



Epidemiología de las infecciones respiratorias en pacientes pediátricos empleando metodología de PCR múltiple

Susana Ojeda P,* Rocío Munive L,* Luis Carlos Moreno L,*
Armando Torres G,* Virgilio Melgar M*

Palabras clave:

FilmArrayTM
respiratorio,
FilmArray respiratorio
BioFire, PCR
múltiple, infección
respiratoria aguda,
panel respiratorio
FilmArrayTM.

Key words:
*FilmArray respiratory,
BioFire FilmArray
respiratory, PCR
multiplex, acute
respiratory, FilmArray
respiratory panel.*

* Laboratorio de
Patología Clínica,
Centro Médico ABC,
Campus Santa Fe.

Correspondencia:
Rocío Munive L
Laboratorio de
Patología Clínica,
Centro Médico ABC,
Campus Santa Fe.
Av. Carlos Graef
Fernández Núm.
154, Col. Tlaxala,
05300, Del.
Cuajimalpa, CDMX.
Fax: 1103 1727
Tel: (55) 11 03 16 24
E-mail: mrmunivel@
abchospital.com

Recibido:
28/11/2016
Aceptado:
21/12/2016

RESUMEN

Introducción: las infecciones respiratorias agudas (IRAs) representan en nuestro país una alta tasa de mortalidad. Una de las pruebas de cribado más recientes que apoyan en el diagnóstico es la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) múltiple, la cual tiene la ventaja de detectar varios agentes en una misma muestra en un sólo tiempo de proceso. **Objetivos:** describir la epidemiología de las infecciones respiratorias agudas en pacientes pediátricos atendidos en el Centro Médico ABC a quienes se les aplicó el multipanel respiratorio FilmArrayTM. **Material y métodos:** se realizó un estudio transversal, retrospectivo y observacional de tipo epidemiológico en pacientes menores de 18 años de edad con enfermedad respiratoria aguda a quienes se les aplicó el multipanel respiratorio FilmArrayTM. **Resultados:** la edad promedio fue de 1.6 años. Los virus detectados con mayor frecuencia fueron: virus sincicial respiratorio (VSR) en 34%, rinovirus 27.8%, metapneumovirus 7.7% y virus de la parainfluenza tipo 3 en 7.7%. La estación del año en la que se observó el mayor número de casos fue en otoño predominando VSR (47.8%). En el invierno los virus más frecuentemente encontrados fueron los virus de influenza B en 5.6%, influenza A 3%, influenza A H1N1 0.5% e influenza H3N2 en 1.5%. **Conclusiones:** el multipanel respiratorio FilmArrayTM fue capaz de identificar una mayor cantidad de patógenos cuya epidemiología era anteriormente desconocida en pacientes pediátricos con síntomas respiratorios.

ABSTRACT

Background: Mainly viral agents cause acute respiratory tract infections they represent in our country one of the main causes of mortality. The most reliable screening test is polymerase chain reaction (PCR); with the advantage that it can detect multiple agents with a single sample simultaneously. **Objectives:** Describe the epidemiology of acute respiratory infections in pediatric patients of ABC Medical Center who where tested by multipanel respiratory FilmArrayTM. **Material and methods:** We performed a cross sectional, retrospective, observational, epidemiologic study in patients whose age were under 18 years old with acute respiratory tract infections and had nasopharyngeal mucus by the respiratory panel FilmArrayTM for the detection of an etiologic agent. **Results:** Median age of patients was 1.6 years. Most frequently detected viruses where: RSV in 34%, rhinovirus 27.8%, metapneumovirus 7.7% and parainfluenza virus 3 7.7%. The season in which more detections where observed was fall, predominating RSV(47.8%). During winter the most frequent viruses were influenza B in 5.6%, influenza A 3%, A H1 0.5% and A H3 1.5%. **Conclusions:** Respiratory multipanel FilmArrayTM could identify the most frequent pathogens in pediatric patients with respiratory symptoms.

INTRODUCCIÓN

Las infecciones de las vías respiratorias agudas son las enfermedades más comunes que se producen tanto en niños como en adultos; 80% de éstas se atribuyen a virus respiratorios y representan 30-50% de la consulta externa y 20-40% de los ingresos hospitalarios pediátricos.¹

A pesar de la disminución en la mortalidad, esta patología se ubica actualmente dentro de las 10 principales causas de muerte en niños menores de cinco años y en su mayoría se atri-

buye a una etiología viral y cerca de 60% de los niños son tratados con antibióticos, factor que contribuye a la rápida aparición de resistencias.

En México hay escasa información sobre la epidemiología en que se presentan estas infecciones empleando métodos de cribado a base de reacción en cadena de la polimerasa (PCR).²

El panel respiratorio FilmArrayTM BioFire detecta 17 agentes virales y tres bacterianos que incluyen: adenovirus, coronavirus 229E, coronavirus HKU1, coronavirus NL63, coronavirus OC43, metapneumovirus humano, influenza

A, influenza A subtipo H1, H1-2009 y H3, influenza B, virus de la parainfluenza 1, virus de la parainfluenza 2, virus de la parainfluenza 3, virus de la parainfluenza 4, rinovirus humano/enterovirus, virus sincicial respiratorio, *Bordetella pertussis*, *Chlamydophila pneumoniae* y *Mycoplasma pneumoniae* en una sola muestra de hisopado nasofaríngeo.^{3,4}

La prueba requiere 65 minutos de tiempo de instrumentación. La muestra se somete a purificación de ácido nucleico, transcripción inversa y a una reacción combinada de anidamiento y multiplicación de la PCR (50-60 ciclos) junto con el análisis de la curva de fusión de ADN para detectar y distinguir múltiples patógenos simultáneamente.⁵

Las reacciones bioquímicas están encerradas en una bolsa desechable, lo que minimiza el riesgo de contaminación y tiene el potencial de detectar más de 100 dianas de ácido nucleico diferentes a la vez.^{6,7}

MATERIAL Y MÉTODOS

Se llevó a cabo un estudio transversal, retrospectivo y observacional de tipo epidemiológico en pacientes hospitalizados, menores de 18 años de edad con enfermedad respiratoria aguda a quienes se les solicitó la prueba del multipanel respiratorio FilmArray™ durante el periodo del 1 de junio de 2015 al 30 de abril de 2016. Se excluyeron estudios duplicados, resultados indeterminados y los pacientes cuya información no se recabó en el expediente médico. Las variables a analizar fueron edad, sexo, duración de los síntomas, estación del año y microorganismo detectado. Los datos se recabaron del expediente médico electrónico hospitalario y del sistema informático de laboratorio TIMSA, las variables fueron analizadas mediante el programa estadístico SPSS y se contó con la aprobación del Comité de Ética de la institución para la realización del protocolo.

RESULTADOS

Durante el periodo se analizó un total de 251 pacientes pediátricos. La edad promedio de presentación fue de 1.6 años, se observó un predominio en la población masculina de 142 (56.6%) en relación con la femenina 109 (43.4%). La duración de los síntomas previos al diagnóstico fue en promedio de cuatro días, con un mínimo de cero en pacientes que presentaron síntomas el mismo día del diagnóstico y un máximo de 90 en pacientes tratados previamente con medicamento de manera empírica (*cuadro I*).

Estos agentes se encontraron con mayor frecuencia en lactantes con 72.5% de las pruebas con resultado po-

sitivo, seguidos de preescolares 66.7%, escolares 57.8%, adolescentes 54.5% y neonatos con 50%. El virus aislado con mayor frecuencia fue (VSR) virus sincicial respiratorio 66 (33.5%), seguido de rinovirus 54 (27.4%), (hMPV) metapneumovirus 15 (7.6%), (PIV3) parainfluenza 3 15 (7.6%), influenza B 11 (5.5%), (ADV) adenovirus 10 (5%), influenza A seis (3.0%), (CoV) coronavirus NL63 cinco (2.5%), coronavirus HKU1 tres (1.5%), influenza A H3N1 tres (1.5%), parainfluenza 4 tres (1.5%), parainfluenza 1 dos (1%) y con sólo una determinación: virus de la parainfluenza 2, influenza A H1N1, *Mycoplasma* y coronavirus OC43 (*cuadro II*).

La asociación entre las enfermedades respiratorias producidas por virus y las enfermedades concomitantes se observaron en 43.1% de los casos, ocupando el primer lugar la enfermedad por reflujo gastroesofágico (19.3%), seguida de las infecciones de vías respiratorias de repetición (7.1%), enfermedades cardíacas (6.6%), asma (4.1%), las asociaciones de infecciones de vías respiratorias de repetición más enfermedad por reflujo gastroesofágico (ERGE) 2.5%, infecciones de vías respiratorias (IVR) de repetición más asma 2% y sólo 1.5% en prematuros. En 56.9% no se asociaron comorbilidades (*cuadro III*).

Se observó el mayor número de casos durante los meses de octubre y noviembre con 34 y 30 detecciones positivas respectivamente y el agente responsable en

Cuadro I. Características demográficas.

Característica	Valor
Edad (años)	1.67 (4.3, 0.02-17.75)
Edad pediátrica	
Neonato	2
Lactante	131
Preescolar	69
Escolar	38
Adolescente	11
Sexo	
Femenino	109 (43.4%)
Masculino	142 (56.6%)
Duración de los síntomas (días)	4 (4, 0-90)
Estancia IH (días)	5 (3, 0-50)
Antibiótico previo	36 (14.3%)
Antibiótico IH	
Sí	91 (53.5%)
No	79 (46.5%)

Valores presentados en: mediana (RIC, mín.-máx.), frecuencia absoluta (%).

Cuadro II. Detecciones virales de acuerdo con la edad pediátrica.

	Neonato	Lactante	Preescolar	Escolar	Adolescente
Pruebas positivas	1 (50%)	95 (72.5%)	46 (66.6%)	22 (57.8%)	6 (54.5%)
ADV (n = 10)	0 (0)	6 (5.3)	2 (3.8)	2 (8.3)	0 (0)
Rinovirus (n = 54)	0 (0)	29 (25.4)	18 (34.6)	5 (20.8)	2 (33.3)
Influenza B (n = 11)	0 (0)	1 (0.9)	4 (7.7)	5 (20.8)	1 (16.7)
VSR (n = 66)	1 (50%)	46 (40.3)	15 (38.8)	3 (12.5)	1 (16.7)
hMPV (n = 15)	0 (0)	9 (7.9)	3 (5.8)	3 (12.5)	0 (0)
PIV 1 (n = 2)	0 (0)	1 (0.9)	0 (0)	1 (4.2)	0 (0)
PIV 2 (n = 1)	0 (0)	0 (0)	1 (1.9)	0 (0)	0 (0)
PIV 3 (n = 15)	0 (0)	12 (10.5)	3 (5.8)	0 (0)	0 (0)
PIV 4 (n = 3)	0 (0)	2 (1.8)	1 (1.9)	0 (0)	0 (0)
Influenza A (n = 6)	0 (0)	1 (0.9)	2 (3.8)	2 (8.3)	1 (16.7)
Influenza A H1 (n = 1)	0 (0)	0 (0)	1 (1.9)	0 (0)	0 (0)
Influenza A H3 (n = 3)	0 (0)	0 (0)	1 (1.9)	1 (4.2)	1 (16.7)
CoV HKU1 (n = 3)	0 (0)	2 (1.8)	0 (0)	1 (4.2)	0 (0)
CoV NL63 (n = 5)	0 (0)	5 (4.4)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
CoV OC43 (n = 1)	0 (0)	0 (0)	1 (1.9)	0 (0)	0 (0)
<i>Mycoplasma</i> (n = 1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (4.2)	0 (0)
Pruebas negativas	1	36	23	16	5
Total	2 (100%)	131 (100%)	69 (100%)	38 (100%)	11 (100%)

Valores presentados en frecuencias absolutas (%).

Cuadro III. Detecciones virales y enfermedades de base.

	ERGE	Asma	IVR de repetición	Prematuro	Enf. cardíaca	IVR de repetición + ERGE	IVR de repetición + asma	Sin enf. de base
Adenovirus (n = 10)	2	1	0	0	1	0	0	6
Rinovirus (n = 54)	9	3	6	1	4	1	1	29
Influenza B (n = 11)	1	0	1	0	1	0	0	8
VSR (n = 66)	14	1	s	1	3	3	0	39
hMPV (n = 15)	3	1	0	0	1	0	2	8
PIV 1 (n = 2)	0	0	0	0	0	0	1	1
PIV 2 (n = 1)	0	0	0	0	0	0	0	1
PIV 3 (n = 15)	2	1	1	0	1	0	0	10
PIV 4 (n = 3)	1	0	0	1	0	0	0	1
Influenza A (n = 6)	3	0	0	0	0	0	0	3
Influenza A H1 (n = 1)	1	0	0	0	0	0	0	0
Influenza A H3 (n = 3)	0	1	1	0	0	0	0	1
CoV HKU1 (n = 3)	0	0	0	0	1	1	0	1
CoV NL63 (n = 5)	1	0	0	0	1	0	0	3
CoV OC43 (n = 1)	0	0	0	0	0	0	0	1
<i>Mycoplasma</i> (n = 1)	1	0	0	0	0	0	0	0
Total	38 (19.3%)	8 (4.1%)	14 (7.1%)	3 (1.5%)	13 (6.6%)	5 (2.5%)	4 (2%)	112 (56.9%)

Valores presentados frecuencia absoluta (%). ERGE = enfermedad por reflujo gastroesofágico. IVR = infecciones de vías respiratorias.

Cuadro IV. Epidemiología de los virus y estación del año.

	Primavera	Verano	Otoño	Invierno	p*
	21 mar-20 jun	21 jun-22 sep	23 sep-20 dic	21 dic-20 mar	
Adenovirus (n = 10)	3 (6.8%)	3 (7.5%)	4 (4.3%)	0 (0%)	0.147
Rinovirus (n = 54)	8 (18.1%)	9 (22.5%)	25 (27.2%)	12 (16%)	0.333
Influenza B (n = 11)	3 (6.8%)	1 (2.5%)	0 (0%)	7 (9.3%)	0.023
VSR (n = 66)	4 (9.0%)	12 (30%)	44 (47.8%)	6 (8%)	< 0.001
MPVh (n = 15)	4 (9.0%)	0 (0%)	4 (4.3%)	7 (9.3%)	0.155
PIV 1 (n = 2)	1 (2.2%)	0 (0%)	1 (1.1%)	0 (0%)	0.525
PIV 2 (n = 1)	0 (0%)	1 (2.5%)	0 (0%)	0 (0%)	0.151
PIV 3 (n = 15)	5 (11.3%)	2 (5%)	5 (5.4%)	3 (4%)	0.406
PIV 4 (n = 3)	0 (0%)	2 (5%)	1 (1.1%)	0 (0%)	0.096
Influenza A (n = 6)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	6 (8%)	0.002
Influenza A H1 (n = 1)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (1.3%)	0.502
Influenza A H3 (n = 3)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	3 (4%)	0.068
CoV HKU1 (n = 3)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	3 (4%)	0.068
CoV NL63 (n = 5)	1 (2.2%)	1 (2.5%)	3 (3.26%)	0 (0%)	0.502
CoV OC43 (n = 1)	1 (2.2%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0.193
Mycoplasma (n = 1)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (1.3%)	0.502
Negativos	14 (31.8)	9 (22.5%)	5 (5.4%)	26 (34.6%)	
Total	44 (100%)	40 (100%)	92 (100%)	75 (100%)	0.149

Valores presentados como frecuencias absolutas (%). *Prueba de χ^2 .

47.8% de los casos fue VSR que resultó estadísticamente significativo con una $p \leq 0.001$. El segundo en frecuencia ocurrió en invierno y los agentes predominantes fueron influenza B (9.3%) $p = 0.023$, influenza A (8%) $p = 0.002$, influenza A H3N1 y CoV HKU1 ambas con 4% y $p = 0.068$. En primavera el rinovirus se presentó en 18.1% y el virus de la parainfluenza 3 en 11.3%, VSR y hMPV ambos en 9%. En verano el virus más aislado fue VSR con 30% y rinovirus con 22.5% (cuadro IV).

Los virus aislados con mayor frecuencia fueron VSR $p < 0.001$, rinovirus (54 positivos) $p = 0.333$, hMPV (15 positivos) $p = 0.155$ y adenovirus (10 positivos) $p = 0.147$, seguidos de influenza A seis (3.0%), CoV NL63 cinco (2.5%), CoV HKU1 tres (1.5%), influenza A H3N1 tres (1.5%), parainfluenza tres (1.5%), parainfluenza 1 dos (1%) y con sólo una determinación: virus de la parainfluenza 2, influenza A H1N1, *Mycoplasma* y CoV OC43.

Los virus de la parainfluenza no presentaron prevalencia en ninguna época del año, pero sí un mayor número de casos de lo esperado, el virus de la parainfluenza 1 (dos positivos) $p = 0.525$, parainfluenza 2 (un positivo) $p = 0.151$, parainfluenza 3 (15 positivos) $p = 0.406$ y parainfluenza 4 (tres positivos) $p = 0.096$.

Los coronavirus y la única determinación bacteriana fueron los agentes aislados con menor número de casos y

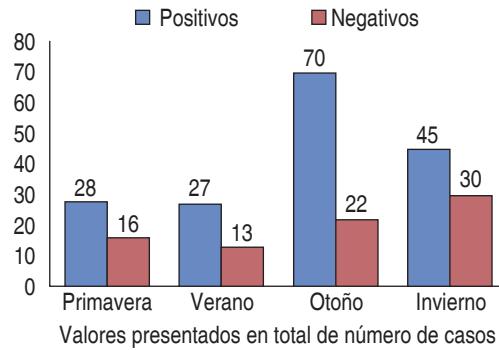


Figura 1. Pruebas positivas por época estacional.

no mostraron un claro predominio por alguna estación del año. CoV NL63 (cinco positivos) $p = 0.502$, CoV OC43 (un positivo) $p = 0.193$, CoV HKU 1 (tres positivos) $p = 0.068$ y *Mycoplasma* (un positivo) $p = 0.502$.

La frecuencia de pruebas positivas respecto a las negativas se observó en todas las estaciones del año, con una $p = 0.149$. La época estacional con mayores determinaciones positivas fue otoño (70 positivos-22 negativos), seguida de invierno (45 positivos-30 negativos), primavera (28 positivos-16 negativos) y verano (27 positivos-13 negativos) (figura 1).

Cuadro V. Frecuencia de coinfecciones por edad pediátrica.

No. agentes identificados	Neonato (n = 2)	Lactante (n = 131)	Preescolar (n = 69)	Escolar (n = 38)	Adolescente (n = 11)	Total (n = 251)
Único	1 (50%)	77 (58.8%)	40 (58.0%)	20 (52.6%)	6 (54.5%)	144 (57.4%)
Doble	0 (0%)	17 (13%)	6 (8.7%)	2 (5.3%)	0 (0%)	25 (9.9%)
Triple	0 (0%)	1 (0.8%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (0.4%)
Negativo	1 (50%)	36 (27.4%)	23 (33.3%)	16 (42.1%)	5 (45.5%)	81 (32.3%)

Valores presentados frecuencia absoluta (%).

Cuadro VI. Determinaciones múltiples.

Coinfecciones	Número de casos
Rinovirus, VSR y CoV NL63	1
Rinovirus-VSR	12
Rinovirus-ADV	2
Rinovirus- <i>Mycoplasma</i>	1
Rinovirus-influenza A	1
Rinovirus-PIV 3	2
VSR-CoV	2
VSR-PIV 3	1
hMPV-ADV	1
hMPV-CoV	1
hMPV-influenza B	1
hMPV-PIV 1	1

Valores presentados frecuencia absoluta (%).

Las determinaciones positivas fueron 170 (67.7%) de un total de 251 pruebas realizadas. Las determinaciones de agentes únicos fueron de 144 (57.4%) con un predominio en lactantes y preescolares. La detección de agentes dobles y triples se presentó en 25 (9.9%) y uno (0.4%) respectivamente (*cuadro V*).

En las infecciones dobles la asociación más observada fue con VSR y rinovirus (46%) y el único caso de infección triple (3.8%) involucró rinovirus, VSR y coronavirus NL63, la mayoría de los casos se presentó en pacientes neonatos (*cuadro VI*).

Los pacientes con determinaciones virales positivas fueron tratados en 46.5% de manera sintomática. De 53.5% que recibieron antibióticos, el más indicado fue del grupo de las cefalosporinas en 28.2% de los casos, seguido de cefalosporina con macrólido 9.4%, con antibiótico no especificado 5.9%, macrólido 4.7%,

Cuadro VII. Antibióticos más utilizados.

Antibiótico	No. de pacientes (%)
Tratamiento sintomático	79 (46.5)
Cefalosporinas	48 (28.2)
Penicilinas	4 (2.4)
Macrólido	8 (4.7)
Cefalosporina y macrólido	16 (9.4)
Cefalosporina y quinolona	5 (2.9)
Antibiótico no especificado	10 (5.9)

Valores presentados frecuencia absoluta (%).

cefalosporina con quinolona 2.9% y penicilinas sólo en 2.4% (*cuadro VII*).

CONCLUSIONES

La principal causa de las infecciones respiratorias detectadas en nuestro hospital al igual que en otras instituciones de salud es viral y el principal agente causal en la población pediátrica es VSR. Los menores de dos años de edad son más proclives a adquirir estos agentes, sobre todo en los meses de octubre y noviembre.

La misma distribución se observó conforme al sexo como se refiere en otros artículos, con mayor predominio del masculino y en población lactante.

El metapneumovirus y el virus de parainfluenza 3 se detectaron con un total de 15 casos cada uno, éstos son regularmente poco diagnosticados, ya que los paneles respiratorios utilizados por la mayoría de los hospitales no los incluyen.

La prevalencia de los virus de la influenza fue mayor en pacientes > 2 años y no se encontró ningún caso en

recién nacidos ni en lactantes. Se sabe que estos virus se presentan en su mayoría en niños mayores y pacientes adultos,⁸ con una notable distribución en el invierno y un marcado número de casos en el mes de diciembre, aunque sólo presentan una leve tendencia estadísticamente significativa, tal vez por el reducido número de pacientes de la muestra, lo cual fue una de las limitaciones de nuestra investigación.

Los coronavirus, frecuentemente asociados a infecciones de tipo nosocomial, se ligaron en este estudio a pacientes con patología cardiaca de fondo, secundarios a estancias prologadas en las unidades de cuidados intensivos. A los coronavirus se les ha implicado en infecciones respiratorias virales nosocomiales en prematuros hospitalizados. En nuestro estudio sólo se presentaron dos casos de pacientes con cardiopatía asociada a coronavirus NL63 y HKU respectivamente, ninguno era paciente prematuro, aunque sí tuvieron estancias hospitalarias prolongadas.⁹

Este trabajo da a conocer la epidemiología que se presenta entre nuestra población pediátrica en cuanto a infecciones respiratorias y puede sentar las bases para futuras investigaciones en este campo.

Las pruebas de laboratorio a base de PCR múltiple son una nueva alternativa de diagnóstico que puede ayudarnos a facilitar al médico un diagnóstico oportuno, acortar los tiempos de estancia intrahospitalaria, disminuir los costos y, por último, apoyar en el control de resistencias bacterianas.

REFERENCIAS

1. Kim JK, Jeon JS, Kim JW, Rheem I. Epidemiology of respiratory viral infection using multiplex rt-PCR in Cheonan, Korea (2006-2010). *J Microbiol Biotechnol*. 2013; 23 (2): 267-273.
2. Ellis C, Misir A, Hui C, Jabbour M, Barrowman N, Langill J et al. Detection of respiratory viruses and bacteria in children using a twenty-two target reverse-transcription real-time PCR (RT-qPCR) panel. *World J Pediatr*. 2016; 12 (2): 183-189.
3. Ruggiero P, McMillen T, Tang YW, Babady NE. Evaluation of the BioFire FilmArray respiratory panel and the GenMark eSensor respiratory viral panel on lower respiratory tract specimens. *J Clin Microbiol*. 2014; 52 (1): 288-290.
4. Xu M, Qin X, Astion ML, Rutledge JC, Simpson J, Jerome KR et al. Implementation of filmarray respiratory viral panel in a core laboratory improves testing turnaround time and patient care. *Am J Clin Pathol*. 2013; 139 (1): 118-123.
5. Anderson TP, Werno AM, Barratt K, Mahagamasekera P, Murdoch DR, Jennings LC. Comparison of four multiplex PCR assays for the detection of viral pathogens in respiratory specimens. *J Virol Methods*. 2013; 191 (2): 118-121.
6. Vizcarra-Ugalde S, Rico-Hernández M, Monjarás-Ávila C, Bernal-Silva S, Garrocho-Rangel ME, Ochoa-Pérez UR et al. Intensive care unit admission and death rates of infants admitted with respiratory syncytial virus lower respiratory tract infection in Mexico. *Pediatr Infect Dis J*. 2016; 35 (11): 1199-1203.
7. Tulloh RM, Bury S. Prevention and prophylaxis of respiratory syncytial virus in pediatric cardiology: a UK perspective. *Future Cardiol*. 2014; 10 (2): 235-242.
8. Prado MA, Le Corre N, Viviani T, Perret C. Endocarditis caused by *Streptococcus pneumoniae* in children: case report and review. *Rev Chilena Infectol*. 2005; 22 (4): 361-367.
9. Brink AJ, Van Wyk J, Moodley VM, Corcoran C, Ekermans P, Nutt L et al. The role of appropriate diagnostic testing in acute respiratory tract infections: An antibiotic stewardship strategy to minimise diagnostic uncertainty in primary care. *S Afr Med J*. 2016; 106 (6): 30-37.