5% (129/437) y traslado a un centro de tercer nivel el 5% (22/437).

En cuanto a la gravedad de las bronquiolitis, 72 episodios (16,5%) presentaron un BROSJOD leve, 320 (73,2%) moderado y 45 (10,3%) grave. No hubo ningún caso de exitus ni historial de haber recibido profilaxis con palivizumab.

La [tabla 1](#) muestra las características de los episodios de bronquiolitis con detección única de VRS y de los de codetección con otros virus respiratorios. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en ninguna de las variables estudiadas entre estos 2 grupos ($p > 0,05$).

Al comparar las características de los lactantes menores y mayores de 3 meses, se encontraron diferencias estadísticamente significativas ([tabla 2](#)). Los lactantes con edad inferior a 3 meses tuvieron una estancia más prolongada en el hospital (6 vs. 4 días, $p < 0,001$), más duración en la administración de oxígeno (2 vs. un día, $p = 0,001$), un mayor requerimiento de FiO₂ máxima (35 vs. 30%, $p < 0,001$), mayor necesidad de SNG (33,0 vs. 7,3%, $p \leq 0,001$), mayor necesidad de soporte respiratorio (35,9 vs. 5,4%, $p < 0,001$) y mayor ingreso en UCI pediátrica (49,8 vs. 6,8%, $p < 0,001$).

En cuanto a la detección de otros virus, los lactantes menores de 3 meses globalmente presentaron menos codetecciones (39,4 vs. 52,4%, $p = 0,008$). En función del agente viral, presentaron menos codetecciones por Adv (5,19 vs. 14,1%, $p = 0,003$) y por BoV (11,3 vs. 23,8%, $p = 0,001$) que el grupo de lactantes mayores. En este grupo se detectó la presencia de más de 2 virus en el 18,68% de los episodios (17/91) en comparación con el grupo de mayores de 3 meses, donde fue del 27,78% (30/108).

Discusión

La prevalencia de codetección viral en lactantes con bronquiolitis por VRS en este trabajo ha sido cercana al 50%. Este dato es mucho mayor que los descritos en otros estudios similares, que reportan valores entre el 11,33 y el 24,4%^{11–14}, llegando hasta el 29,8% en bronquiolitis graves por VRS¹⁵. Un estudio realizado en nuestro país detectó un 35,8% de codetección viral en lactantes

menores de 18 meses con bronquiolitis por VRS¹⁶, valor más cercano, aunque menor, al detectado en nuestro trabajo. Las grandes diferencias entre los resultados de estos trabajos podrían explicarse por la utilización de diferentes técnicas de PCR, diferentes poblaciones estudiadas y distintas zonas geográficas.

Los resultados obtenidos en nuestro estudio no muestran diferencias significativas entre el grupo de pacientes con bronquiolitis con monodetección de VRS y los pacientes con codetección de VRS y otro virus respiratorio en cuanto a los factores de gravedad evaluados, en concordancia con los obtenidos en trabajos similares^{11,17–19}. Un estudio realizado por Nascimient et al. en lactantes menores de 2 años que acudieron a urgencias con bronquiolitis concluyó que la presencia única de VRS se asociaba con un mayor riesgo de ingreso hospitalario, pero las codetecciones no se asociaban con una mayor gravedad clínica o ingreso en UCI²⁰.

En esta línea, una revisión sistemática y metaanálisis realizada en 2016 sobre codetecciones virales en niños menores de 5 años hospitalizados con infección vírica respiratoria²¹ no mostró diferencias en la admisión en UCI, el uso de oxígeno, la ventilación mecánica ni las anomalías radiológicas entre el grupo de niños con monodetección y el de codetección. En ese mismo año, otro metaanálisis concluyó que la coinfección viral no aumentaba el riesgo de ninguno de los factores evaluados en pacientes menores de 18 años con infección respiratoria aguda²². Una revisión sistemática publicada en 2013 tampoco relacionó un aumento de la gravedad en los casos de codetección viral en niños menores de 6 años²³.

No obstante, Midulla et al. reportaron que los lactantes con codetección VRS y BoV tenían mayor gravedad y más días de estancia hospitalaria que los que presentaban monodetección por VRS, HRV o BoV²⁴. Resch et al. analizaron 745 infecciones graves por VRS (bronquiolitis en el 70%) sobre una población mayoritaria de lactantes, concluyendo que los pacientes con codetección viral habían necesitado tasas más elevadas de oxígeno suplementario y soporte respiratorio²⁵. Otros autores analizan bronquiolitis por cualquier agente viral, concluyendo que los pacientes con codetección viral presentaban 2,7 veces más riesgo de ingreso en UCI que aquellos con detección exclusiva de un único agente viral¹³.

Por otro lado, hay estudios que relacionan una mayor gravedad en las bronquiolitis por VRS exclusivamente comparadas con las bronquiolitis en las que además se detectan otros virus respiratorios. Marguet et al. observaron una mayor duración de la estancia hospitalaria en aquellos con monodetección de VRS frente a los que presentaban codetección VRS/HRV¹². Otro trabajo, realizado en Italia, concluyó que la monodetección de VRS comportaba más tiempo de hospitalización y más hipoxia que la codetección MPV/VRS en lactantes hospitalizados por enfermedad respiratoria aguda²⁶.

En cuanto al tiempo medio de hospitalización, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los lactantes en los que se detectó únicamente VRS y los que presentaron codetección viral en nuestro estudio. En cambio, se observa una menor duración de la estancia hospitalaria de los lactantes ingresados por bronquiolitis por VRS que en otros estudios publicados en España (5 vs. 5,9 días)²⁷, y muy por debajo de otro estudio realizado en Austria en infecciones graves por VRS (6,7 días de media)²⁵. Sin embargo, otros trabajos reflejan tiempos medios de hospitalización mucho menores (2–3 días en un estudio multicéntrico realizado en EE. UU.¹⁵). El tiempo medio de hospitalización es un parámetro subjetivo que depende del facultativo y el servicio en el que esté ingresado el paciente, así como del centro hospitalario y del criterio para considerar a un paciente como hospitalizado. En nuestro trabajo se ha considerado como estancia hospitalaria todo el tiempo que el paciente ha permanecido en el centro hospitalario, independientemente de si ha permanecido en urgencias, observación o planta. Por tanto, no es un parámetro consistente para comparar nuestros datos con otros centros o estudios realizados.

Tabla 1

Características de los episodios de bronquiolitis por VRS

	Número de episodios (%) (n = 437)	Número de episodios con VRS (%)	Número de episodios con codetección (VRS + otros) (%)	p
Duración de la hospitalización (días)	5	5	5	0,525
Necesidad de oxígeno	275 (62,9)	142 (59,7)	133 (66,8)	0,148
Duración oxígeno (días)	1	1	2	0,449
FiO ₂ máxima suministrada (%)	32	32	34	0,562
Pacientes con necesidad de SNG	91 (20,9)	55 (23,2)	36 (18,1)	0,234
Traslados a hospital tercer nivel	22 (5,03)	10 (4,20)	12 (6,03)	0,515
Índice de BROSJOD: leve (1-5)	72 (16,5)	36 (15,1)	36 (18,1)	0,679
Índice de BROSJOD: moderado (6-10)	320 (73,2)	178 (74,8)	142 (71,4)	0,679
Índice de BROSJOD: grave (11-16)	45 (10,3)	24 (10,1)	21 (10,6)	0,679
Pacientes con soporte respiratorio	94 (21,6)	56 (23,5)	38 (19,2)	0,327
Ingreso en UCIP	129 (29,5)	80 (33,6)	49 (24,6)	0,052

FiO₂: fracción inspiratoria de oxígeno; SNG: sonda nasogástrica; UCIP: unidad de cuidados intensivos pediátricos; VRS: virus respiratorio sincitial.**Tabla 2**

Características de los pacientes con bronquiolitis por VRS menores de 3 meses comparados con los pacientes con 3 o más meses de edad

	Número de pacientes (%) (n = 437)	≥ 3 meses (%)	< 3 meses (%)	p	N
Duración de la hospitalización (días)	5	4	6	<0,001	436
Necesidad de oxígeno	275 (62,9)	124 (60,2)	151 (65,4)	0,308	437
Duración oxígeno (días)	1	1	2	0,001	432
FiO ₂ máxima suministrada (%)	32	30	35	<0,001	436
Pacientes con necesidad de SNG	91 (20,9)	15 (7,28)	76 (33,0)	<0,001	436
Traslados a hospital tercer nivel	22 (5,03)	12 (5,83)	10 (4,33)	0,621	437
Índice de BROSJOD: leve (1-5)	72 (16,5)	35 (17,0)	37 (16,0)	0,908	437
Índice de BROSJOD: moderado (6-10)	320 (73,2)	151 (73,3)	169 (73,2)	0,908	437
Índice de BROSJOD: grave (11-16)	45 (10,3)	20 (9,71)	25 (10,8)	0,908	437
Duración de la hospitalización en los pacientes que requirieron oxígeno (días)	3	2	4	<0,001	270
FiO ₂ máxima suministrada en los pacientes que requirieron oxígeno (%)	35,8	34	37,5	<0,001	274
Necesidad de soporte respiratorio	94 (21,6)	11 (5,37)	83 (35,9)	<0,001	436
Ingreso en UCIP	129 (29,5)	14 (6,80)	115 (49,8)	<0,001	437
Monodetección VRS	238 (54,5)	98 (47,6)	140 (60,6)	0,008	437
Codetección viral	199 (45,5)	108 (52,4)	91 (39,4)	0,008	437
Codetección con Flu	8 (1,83)	6 (2,91)	2 (0,87)	0,156	437
Codetección con Adv	41 (9,38)	29 (14,1)	12 (5,19)	0,003	437
Codetección con EV	6 (1,37)	3 (1,46)	3 (1,30)	1	437
Codetección con PiV	10 (2,29)	6 (2,91)	4 (1,73)	0,527	437
Codetección con MPV	4 (0,92)	1 (0,49)	3 (1,30)	0,626	437
Codetección con BoV	75 (17,2)	49 (23,8)	26 (11,3)	0,001	437
Codetección con HRV	83 (19,0)	35 (17,0)	48 (20,8)	0,376	437
Codetección con CoV	23 (5,26)	11 (5,34)	12 (5,19)	1	437
Codetección con PeV	1 (0,23)	1 (0,49)	0 (0,00)	0,471	437

Adv: adenovirus; BoV: bocavirus; CoV: coronavirus; EV: enterovirus; FiO₂: fracción inspiratoria de oxígeno; Flu: virus de la gripe; HRV: rinovirus; MPV: metaneumovirus; PeV: parechovirus; PiV: virus parainfluenza; SNG: sonda nasogástrica; UCIP: unidad de cuidados intensivos pediátricos; VRS: virus respiratorio sincitial.

Entre las fortalezas de nuestro trabajo señalamos el diseño prospectivo, la duración del mismo y la considerable cantidad de pacientes incluidos, todos ellos lactantes con bronquiolitis por VRS.

Las principales limitaciones derivan de las propias técnicas de detección de virus respiratorios (PCR en tiempo real). El hecho de detectar más de un agente viral no implica necesariamente la participación de los patógenos en el proceso infeccioso, ya que la presencia de material genético puede detectarse hasta 5 o 6 semanas después en algunos casos⁸. Por otro lado, puede haber una baja recuperación de agentes virales y subestimar las muestras positivas por factores como la toma de muestra retardada, ya que la carga viral disminuye con el tiempo^{28,29}. Cabe resaltar que existe una gran variabilidad metodológica (distintos grupos de edad, diferente localización geográfica, diferentes técnicas de PCR utilizadas, etc.)

en los estudios publicados sobre la relevancia clínica de la codetección viral en pacientes con infección respiratoria, lo que dificulta la comparación de los resultados obtenidos.

Como conclusión, no parece haber mayor gravedad entre aquellos lactantes con bronquiolitis por VRS y aquellos con VRS más otro agente viral. No obstante, consideramos necesario realizar más estudios multicéntricos prospectivos con una metodología común para poder definir mejor la relevancia clínica de la codetección viral en este tipo de pacientes.

Conflicto de intereses

Los autores declaran que no tienen conflicto de intereses.

Bibliografía

1. Bottau P, Liotti L, Laderchi E, Palpacelli A, Calamelli E, Colombo C, et al. Something is changing in viral infant bronchiolitis approach. *Front Pediatr*. 2022;10, <http://dx.doi.org/10.3389/fped.2022.865977>, 865977/865977.
2. Ralston SL, Lieberthal AS, Meissner HC, Alverson BK, Baley JE, Gadomski AM, et al. Clinical Practice Guideline: The diagnosis, management, and prevention of bronchiolitis. *Pediatrics*. 2014;134:e1474–502, <http://dx.doi.org/10.1542/peds.2014-2742>.
3. Tsou P, Vadivelan A, Kovvuri M, Garg N, Thangavelu M, Wang Y, et al. Association between multiple respiratory viral infections and pediatric intensive care unit admission among infants with bronchiolitis. *Arch Pediatr*. 2020;27:39–44, <http://dx.doi.org/10.1016/j.arcped.2019.11.006>.
4. Semple MG, Cowell A, Dove W, Greensill J, McNamara PS, Halfhide C, et al. Dual infection of infants by human metapneumovirus and human respiratory syncytial virus is strongly associated with severe bronchiolitis. *J Infect Dis*. 2005;191:382–6, <http://dx.doi.org/10.1086/426457>.
5. Figueras Aloy J, Quero J, Doménech E, López Herrera MC, Izquierdo I, Losada A, et al. Recomendaciones para la prevención de la infección por virus respiratorio sincitial. *An Pediatr (Barc)*. 2005;63:357–62, <http://dx.doi.org/10.1157/13079818>.
6. Flores-Pérez P, Gerig N, Cabrera-López MI, de Unzueta-Roch JL, del Rosal T, Calvo C. Acute bronchiolitis during the COVID-19 pandemic. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2022;40:572–5, <http://dx.doi.org/10.1016/j.eimc.2021.06.012>.
7. Harada Y, Kinoshita F, Yoshida LM, Minh LN, Suzuki M, Marimoto K, et al. Does respiratory virus coinfection increases the clinical severity of acute respiratory infection among children infected with respiratory syncytial virus? *Pediatr Infect Dis J*. 2013;32:441–5, <http://dx.doi.org/10.1097/INF.0b013e31828a08c>.
8. Martínez-Roig A, Salvadó M, Caballero-Rabasco MA, Sánchez-Buenavida A, López-Segura N, Bonet-Alcaina M. Coinfección vírica en las infecciones respiratorias infantiles. *Arch Bronconeumol*. 2015;51:5–9, <http://dx.doi.org/10.1016/j.arbres.2014.01.018>.
9. Flores-González JC, Mayordomo-Colunga J, Jordan I, Miras-Veiga A, Montero-Valladares C, Olmedilla-Jodar M, et al. Prospective multicentre study on the epidemiology and current therapeutic management of severe bronchiolitis in Spain. *Biomed Res Int*. 2017;2017, <http://dx.doi.org/10.1155/2017/2565397>.
10. Balaguer M, Alejandro C, Vila D, Esteban E, Carrasco JL, Cambra FJ, et al. Bronchiolitis Score of Sant Joan de Déu: BROSJOD Score, validation and usefulness. *Pediatr Pulmonol*. 2017;52:533–9, <http://dx.doi.org/10.1002/ppul.23546>.
11. Petrarca L, Nenna R, Frassanito A, Pierangeli A, Leonardi S, Scagnolari C, et al. Acute bronchiolitis: Influence of viral co-infection in infants hospitalized over 12 consecutive epidemic seasons. *J Med Virol*. 2018;90:631–8, <http://dx.doi.org/10.1002/jmv.24994>.
12. Marguet C, Lubrano M, Gueudin M, Le Roux P, Deschildre A, Forget C, et al. In very young infants severity of acute bronchiolitis depends on carried viruses. *PLoS One*. 2009;4:e4596, <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0004596>.
13. Richard N, Komurian-Pradel F, Javouhey E, Perret M, Rajoharison A, Bagnaud A, et al. The impact of dual viral infection in infants admitted to a pediatric intensive care unit associated with severe bronchiolitis. *Pediatr Infect Dis J*. 2008;27:213–7, <http://dx.doi.org/10.1097/INF.0b013e318154935>.
14. Ruiz S, Calvo C, Pozo F, Casas I, García-García ML. Lung function, allergic sensitization and asthma in school-aged children after viral-coinfection bronchiolitis. *Sci Rep*. 2022;12:755275612, <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-022-11356-9>.
15. Mansbach JM, Piedra PA, Teach SJ, Sullivan AF, Forgey T, Clark S, et al. Prospective multicenter study of viral etiology and hospital length of stay in children with severe bronchiolitis. *Arch Pediatr Adolesc Med*. 2012;166:700–6, <http://dx.doi.org/10.1001/archpediatrics.2011.1669>.
16. Salvador García C, Moreno Docón A, Piñero JA, Alfayate Miguelez S, Iborra Bendicho MA. Etiología de bronquiolitis en niños hospitalizados en el sureste de España. *An Pediatr*. 2012;77:386–90, <http://dx.doi.org/10.1016/j.anpedi.2011.09.021>.
17. De Paulis M, Gilio AE, Ferraro AA, Ferronato AE, do Sacramento PR, Botosso VF, et al. Severity of viral coinfection in hospitalized infants with respiratory syncytial virus infection. *J Pediatr (Rio J)*. 2011;87:307–13, <http://dx.doi.org/10.2223/JPED.2149>.
18. Gil J, Almeida S, Constant C, Pinto S, Barreto R, Cristino JM, et al. Short-term relevance of lower respiratory viral coinfection in inpatients under 2 years of age. *An Pediatr (Engl Ed)*. 2018;88:127–35, <http://dx.doi.org/10.1016/j.anpede.2017.03.006>.
19. Biagi C, Rocca A, Poletti G, Fabi M, Lanari M. Rhinovirus infection in children with acute bronchiolitis and its impact on recurrent wheezing and asthma development. *Microorganisms*. 2020;8:1620, <http://dx.doi.org/10.3390/microorganisms8101620>.
20. Nascimento MS, Souza AV, Ferreira AV, Rodrigues JC, Abramovici S, Silva Filho LV. High rate of viral identification and coinfections in infants with acute bronchiolitis. *Clinics (Sao Paulo)*. 2010;65:1133–7, <http://dx.doi.org/10.1590/S1807-59322010001100014>.
21. Lim FJ, de Klerk N, Blyth CC, Fathima P, Moore HC. Systematic review and meta-analysis of respiratory viral coinfections in children. *Respirology*. 2016;21:648–55, <http://dx.doi.org/10.1111/resp.12741>.
22. Scotta MC, Chakr VCBG, de Moura A, Becker RG, de Souza APD, Jones MH, et al. Respiratory viral coinfection and disease severity in children: A systematic review and meta-analysis. *J Clin Virol*. 2016;80:45–56, <http://dx.doi.org/10.1016/j.jcv.2016.04.019>.
23. Goka EA, Vallety PJ, Mutton KJ, Klapper PE. Single and multiple respiratory virus infections and severity of respiratory disease: A systematic review. *Paediatr Respir Rev*. 2014;15:363–70, <http://dx.doi.org/10.1016/j.prrv.2013.11.001>.
24. Midulla F, Scagnolari C, Bonci E, Pierangeli A, Antonelli G, De Angelis D, et al. Respiratory syncytial virus, human bocavirus and rhinovirus bronchiolitis in infants. *Arch Dis Child*. 2010;95:35–41, <http://dx.doi.org/10.1136/adc.2008.153361>.
25. Resch B, Puchas C, Resch E, Urlesberger B. Epidemiology of respiratory syncytial virus-related hospitalizations and the influence of viral coinfections in southern Austria in a 7-year period. *Pediatr Infect Dis J*. 2020;39:12–6, <http://dx.doi.org/10.1097/INF.0000000000002494>.
26. Canducci F, Debiaggi M, Sampaolo M, Marinozzi MC, Berrè S, Terulla C, et al. Two-year prospective study of single infections and co-infections by respiratory syncytial virus and viruses identified recently in infants with acute respiratory disease. *J Med Virol*. 2008;80:716–23, <http://dx.doi.org/10.1002/jmv.21108>.
27. Vicente D, Montes M, Cilla G, Perez-Yarza EG, Perez-Trallero E. Hospitalization for respiratory syncytial virus in the paediatric population in Spain. *Epidemiol Infect*. 2003;131:867–72, <http://dx.doi.org/10.1017/S0950268803008926>.
28. Okiro EA, White LJ, Ngama M, Cane PA, Medley GF, Nokes DJ. Duration of shedding of respiratory syncytial virus in a community study of Kenyan children. *BMC Infect Dis*. 2010;10:15, <http://dx.doi.org/10.1186/1471-2334-10-15>.
29. Franz A, Adams O, Willems R, Bronzel L, Neuhausen N, Schweizere-Krantz S, et al. Correlation of viral load of respiratory pathogens and co-infections with disease severity in children hospitalized for lower respiratory tract infection. *J Clin Virol*. 2010;48:239–45, <http://dx.doi.org/10.1016/j.jcv.2010.05.007>.