

Infecciones por bocavirus humano en niños españoles: características clínicas y epidemiológicas de un virus respiratorio emergente

M.L. García-García^a, C. Calvo Rey^a, F. Pozo Sánchez^b, M.C. Vázquez Álvarez^a, A. González Vergaz^a, P. Pérez-Breña^b e I. Casas Flecha^b

^aServicio de Pediatría. Hospital Severo Ochoa. Leganés. ^bLaboratorio de Gripe y Virus Respiratorios. Centro Nacional de Microbiología. Instituto de Salud Carlos III. Madrid. España.

Introducción

En el año 2005 se ha clonado un nuevo virus respiratorio, llamado bocavirus humano (HBoV) de muestras respiratorias procedentes de lactantes y niños suecos con infección respiratoria de vías bajas.

Objetivos

Determinar si HBoV ha circulado en España, estimar la frecuencia de infecciones por HBoV en los niños hospitalizados por infección respiratoria y describir sus características clínicas y epidemiológicas.

Pacientes y métodos

Estudio descriptivo, prospectivo de las infecciones confirmadas por HBoV en niños menores de 14 años, hospitalizados por infección respiratoria desde octubre de 2004 a junio de 2005. Para el diagnóstico virológico se realizó reacción en cadena de la polimerasa-transcripción inversa (RT-PCR) múltiple para virus respiratorio sincitial (VRS) A y B, influenza A, B y C, parainfluenza 1-4, adenovirus y rinovirus; PCR para metapneumovirus humano (hMPV) y PCR para HBoV en aspirado nasofaríngeo. Se describen las características clínicas y epidemiológicas de los pacientes.

Resultados

Se detectaron 52 casos de infección por HBoV, lo que supuso el 17,1% (IC [intervalo de confianza] 95%: 13 a 21) de los pacientes hospitalizados por procesos respiratorios. HBoV fue el tercer agente viral tras el VRS (30%) y el rinovirus (25%). En 39 casos (71,1%) se detectó coinfección con otro virus respiratorio.

El 50% de los pacientes eran menores de 13,6 meses y el 75% menores de 2 años. Los diagnósticos más frecuentes fueron sibilancias recurrentes (55,8%), bronquiolitis (21,2%) y neumonía (15,4%). Dos niños presentaron sepsis clínica con exantema petequeal. El 71,2% presentó fiebre superior a 38 °C e infiltrado radiológico el 44%. Presentaron hipoxia el 55,8% de los niños. Dos pacientes presentaron aislamientos positivos para HBoV en distintos episodios. Las coinfecciones fueron similares a las infecciones simples, excepto que presentaron hipoxia con más frecuencia, $p = 0,038$.

Conclusiones

HBoV es uno de los virus más frecuentes en las infecciones respiratorias graves de los niños, sólo precedido por VRS y rinovirus. Las coinfecciones son muy frecuentes. La mayoría de los niños son lactantes con sibilancias recurrentes y bronquiolitis.

Palabras clave:

Infección respiratoria. Bocavirus. Sibilancias recurrentes. Bronquiolitis. Exantema.

HUMAN BOCAVIRUS INFECTIONS IN SPANISH 0-14 YEAR-OLD: CLINICAL AND EPIDEMIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF AN EMERGING RESPIRATORY VIRUS

Introduction

In 2005 a new respiratory virus, called human bocavirus (HBoV), was cloned from respiratory samples from Swedish infants and children with lower respiratory tract infections.

Estudio parcialmente financiado por el Fondo de Investigaciones Sanitarias. FIS N.º 98/0310.

Correspondencia: Dra. M.ªL. García-García.
Castilla, 3 Bis. 28290 Las Rozas. Madrid. España.
Correo electrónico: marialuzgarcia@terra.es

Recibido en abril de 2007.
Aceptado para su publicación en abril de 2007.

Objectives

To determine whether HBoV has circulated in Spain, estimate the frequency of HBoV infections in patients hospitalized for respiratory infection and describe the clinical and epidemiological characteristics of these patients.

Patients and methods

We performed a descriptive prospective study of confirmed HBoV infections in patients aged < 14 years old, hospitalized for respiratory infections between October 2004 and June 2005. Virologic diagnosis was based on multiple RT-PCR for respiratory syncytial virus (RSV) A and B, influenza A, B, and C, parainfluenza 1-4, adenovirus and rhinovirus; PCR was used for human metapneumovirus (hMPV) and PCR in nasopharyngeal aspirates was used for HBoV. The clinical and epidemiological characteristics of patients were analyzed.

Results

Fifty-two cases of HBoV infection were detected, representing 17.1% (95% CI: 13% a 21%) of patients hospitalized for respiratory infections. HBoV was the third most frequent viral agent after RSV (30%) and rhinovirus (25%). In 39 patients (71.1%) coinfection with another respiratory virus was detected.

Fifty percent of the patients were aged less than 13.6 months and 75% were aged less than 2 years. The most frequent diagnoses were recurrent wheezing (55.8%), bronchiolitis (21.2%) and pneumonia (15.4%). Clinical sepsis with petechial exanthema was found in two patients. Fever > 38 °C was found in 72.1% and radiological infiltrate in 44%. Hypoxia was present in 55.8% of the patients. HBoV was isolated in distinct episodes in two patients. Coinfections were similar to simple infections except that hypoxia was more frequent in the former (p 0.038).

Conclusions

HBoV is one of the most frequent viruses in severe respiratory infections in patients aged less than 14 years old. Only RSV and rhinovirus are more frequent. Coinfections are highly frequent. Most patients are infants with recurrent wheezing and bronchiolitis.

Key words:

Respiratory infection. Bocavirus. Recurrent wheezing. Bronchiolitis. Exanthema.

INTRODUCCIÓN

Las infecciones respiratorias virales tienen un enorme impacto en la población pediátrica y son responsables de una morbilidad considerable. Los virus son una causa frecuente de infecciones respiratorias de vías altas y bajas en los niños¹. Sin embargo, el conocimiento etiológico de estas infecciones es limitado. Afortunadamente en los últimos años, la implantación y perfeccionamiento de las técnicas de reacción en cadena de la polimerasa (PCR), ha permitido ampliar nuestra visión en cuanto a la etiología de las infecciones respiratorias. Algunos virus como los rinovirus crecen con dificultad en los cultivos

celulares por lo que se ha infraestimado su frecuencia hasta que gracias a la PCR, se ha conocido su importancia real como causante de infecciones de vías bajas en lactantes², o como desencadenante de exacerbaciones de asma en escolares^{3,4}, adultos^{5,6}, o en pacientes afectados de enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC)⁷. Las técnicas de PCR han permitido conocer también la existencia de otros virus respiratorios importantes en la población pediátrica, como el metapneumovirus humano (hMPV) descrito recientemente en Holanda⁸ y posteriormente en distintos lugares del mundo⁹⁻¹², entre ellos España^{13,14}. Sin embargo, el porcentaje de infecciones respiratorias sin detección de ningún agente etiológico es aún significativo.

En el año 2005 se ha clonado un nuevo virus respiratorio, llamado bocavirus humano (HBoV) de muestras respiratorias procedentes de lactantes y niños suecos con infección respiratoria de vías bajas¹⁵. Los análisis filogenéticos del genoma completo de HBoV mostraron que este virus está muy relacionado con el parvovirus bovino y un virus canino, y que es miembro del género *Bocavirus*, subfamilia *Parvovirinae*, familia *Parvoviridae*. Hasta ahora, el único *Parvoviridae* humano conocido pertenece al género *Erythrovirus*, siendo el parvovirus B19 (genotipo 1) el mejor caracterizado y el responsable de la quinta enfermedad en niños¹⁶.

La serie inicial de HBoV estaba compuesta por 17 niños ingresados (3,1%), de los que 14 eran infecciones sencillas por HBoV y tres coinfecciones por HBoV, virus respiratorio sincitial (VRS) y adenovirus. La mayoría de los pacientes eran menores de 2 años. La fiebre y el distrés respiratorio fueron frecuentes y la duración de la hospitalización osciló entre 1 y 8 días. Un mes después se publicó otra serie de 18 niños australianos menores de 3 años con infección respiratoria, de los que los autores no aportaron datos clínicos detallados y en los que se detectó HBoV¹⁷. La prevalencia de HBoV en esta serie fue del 5,6% del total, siendo el segundo virus en frecuencia tras el VRS. Los autores australianos detectaron coinfección con otro virus respiratorio en el 55,6% de las infecciones por HBoV. A lo largo del año 2006 se han descrito nuevas series de casos de infección por HBoV en diversos países como Japón¹⁸, Francia¹⁹, Canadá²⁰, Sudáfrica²¹, Estados Unidos²², Jordania²³, Reino Unido²⁴ o Alemania²⁵. En la mayoría de ellas HBoV aparece como un virus frecuente en pacientes de entre 6 meses y 4 años con infecciones respiratorias de vías altas o bajas, con un patrón de circulación a lo largo de todo el año, aunque con cierto predominio en los meses de invierno, y con una elevada tasa de coinfecciones con otros virus respiratorios. Sin embargo, aún quedan muchos aspectos por aclarar relativos al comportamiento de este nuevo virus. Por ello y dado el escaso conocimiento existente en la actualidad acerca de la frecuencia real y el comportamiento clínico del HBoV, hemos planteado un estudio cuyos objetivos

han sido determinar si HBoV ha circulado en España, estimar la frecuencia de infecciones por HBoV en los niños hospitalizados por infección respiratoria y describir sus características clínicas y epidemiológicas.

PACIENTES Y MÉTODOS

Este estudio se enmarca dentro de una línea de investigación prospectiva acerca de las infecciones respiratorias virales en niños, llevada a cabo en el Servicio de Pediatría del Hospital Severo Ochoa (Leganés, Madrid), en colaboración con el Laboratorio de Gripe y Virus Respiratorios del Instituto Carlos III, financiada por el Fondo de Investigaciones Sanitarias (FIS N.º 98/0310). Sucintamente, el diseño de este estudio consiste en que una vez obtenido el consentimiento informado de los padres, todos los pacientes hospitalizados por infección respiratoria son incluidos en el estudio, procediéndose a una recogida prospectiva de los datos clínicos, según un cuestionario diseñado al efecto. Además, a todos los pacientes se les recoge una muestra respiratoria mediante aspirado nasofaríngeo, remitiéndose en medio de transporte viral al Laboratorio de Gripe y Virus Respiratorios del Centro Nacional de Microbiología, Instituto de Salud Carlos III de Madrid, donde son procesadas en las 24 h siguientes a su recogida. Se separan 2 alícuotas de 200 µl. Una de ellas es procesada inmediatamente, mientras que la segunda se almacena a -80 °C para posteriores análisis.

Con objeto de estudiar la presencia de HBoV se incluyeron todos los niños menores de 14 años ingresados por infección respiratoria en nuestro servicio, desde octubre de 2004 a octubre de 2005. Como ya se ha descrito, la recogida de los datos clínicos se realizó de manera prospectiva. Igualmente prospectivo fue el estudio virológico para todos los virus respiratorios, excepto para HBoV, cuya presencia fue investigada en muestras que previamente habían sido congeladas a -80 °C.

Variables clínicas

Se analizaron las variables epidemiológicas de edad, sexo y estacionalidad y las características clínicas de los pacientes entre las que se incluyeron la presencia de fiebre, la saturación transcutánea de oxígeno, la leucocitosis, la proteína C reactiva sérica, el resultado de la radiografía de tórax, el diagnóstico clínico y la duración del ingreso.

Los diagnósticos finales fueron definidos como:

1. Bronquiolitis: primer episodio de disnea espiratoria de comienzo agudo con signos previos de infección respiratoria en niños menores de 24 meses (Criterios de McConnochie²⁶).

2. Episodio recurrente de sibilancias: infección respiratoria con sibilancias habiendo presentado algún episodio similar previo en niños menores de 24 meses.

3. Crisis asmática: episodio de dificultad respiratoria y sibilancias espiratorias en niños mayores de 2 años.

4. Neumonía: infiltrado focal con consolidación en la radiografía de tórax en ausencia de sibilancias.

5. Infección respiratoria de vías altas (IRVA): síntomas catarrales, sin broncoespasmo asociado, acompañados o no de fiebre.

6. Laringitis aguda: obstrucción de la vía aérea superior acompañada de estridor inspiratorio.

Análisis estadístico

Las variables cuantitativas se expresaron como media \pm desviación estándar y las variables cualitativas como proporciones. Las características clínicas y las variables de laboratorio fueron comparadas mediante el test U Mann-Whitney, el test de la chi cuadrado y test exacto de Fisher. Se consideró estadísticamente significativo un valor de $p < 0,05$. Todo el análisis fue realizado empleando el Statistical Package of Social Science (SPSS), Versión 12.0.

Estudio virológico

Se realizó RT-PCR para VRS-A y B, adenovirus, influenza A, B y C, parainfluenza 1, 2, 3 y 4 y rinovirus^{27,28} según nuestro grupo ha descrito previamente, en todas las muestras de aspirado nasofaríngeo. Además se ha estudiado la presencia de hMPV, mediante 2 ensayos independientes de RT-PCR según se detalla en una publicación previa²⁹.

PCR para bocavirus

Las muestras clínicas se han extraído en un extractor automático BioRobot M48 utilizando el kit de extracción correspondiente (Qiagen, Hilden, Germany). Se ha utilizado un total de 200 µl de muestra clínica a la que se ha añadido la cantidad de 100 copias de control interno. Los ácidos nucleicos se diluyen en un total de 50 µl de *buffer* de dilución.

Se han elegido bloques conservados de secuencias en el gen que codifica para la proteína NP-1 y la región intergénica VP1/VP2, utilizando las secuencias completas disponibles hasta la fecha en la base de datos GenBank (DQ000495 y DQ000496). En la primera amplificación se obtiene un producto amplificado de 609 bp que se somete a una segunda amplificación con *primers* internos generando un producto de amplificación final de 243 bp.

Se ha incluido un control interno de amplificación para eliminar los falsos negativos debidos a que la muestra clínica pueda contener inhibidores de la amplificación o fallos en la extracción del material genético. El tamaño de banda del control interno es 350 bp.

Para estandarizar la nested-PCR específica de HBoV y conocer la sensibilidad y especificidad se ha clonado un producto de amplificación (609 bp) en un plásmido pCR4-TOPO (TOPO-TA Cloning Kit with One Shot TOP10 Chemically Competent *E. coli*, Invitrogen, Carlsbad, CA).

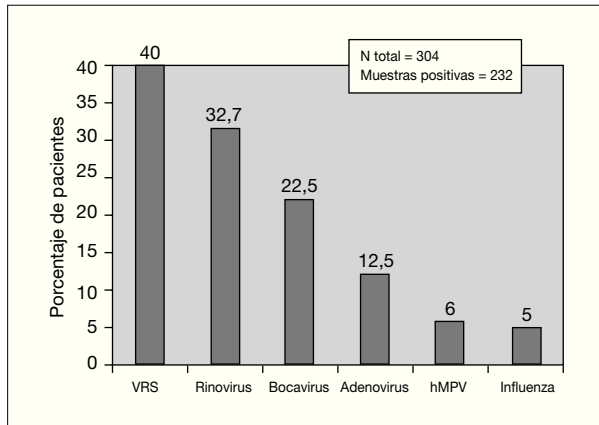


Figura 1. Frecuencia relativa de los aislamientos virales positivos. VRS: virus respiratorio sincitial; hMPV: metapneumovirus humano.

La sensibilidad obtenida con este plásmido equivale a 10 copias de genoma viral.

RESULTADOS

Se obtuvieron un total 304 muestras procedentes de 301 niños de 11 días a 10 años con infección respiratoria. De las 304 muestras estudiadas, 232 (76,3%) resultaron positivas para algún agente viral. De ellos, 91 (30%) correspondieron a VRS, 76 (25%) a rinovirus y 52 (17,1%) a HBoV. Otros virus detectados en orden de frecuencia fueron adenovirus, hMPV, e influenza (fig. 1).

Se identificó HBoV en 52 muestras (17,1%; IC 95%: 13 a 21) correspondientes a 49 pacientes. Un niño con el diagnóstico de crisis asmática ingresó en octubre de 2004, noviembre de 2004 y diciembre de 2004. En las tres ocasiones se detectó HBoV en el aspirado nasofaríngeo. Otro paciente, con drepanocitosis fue hospitalizado en dos ocasiones (diciembre de 2004 y mayo de 2005) detectándose HBoV en ambas.

Características clínicas asociadas a infección por HBoV

Las características clínicas de los niños infectados por HBoV se muestran en la tabla 1. El rango de edad fue de 4,3-52 meses, pero la mayoría eran lactantes: el 50% eran menores de 13,6 meses y el 75% menores de 2 años. La mayoría no presentaba previamente enfermedades significativas, excepto un paciente con drepanocitosis.

El pico de máxima frecuencia de infecciones por HBoV se registró en diciembre y noviembre, seguido de marzo y abril (fig. 2).

El diagnóstico más frecuente fue sibilancias recurrentes/crisis asmática seguido por el de bronquiolitis. La duración media de los ingresos fue de 4,7 días (DE: 3,6; rango: 1-19 días) con una mediana de 4 días. Un lactante con asma grave del lactante fue hospitalizado en tres ocasio-

TABLA 1. Características clínicas asociadas a la infección por bocavirus humano (simples y múltiples) (n = 52)

Característica clínica	N (%)
Edad (meses)	17 ± 12
Sexo masculino	32 (61)
Prematuridad	10 (19,2)
Temperatura > 37,9 °C	37 (71,2)
Hipoxia (SaO ₂ < 95%)	29 (55,8)
Infiltrado/atelectasia	16 (44,4)
Tratamiento antibiótico	19 (36,5)
Diagnóstico:	
Sibilancias recurrentes/asma	29 (55,8)
Bronquiolitis	11 (21,2)
Neumonía	8 (15,4)
Sepsis clínica	2 (3,8)
Celulitis/sinusitis	1 (1,9)
Infección respiratoria alta	1 (1,9)
Duración del ingreso (media, días)	4,7 ± 3,6
Leucocitos (cél./μl)	14.828 ± 5.654
Proteína C reactiva sérica	39 ± 44

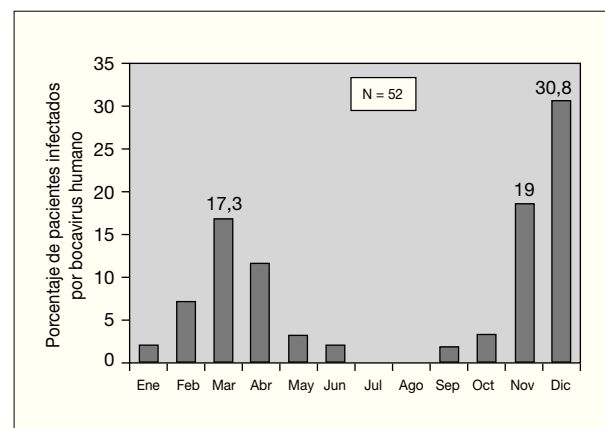


Figura 2. Distribución mensual de las infecciones por bocavirus humano.

nes (duración de los ingresos: 5, 10 y 19 días) y en los 3 ingresos se detectó HBoV y al menos otro virus respiratorio.

Una niña de 2,5 años de edad con neumonía, presentó un derrame pleural severo bilateral, que requirió drenaje pleural. No se aisló ninguna bacteria ni en sangre ni en líquido pleural.

Otra niña de 3,5 años con antecedente de anemia de células falciformes, presentó dos infecciones por bocavirus. En la primera, en diciembre de 2004, el ingreso fue motivado por una crisis vasooclusiva, desarrollando durante el ingreso una neumonía nosocomial. HBoV fue el único agente detectado. En mayo de 2005 la niña reingresó con fiebre alta y rinorrea, detectándose en el aspirado nasofaríngeo bocavirus y adenovirus.

TABLA 2. Comparación de las características clínicas de las infecciones sencillas por bocavirus humano y las coinfecciones

	Infecciones sencillas N = 13 (%)	Coinfecciones N = 39 (%)	P
Características clínicas:			
Edad (media, meses)	18,1 ± 12,9	17,0 ± 14,4	0,857
Género masculino	7 (53,8)	25 (64,1)	0,510
Prematuridad	1 (6,7)	9 (24,3)	0,223
Temperatura > 37,9 °C	10 (76,9)	27 (69,2)	0,596
Hipoxia (SaO ₂ < 95%)	5 (38,5)	24 (61,5)	0,147
Infiltrado/atelectasia	5 (71,4)	11 (37,9)	0,131
Tratamiento antibiótico	6 (46,2)	13 (33,3)	0,406
Prematuridad	1 (7,7)	9 (23,1)	0,140
Diagnóstico:			
Sibilancias recurrentes	7 (53,8)	22 (56,4)	
Bronquiolitis	1 (7,7)	10 (25,6)	0,260
Neumonía	3 (23,1)	5 (12,8)	
Sepsis clínica	2 (15,0)	—	
Duración del ingreso (días)	4,7 ± 3,0	4,7 ± 5,0	0,266
Leucocitos	15.167 ± 6.177	14.722 ± 5.594	0,877
Proteína C reactiva sérica	49,2 ± 57,2	35,9 ± 41	0,609

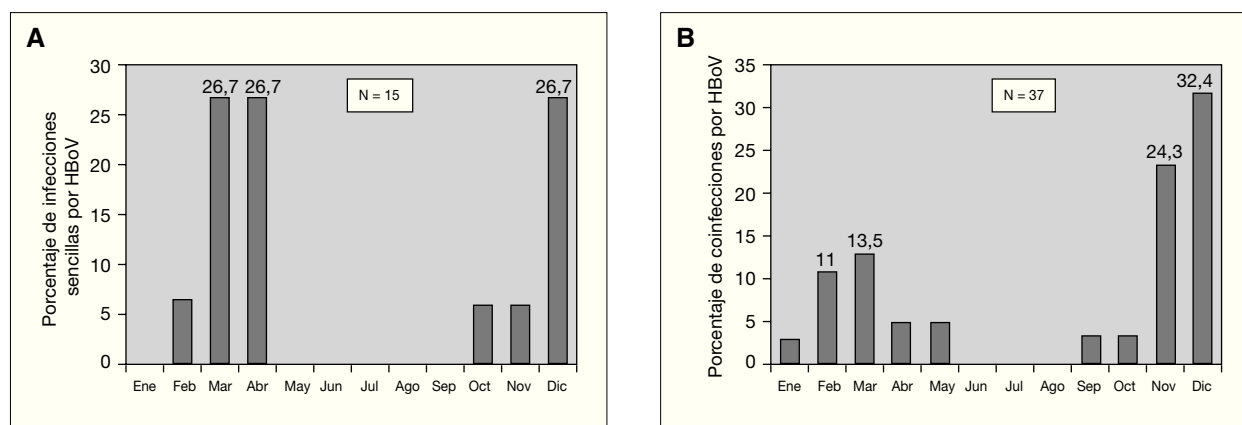


Figura 3. Distribución mensual de las infecciones sencillas por bocavirus humano en comparación con las coinfecciones de bocavirus con otros virus respiratorios.

Dos lactantes de 12 y 14 meses de edad con infección sencilla por bocavirus, presentaron fiebre sin foco (salvo mínima rinorrea), hipotensión, exantema petequeal y afectación del estado general. Ambos fueron diagnosticados de sepsis clínica, precisando uno de ellos ingreso en la unidad de cuidados intensivos (UCI). En ambos casos no se detectó ningún otro microorganismo.

Un niño de 22 meses, infectado por HBoV y adenovirus, fue ingresado por celulitis facial, observándose sinusitis en la tomografía computarizada.

La fiebre y la hipoxemia fueron frecuentes. Un total de 19 niños (36,5%) recibieron tratamiento antibiótico durante su ingreso: 13 de ellos presentaban infiltrado/atelectasia en la radiografía de tórax, dos presentaban un cuadro clínico compatible con sepsis y otro paciente tuvo una crisis vasooclusiva con fiebre elevada.

Se identificó coinfección con otro virus respiratorio en 39 (75%) de las 52 muestras positivas para bocavirus: adenovirus en nueve (23%), VRS en ocho (20,5%), rinovirus en siete (18%), hMPV en tres (7,6%), parainfluenza en uno (2,5%) y enterovirus en uno (2,5%). Las coinfecciones fueron múltiples en 10 casos (25,6%).

En la tabla 2 se describen las características clínicas de las 13 infecciones simples por HBoV, comparándolas con las de las infecciones dobles o múltiples. La fiebre fue muy frecuente, elevada y prolongada en ambos grupos. La temperatura media en los niños febriles con infección sencilla por HBoV fue 39 ± 1 °C y se prolongó durante $5,6 \pm 3,8$ días. La distribución estacional fue similar en ambos, aunque las infecciones sencillas fueron algo más frecuentes en primavera (fig. 3). No se observaron diferencias significativas entre los grupos en el resto de las variables estudiadas.

DISCUSIÓN

Se describe por primera vez una serie de pacientes infectados por HBoV en España. Según nuestros resultados, la frecuencia de las infecciones respiratorias asociadas a HBoV en niños ingresados es muy elevada: 22,4% de todos los casos positivos y 17,1% del total. Esta es una de las frecuencias más elevadas descritas hasta ahora. En la serie original, descrita por Allander et al¹⁵, la frecuencia de infecciones por HBoV era del 3,1%. Poco después, otros investigadores en Australia¹⁷, Japón¹⁸, Canadá²⁰ y Francia¹⁹, publicaron series en las que HBoV suponía el 5,6, 5,7, 1,5 y 4,4% de las infecciones respiratorias, respectivamente. Estudios posteriores han arrojado cifras de frecuencia muy similares^{22,24}. En cambio, en dos estudios realizados en Alemania²⁵ y en Sudáfrica²¹ en niños hospitalizados, se encontró HBoV en el 10,3 y 11% de los casos. Muy recientemente, se han descrito dos series, una en Jordania²³, en la que se describieron 57 infecciones por HBoV en una muestra de 326 niños menores de 5 años, lo que suponía un 18,3% del total y otra en Finlandia en la que la incidencia de HBoV fue de 19%³⁰. Estas cifras concuerdan con la observada por nuestro grupo. Existen varias posibles explicaciones para la mayor frecuencia de HBoV encontrada en nuestro estudio en comparación con algunos de los previos. En primer lugar, es posible que existan diferencias regionales o estacionales en la incidencia de las infecciones por HBoV. Por otro lado, algunos estudios han investigado la frecuencia de HBoV sólo en las muestras negativas para otros virus respiratorios^{18,20}. Dada la elevada proporción de coinfecciones encontrada en las series sueca (17,6%)¹⁵, australiana (55%)¹⁷ y en nuestros propios pacientes (75%), es muy probable que se pueda haber infravalorado la verdadera frecuencia de HBoV, al dejar sin diagnosticar las infecciones simultáneas de HBoV con otros virus respiratorios.

Con respecto a la frecuencia relativa de HBoV, en nuestra serie fue el tercero más frecuente, después de VRS y rinovirus. En la serie australiana¹⁷, HBoV fue el segundo virus en frecuencia, pero hay que tener en cuenta que en ese estudio no se realizó PCR para rinovirus y publicaciones previas han demostrado que el rinovirus es uno de los agentes virales más frecuentes en las infecciones respiratorias de los niños, ocupando el segundo puesto tras VRS^{31,32}. Nuestro estudio, en el que se ha investigado mediante RT-PCR múltiple descrita previamente por nuestro grupo, la presencia de VRS, adenovirus, influenza A, B y C, parainfluenza 1, 2, 3 y 4, y se ha realizado RT-PCR para hMPV, rinovirus y HBoV, puede suponer una aproximación bastante real a la frecuencia relativa de HBoV en las infecciones respiratorias graves de los niños, demostrando que es uno de los virus más frecuentes. No obstante nuestra serie está referida a una sola temporada y es conocida la variabilidad anual de las infecciones virales por lo que esta frecuencia debe confirmarse en estudios a más largo plazo.

Las infecciones por HBoV difieren del resto de las infecciones respiratorias al menos en un aspecto: la elevadísima frecuencia con la que coinfectan con otros virus respiratorios. En el 75% de las muestras positivas para HBoV, se detectó simultáneamente otro virus respiratorio, por orden de frecuencia: adenovirus, VRS, rinovirus y hMPV. Esta es una de las tasas de coinfecciones más elevadas descritas hasta ahora junto con la de la serie jordana, con coinfecciones en el 72% de los casos²³. En la serie australiana las infecciones mixtas fueron también muy frecuentes: 56%¹⁷, aunque el rinovirus no fue incluido en diagnóstico virológico. En otros estudios las tasas de coinfección, aunque elevadas, son considerablemente inferiores a las descritas por nuestro grupo, probablemente porque la metodología empleada es diferente. En la serie japonesa y americana²² sólo se investigó la presencia de HBoV en muestras negativas para otros virus, por lo que no se puede extraer ninguna conclusión acerca de las infecciones dobles o múltiples. Manning et al²⁴, en Edimburgo, empleando una PCR múltiple para la detección de VRS, influenza A y B, parainfluenza 1-3 y adenovirus encontraron coinfecciones en el 43% de las muestras positivas a HBoV. Esta cifra, aunque elevada, probablemente es inferior a la real ya que no se investigó la presencia de rinovirus ni de hMPV, con los que HBoV coinfecta frecuentemente. En los estudios llevados a cabo en en Sudáfrica²¹, Alemania³³ y Francia¹⁹ se encontraron infecciones simultáneas de HBoV con otros virus en el 37, 50 y 36%, respectivamente. En los tres estudios la técnica empleada para la detección de VRS, influenza A y B, parainfluenza 1-3 y adenovirus fue la inmunofluorescencia, bastante menos sensible que la PCR múltiple empleada por nuestro grupo y por los investigadores jordanos. En ninguno de ellos se tuvo en cuenta la presencia de rinovirus, que es uno de los virus que coinfecta con más frecuencia con HBoV y en el estudio alemán tampoco se investigó hMPV.

Nuestros resultados indican una mayor incidencia de las infecciones por HBoV en los meses de invierno y primavera. La mayoría de los casos descritos inicialmente en Suecia¹⁵ y Australia¹⁷ ocurrieron también en invierno. Todos los casos de la serie japonesa fueron diagnosticados desde junio a mayo¹⁸. En cambio, en la serie canadiense no se encontró predominio estacional en la circulación de HBoV. Estas discrepancias probablemente se explican porque el grupo de Canadá sólo investigó la presencia de HBoV en las muestras negativas para otros virus respiratorios. Teniendo en cuenta la elevada frecuencia de coinfección de HBoV con VRS y adenovirus, que circulan predominantemente en invierno, y rinovirus y hMPV que tienen un pico de incidencia en primavera^{11,34}, no es de extrañar que las muestras positivas para HBoV se detectaran en el estudio canadiense, fuera de estos períodos.

Curiosamente, un paciente ingresó en tres ocasiones distintas en misma temporada con sibilancias en el con-

texto de infección respiratoria y en los tres episodios se detectó HBoV. Igualmente, otra niña fue hospitalizada en dos temporadas distintas por una infección respiratoria de vías bajas y en las dos se identificó HBoV. Estos datos pueden reflejar la ausencia de inmunidad permanente tras las infecciones por HBoV, como ocurre con otros virus respiratorios, la dificultad en aclarar el virus de las vías respiratorias o bien la circulación de distintos genotipos del virus en la misma temporada.

La distribución de la edad de los pacientes infectados por HBoV en nuestra serie fue similar a la descrita previamente^{15,17,19}. La mayoría de las infecciones por HBoV ocurren entre los 6 meses y los 3 años de edad. Esta distribución etaria es compatible con protección frente a la infección en los primeros meses de vida por la transferencia de anticuerpos maternos. A buen seguro en los próximos años se realizarán estudios de seroprevalencia de anticuerpos frente a HBoV que aportarán luz en este campo.

Las manifestaciones clínicas asociadas más frecuentemente a la infección por HBoV fueron sibilancias recurrentes/exacerbación asmática, bronquiolitis y neumonía tanto en las infecciones sencillas como en las coinfecciones. En la misma línea apuntan los resultados de Allander et al³⁰ que en una serie de 259 niños hospitalizados por bronquiolitis o sibilancias recurrentes/exacerbación asmática, detectaron al menos un virus en el 95% de los casos, de los que el 19% correspondían a HBoV.

La mayoría de los niños (71%) presentó fiebre elevada, tal como también han comunicado varios estudios previos^{15,17,18,20} y más de la mitad presentaron hipoxia. También fue frecuente la presencia de infiltrado radiológico (44% en los que se realizó radiografía). Prácticamente la mitad de los niños con infección simple por HBoV recibieron tratamiento antibiótico. Esta elevada cifra contrasta con la tasa de antibioterapia comunicada en lactantes hospitalizados por infección respiratoria en publicaciones previas de nuestro grupo: 19% para niños con infección por hMPV, 13,6% para niños con infección por VRS³⁴ o 21% para infecciones por rinovirus³¹. Probablemente, la fiebre alta, la leucocitosis y la elevada frecuencia de infiltrado pulmonar, en ausencia de agente etiológico, motivaron que casi la mitad de los niños con infección simple por HBoV fueran tratados con antibiótico. Probablemente de haberse conocido en tiempo real la presencia de HBoV en el aspirado nasofaríngeo, se hubiera modificado la actitud terapéutica en muchos de estos pacientes.

Esta es la primera vez que se describe afectación sistémica grave con exantema cutáneo asociada a la infección por HBoV. Efectivamente 2 lactantes presentaron importante afectación del estado general, exantema petequeal y uno de ellos, hipotensión por lo que fue ingresado en la UCI, con la sospecha de sepsis. El reciente hallazgo de ADN viral en suero de niños con infecciones respirato-

rias por HBoV³⁰ apoya la idea de que HBoV pueda asociarse con manifestaciones sistémicas extrapulmonares. En un estudio previo se han descrito 5 casos de infección por HBoV con exantema maculopapular³⁵, pero en el contexto de un cuadro clínico más leve que el de nuestros pacientes. Dado que una típica enfermedad exantemática, como la quinta enfermedad, está producida por el parvovirus B19¹⁶, muy próximo genéticamente al HBoV, no es de extrañar que este virus pueda también manifestarse con exantema cutáneo.

Es muy complicado demostrar causalidad en los casos en los que se detecta HBoV o cualquier nuevo patógeno respiratorio. Los principios clásicos de Koch han quedado relegados debido a que muchos microorganismos que son claramente patógenos no cumplen dichos principios y a que es muy difícil disponer de modelos animales. Por otra parte, la inoculación controlada del virus a voluntarios sanos es cada vez más complicada por problemas éticos. Por tanto, la demostración de causalidad suele venir dada no por un único estudio, sino por la acumulación progresiva de evidencia en ese sentido y por la asociación consistente en el tiempo de un microorganismo con una enfermedad concreta o un grupo de enfermedades. La presencia en nuestro estudio de 15 pacientes con infección única por HBoV y con afectación clínica significativa, puede ser sugestiva del papel patogénico de este virus. En la misma dirección apuntan los resultados de Kessebir et al²², que incluyeron en su serie 96 niños sanos sin que en ninguno de ellos se detectara HBoV.

En conclusión, aunque son necesarios más estudios que confirmen el papel patogénico del HBoV, nuestros resultados parecen confirmar el carácter epidémico de la infección por HBoV y su importante papel como patógeno en las infecciones respiratorias pediátricas, especialmente en los niños menores de 2 años. En este grupo de edad, HBoV puede ser el tercer virus más frecuentemente asociado a infecciones respiratorias graves. Sus manifestaciones clínicas son similares a la de otros virus respiratorios, aunque también puede asociarse a cuadros febriles con exantema y posiblemente a otras manifestaciones extrapulmonares aún no descritas. Dada la elevada frecuencia y el importante impacto clínico de las infecciones por HBoV, parece necesario incorporar la detección rutinaria de este virus en el diagnóstico de las infecciones respiratorias graves de los niños, ya que ello mejoraría considerablemente la atención sanitaria de estos pacientes, evitando pruebas complementarias y tratamiento antibióticos en muchos casos innecesarios, así como la transmisión nosocomial del virus.

BIBLIOGRAFÍA

1. Chew FT, Doraisingham S, Ling AE, Kumarasinghe G, Lee BW. Seasonal trend of viral respiratory infections in the tropics. *Epidemiol Infect.* 1998;121:121-8.

2. Andreoletti L, Lesay M, Deschildre A, Lambert V, Dewilde A, Watre P. Differential detection of rhinoviruses and enteroviruses RNA sequences associated with classical immunofluorescence assay detection of respiratory virus antigens in nasopharyngeal swabs from infants with bronchiolitis. *J Med Virol*. 2000;61:341-6.
3. Johnston SL, Pattemore PK, Sanderson AG, Smith S, Lampe F, Josephs L, et al. Community study of role of viral infections in exacerbations of asthma in 9-11 year old children. *BMJ*. 1995; 310:1225-9.
4. Rawlinson WD, Waliuzzaman Z, Carter IW, Belessis IC, Gilbert KM, Morton JR. Asthma exacerbations in children associated with rhinovirus but not human metapneumovirus infection. *J Infect Dis*. 2003;187:1314-8.
5. Nicholson KG, Kent J, Ireland DC. Respiratory viruses and exacerbations of asthma in adults. *BMJ*. 1993;307:982-6.
6. Teichtahl H, Buckmaster N, Petrinkovs E. The incidence of respiratory tract infection in adults requiring hospitalization for asthma. *Chest*. 1997;112:591-6.
7. Seemungal T, Harper-Owen R, Bhowmik A, Moric I, Sanderson G, Message S. Respiratory viruses, symptoms, and inflammatory markers in acute exacerbations and stable chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med*. 2001; 164:1618-23.
8. Van den Hoogen BG, De Jong JC, Groen J, Kuiken T, De Groot R, Fouchier RA, et al. A newly discovered human pneumovirus isolated from young children with respiratory tract disease. *Nat Med*. 2001;7:719-24.
9. Esper F, Martinello R, Boucher D, Weibel C, Ferguson D, Landry ML, et al. A 1-year experience with human metapneumovirus in children aged < 5 years. *J Infect Dis*. 2004;189: 1388-96.
10. Jartti T, Van den Hoogen B, Garofalo RP, Osterhaus AD, Ruuskanen O. Metapneumovirus and acute wheezing in children. *Lancet*. 2002;360:1393-4.
11. Maggi F, Pifferi M, Vatteroni M, Fornai C, Tempestini E, Anziloti S, et al. Human metapneumovirus associated with respiratory tract infections in a 3-year study of nasal swabs from infant in Italy. *J Clin Microbiol*. 2003;41:2987-91.
12. Cuevas LE, Ben Nasser AM, Dove W, Gurgel RQ, Greensill J, Hart CA. Human metapneumovirus and respiratory syncytial virus, Brasil. *Emerg Infect Dis*. 2003;9:1626-8.
13. Vicente D, Cilla G, Montes M, Pérez-Trallero E. Human metapneumovirus and community-acquired respiratory illness in children. *Emerg Infect Dis*. 2003;9:602-3.
14. García-García ML, Calvo C, Martín F, Pérez-Breña P, Acosta B, Casas I. Prevalence and clinical characteristics of human metapneumovirus infections in hospitalized infants in Spain. *Pediatr Pulmonol*. 2006;41:863-71.
15. Allander T, Tammi M, Ericsson A, Bjerkner A, Tiveljung-Lindell, Andersson B. Cloning of a human parvovirus by molecular screening of respiratory tract samples. *Proc Natl Acad Sci*. 2005;102:12891-6.
16. Heegaard E, Brown K. Human parvovirus B19. *Clin Microbiol Rev*. 2002;15:485-505.
17. Sloots T, McErlean P, Speicher D, Arden K, Nissen M, Mackay I. Evidence of human coronavirus HKU1 and human bocavirus in Australian children. *J Virol*. 2005;35:9-102.
18. Ma X, Endo R, Ishiguro N, Ebihara T, Ishiko H, Ariga T, et al. Detection of human bocavirus in Japanese children with lower respiratory tract infections. *J Clin Microb*. 2006;44:1132-4.
19. Foulongne V, Rodière M, Segondy M. Human bocavirus in children. *Emerg Infect Dis*. 2006;12:862-3.
20. Bastien N, Brandt K, Dust K, Ward D, Li Y. Human bocavirus infection, Canada. *Emerg Infect Dis*. 2006;12:848-50.
21. Smuts H, Hardie E. Human bocavirus in hospitalized children, South Africa. *Emerg Infect Dis*. 2006;12:1457-8.
22. Kesebir D, Vázquez M, Weibel C, Shapiro ED, Ferguson D, Landry ML, et al. Human bocavirus infection in young children in the United States: Molecular epidemiological profile and clinical characteristics of a newly emerging respiratory virus. *J Infect Dis*. 2006;194:1276-82.
23. Kaplan N, Dove W, Abu-Zeid A, Shamooh H, Abd-Eldayem S, Hart A. Human bocavirus infection among children, Jordan. *Emerg Infect Dis J*. 2006;12:1418-9.
24. Manning A, Russell V, Eastick K, Leadbetter G, Halam N, Templeton K, et al. Epidemiological profile and clinical associations of human bocavirus and other human parvoviruses. *J Infect Dis*. 2006;194:1283-90.
25. Weissbrich B, Neske F, Schubert J, Tollmann F, Blath K, Blesing K, et al. Frequent detection of bocavirus DNA in German children with respiratory tract infections. *BMC Infect Dis*. 2006;6:109.
26. McConochie K. Bronchiolitis. What's in the name? *Am J Dis Child*. 1983;137:11-3.
27. Coiras MT, Pérez-Brena P, García ML, Casas I. Simultaneous detection of influenza A, B, and C viruses, respiratory syncytial virus, and adenoviruses in clinical samples by multiplex reverse transcription nested-PCR assay. *J Med Virol*. 2003;69: 132-44.
28. Corias MT, Aguilar JC, García ML, Casas I, Pérez-Brena P. Simultaneous detection of fourteen respiratory viruses in clinical specimens by two multiplex reverse transcription nested-PCR assays. *J Med Virol*. 2004;72:484-95.
29. García García ML, Calvo Rey C, Martín del Valle F, López Huer-tas MR, Casas Flecha I, Díaz-Delgado R, et al. Infecciones respiratorias por metapneumovirus en lactantes hospitalizados. *An Pediatr (Barc)*. 2004;61:213-8.
30. Allander T, Jartti T, Gupta S, Niesters H, Lehtinen P, Österback R, et al. Human bocavirus and acute wheezing in children. *Clin Infect Dis*. 2007;44:904-10.
31. Calvo Rey C, García García ML, Casas Flecha I, Faustino Sánchez M, Rodrigo García G, De Cea Crespo JM, et al. Papel del rinovirus en las infecciones respiratorias en niños hospitalizados. *An Pediatr (Barc)*. 2006;65:205-10.
32. Papadopoulus NG, Moustki M, Tsolia M, Bossios A, Astra E, Prezerakou A, et al. Association of rhinovirus infection with increased disease severity in acute bronchiolitis. *Am J Respir Crit Care Med*. 2002;165:1285-9.
33. Kleines M, Scheithauer S, Rackowitz A, Ritter K, Häusler M. High prevalence of human bocavirus detected in young children with severe a lower respiratory tract disease by use of a standard PCR protocol and a novel real-time PCR protocol. *J Clin Microb*. 2007;45:1032-4.
34. García-García ML, Calvo C, Martín F, Pérez-Brena P, Acosta B, Casas I. Human metapneumovirus infections in hospitalised infants in Spain. *Arch Dis Child*. 2006;91:290-5.
35. Arnold J, Singh K, Spector S, Sawyer M. Human bocavirus: prevalence and clinical spectrum at a children's hospital. *Clin Infect Dis*. 2006;43:283-8.