

## ORIGINAL

# Las coinfecciones entre gripe y otros virus respiratorios están asociadas a los niños



Ivan Sanz<sup>a,\*</sup>, Diana Perez<sup>a</sup>, Silvia Rojo<sup>a,b</sup>, Marta Domínguez-Gil<sup>a,c</sup>,  
Raúl Ortiz de Lejarazu<sup>a</sup> y José María Eiros<sup>a,b,c</sup>

<sup>a</sup> Centro Nacional de Gripe de Valladolid, Edificio Rondilla, Hospital Clínico Universitario de Valladolid, Valladolid, España

<sup>b</sup> Unidad de Virología, Servicio de Microbiología e Inmunología, Hospital Clínico Universitario de Valladolid, Valladolid, España

<sup>c</sup> Servicio de Microbiología, Hospital Universitario Río Hortega, Valladolid, España

Recibido el 12 de noviembre de 2020; aceptado el 11 de diciembre de 2020

Disponible en Internet el 18 de marzo de 2021

## PALABRAS CLAVE

Coinfecciones;  
Virus respiratorios;  
Gripe;  
Niños;  
Infecciones  
respiratorias;  
Muestras respiratorias

## Resumen

**Introducción:** Las coinfecciones por gripe y otros virus respiratorios (OVR) durante las epidemias gripales son frecuentes. El objetivo de este estudio es examinar las variables demográficas y virológicas relacionadas con las coinfecciones entre la gripe y OVR.

**Materiales y métodos:** En este estudio se analizaron muestras respiratorias de 8 epidemias gripales consecutivas (desde la temporada 2011-2012 hasta la temporada 2018-2019), en las que se había detectado un resultado positivo de gripe mediante test en laboratorio. Analizamos los datos objetivándolos frente a diferentes variables: edad, sexo, tipo de paciente (hospitalizado/centinela) y tipo/subtipo de gripe detectada.

**Resultados:** Las coinfecciones entre gripe y OVR se detectaron en el 17,8% de los casos positivos de gripe. En los niños de entre 0-4 años (OR: 2,7; IC 95%: 2,2-3,4), los niños de entre 5-14 años (OR: 1,6; IC 95%: 1,2-2,1) y los pacientes infectados por el subtipo A(H3N2) (OR: 1,4; IC 95%: 1,14-1,79), se detectó una probabilidad significativamente mayor de detectar estas coinfecciones. Además, observamos que las coinfecciones entre gripe y 2 o más OVR fueron llamativamente más frecuentes en niños de 0-4 años (OR: 0,5; IC 95%: 0,32-0,8), en adultos de entre 40-64 años (OR: 0,5; IC 95%: 0,3-0,9) y en mujeres (OR: 0,7; IC 95%: 0,5-0,9).

**Discusión:** Estos resultados muestran que las coinfecciones entre gripe y OVR son más frecuentes en niños de 0-4 años y de 5-14 años, y en los casos en los que el subtipo A(H3N2) está implicado. Estos datos pueden ser útiles para enfocar el diagnóstico mediante métodos *multiplex* en aquellos laboratorios que posean pocos recursos económicos y humanos.

© 2022 Asociación Española de Pediatría. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Este es un artículo Open Access bajo la licencia CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

\* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: [isanzm@saludcastillayleon.es](mailto:isanzm@saludcastillayleon.es) (I. Sanz).

**KEYWORDS**

Coinfection;  
Respiratory viruses;  
Influenza;  
Children;  
Respiratory  
infections;  
Respiratory samples

**Coinfections of influenza and other respiratory viruses are associated to children****Abstract**

**Introduction:** Coinfections of influenza and other respiratory viruses (ORVs) are frequent in the epidemic season. The aim of this study was to examine the demographic and virological variables associated with coinfections by influenza and ORVs.

**Materials and methods:** We analysed respiratory samples of patients with laboratory-confirmed influenza using molecular diagnostic methods obtained in 8 consecutive influenza seasons (2011-2012 to 2018-2019). We analysed data focusing on different variables: age, sex, type of patient (hospitalized/sentinel) and detected type/subtype of influenza.

**Results:** Coinfections of influenza and ORVs were detected in 17.8% of influenza-positive samples. The probability of detecting coinfection was significantly higher in young children (0-4 years; OR: 2.7; 95% CI: 2.2-3.4), children (5-14 years; OR: 1.6; 95% CI: 1.2-2.1) and patients infected with the A(H3N2) subtype (OR: 1.4; 95% CI: 1.14-1.79). Also, we found a significantly higher frequency of coinfections involving influenza and 2 or more other respiratory viruses in young children (0-4 years; OR: 0.5; 95% CI: 0.32-0.8), adults (40-64 years; OR: 0.5; 95% CI: 0.3-0.9) and women (OR: 0.7; 95% CI: 0.5-0.9).

**Discussion:** These results show that coinfections of influenza and ORVs are more frequent in young children and children, and in cases involving the A(H3N2) influenza subtype. Our findings can be useful to guide the use of multiplex diagnostic methods in laboratories with limited resources.

© 2022 Asociación Española de Pediatría. Published by Elsevier España, S.L.U. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

**Introducción**

La gripe es una enfermedad respiratoria que da lugar a epidemias en los meses invernales. No obstante, durante estas epidemias también circulan otros virus respiratorios (OVR), como los coronavirus humanos (hCoV), los rinovirus y el virus respiratorio sincitial (VRS)<sup>1</sup>. Esta cocirculación hace que la detección de coinfecciones entre la gripe y OVR sea frecuente<sup>2,3</sup>.

Actualmente, el diagnóstico microbiológico de virus respiratorios se realiza principalmente mediante técnicas moleculares. Entre estos métodos, la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) *multiplex* permite la detección de distintos microorganismos en la misma muestra<sup>4</sup>. De hecho, en los últimos años ha habido una proliferación de diversas técnicas moleculares de diagnóstico sindrómico. No obstante, no todos los laboratorios tienen las mismas instalaciones, capacidad y recursos económicos y humanos para implantar estas técnicas *multiplex*, y algunos se ven limitados a emplear métodos distintos y más simples que solo pueden detectar la gripe o, como mucho, un virus respiratorio más en la misma reacción, generalmente el VRS.

La relevancia de la detección de coinfecciones entre la gripe y OVR no está clara. En la edad pediátrica, algunos estudios muestran que la coinfección no está relacionada con la gravedad<sup>5-7</sup>, aunque otros estudios sí han encontrado asociación con una gravedad mayor, especialmente en los casos en que están involucrados el VRS o el rinovirus<sup>8-13</sup>. En adultos, parece haber mayor consenso sobre la importancia de estas coinfecciones, sobre todo en pacientes en situaciones clínicas particulares, como la inmunosupresión<sup>14-17</sup>.

El objetivo del estudio se fijó en describir los factores demográficos y virológicos asociados a la probabilidad de detectar coinfecciones entre la gripe y OVR mediante métodos de PCR *multiplex*, y determinar qué pacientes se beneficiarían más del uso de estos métodos de detección.

**Materiales y métodos**

Estudio observacional retrospectivo con inclusión de 3.623 muestras respiratorias (lavado nasofaríngeo en niños < 2 años y frotis nasofaríngeo en niños y en personas mayores de 18 años) de pacientes con gripe confirmada por laboratorio mediante PCR en tiempo real *multiplex* durante 8 temporadas de la gripe consecutivas (2011-2012 a 2018-2019). Las muestras respiratorias se recogieron de pacientes ingresados en distintos hospitales de Castilla y León, España, y de pacientes ambulatorios atendidos en centros participantes en la Red Centinela Sanitaria de Castilla y León. Las pruebas de identificación viral se llevaron a cabo en el Centro Nacional de Gripe-Unidad de Microbiología del Hospital Clínico Universitario de Valladolid, España. Para cada paciente se recogieron las variables demográficas (edad, sexo y tipo de paciente [hospitalizado/centinela]) y virológicas (tipo/subtipo del virus de la gripe [H1, H3 y B], OVR en coinfección) de las peticiones de pruebas de laboratorio. La coinfección se definió como la detección en una única muestra de uno o más virus respiratorios adicionales junto con el virus de la gripe. El estudio se realizó de acuerdo con los principios de la Declaración de Helsinki, y no requirió consentimiento informado debido al uso clínico y diagnóstico de las muestras empleadas.

## Métodos

La detección de virus respiratorios se realizó con el sistema Luminex® 200 y reactivos RVP XTAG® Fast v2 entre 2011 y 2015, y con el sistema de detección MAGPIX® con reactivos NxTAG-RPP de 2016 a 2019 (Luminex®, Austin, Tejas, EE. UU.). Esta técnica de PCR *multiplex* utiliza una batería de cebadores para la amplificación del material genético, a lo que sigue la hibridación mediante microesferas etiquetadas para su detección en el equipo MAGPIX®<sup>18</sup>. Los reactivos empleados detectan los siguientes virus respiratorios: adenovirus, bocavirus, hCoV-HKU1, hCoV-NL63, hCoV-OC43, hCoV-229E, metapneumovirus, rinovirus/enterovirus, influenza A, subtipos A(H1N1)pdm09 y A(H3N2), influenza B, parainfluenza 1, 2, 3 y 4, y VRS A y B. El sistema de detección Luminex® no puede diferenciar entre el enterovirus y el rinovirus, por lo que se presentan como una única diana diagnóstica.

## Análisis estadístico

El análisis estadístico se realizó en función de los parámetros demográficos y virológicos recogidos en las peticiones de pruebas de laboratorio, como la edad, el sexo, el tipo de paciente y el tipo/subtipo de gripe detectado. La muestra se dividió en 5 grupos de edad empleados comúnmente en estudios sobre la gripe y OVR: niños pequeños (0-4 años), niños (5-14 años), jóvenes adultos (15-39 años), adultos (40-64 años) y ancianos ( $\geq 65$  años). Se empleó la prueba de Mann-Whitney para comparar la edad mediana en pacientes coinfectados y no coinfectados. La asociación entre las variables de estudio independientes (demográficas y virológicas) y la presencia de coinfección se analizó por medio de un modelo de regresión logística multivariante, expresando los resultados mediante la *odds ratio* ( $\exp(B)$ ). El análisis estadístico se realizó con el *software* SPSS® versión 20, con un nivel  $\alpha$  de 0,05.

## Resultados

### Características de la muestra y las infecciones por virus de la gripe

Durante el seguimiento se analizaron un total de 17.708 muestras respiratorias, de las que 3.623 (20,5%) fueron positivas para la gripe. De estas últimas, 1.808 (49,9%) correspondieron al subtipo A(H3N2), 971 (26,8%) al subtipo A(H1N1)pdm09 y 844 (23,3%) al tipo B. La mediana de edad en la muestra fue de 50,0 años (rango intercuartílico [RIC]: 66). El 51,2% de los pacientes fueron varones, y el 74,0% fueron hospitalizados. La mayor frecuencia de muestras positivas para el virus de la gripe se encontró en el grupo de  $\geq 65$  años ( $n = 1.311$ ; 36,2%), y la más baja en el grupo de 15-19 años ( $n = 382$ ; 10,5%) (tabla 1). El subtipo A(H3N2) fue el predominante en todos los grupos, con una proporción superior en comparación con el resto de los virus de la gripe en el grupo de  $\geq 65$  años ( $n = 807$ ; 61,6%), y una proporción similar a la del tipo B en el grupo de 5-14 años (A(H3N2):  $n = 223$  [42,4%]; B:  $n = 206$  [39,1%]).

### Coinfecciones entre gripe y otros virus respiratorios

En el período de estudio se detectaron 645 coinfecciones de gripe y ORV (17,8% del total de casos detectados de gripe). Dentro de los casos de coinfección, 490 (76,0%) involucraron un solo virus respiratorio adicional y 155 (24,0%) 2 o más virus respiratorios además de la gripe. El virus detectado más frecuentemente en coinfección con cualquier tipo de virus de la gripe fue rinovirus/enterovirus ( $n = 160$ ; 24,8%), seguido del VRS ( $n = 155$ ; 24,0%), el bocavirus ( $n = 123$ ; 19,1%) y los hCoV ( $n = 118$ ; 18,3%).

El análisis por edad reveló que la mediana de edad era mayor en los pacientes sin coinfección (41,0; RIC: 58) en comparación con los pacientes con coinfección (23,0; RIC: 68) (Mann-Whitney *U*;  $p < 0,05$ ). Las coinfecciones entre gripe y OVR fueron más comunes en niños pequeños de 0-4 años ( $n = 199$ ; 30,8%) y niños de 5-14 años ( $n = 109$ ; 20,7%) en comparación con otros grupos de edad (tabla 2). Además, las coinfecciones entre gripe y 2 o más virus respiratorios adicionales fueron más comunes en niños pequeños ( $n = 53$ ; 26,6%), con una frecuencia similar en niños ( $n = 15$ ; 13,8%) y en el resto de las edades. El virus detectado en coinfección con gripe con mayor frecuencia varió según el grupo de edad; así, bocavirus fue el que se detectó con mayor frecuencia en niños pequeños de 0-4, rinovirus/enterovirus en niños de 5-14 años y jóvenes adultos de 15-39 años, los hCoV en adultos de 40-64 años y el VRS en ancianos  $\geq 65$  años.

La proporción de pacientes con coinfección entre gripe y OVR fue mayor en varones ( $n = 354$ ; 19,1%) que en mujeres ( $n = 291$ ; 16,4%), aunque un porcentaje mayor de mujeres que de varones tuvieron coinfecciones entre gripe y 2 o más virus respiratorios adicionales ( $n = 69$ ; 24,0%). La frecuencia de la coinfección entre gripe y OVR fue similar en pacientes hospitalizados ( $n = 483$ ; 18,0%) y pacientes de centros centinela ( $n = 162$ ; 17,2%), aunque la proporción de coinfección con 2 o más virus respiratorios fue mayor en pacientes hospitalizados ( $n = 108$ ; 22,4%). El virus de la gripe A(H3N2) fue el subtipo involucrado con mayor frecuencia en coinfecciones con OVR ( $n = 356$ ; 19,7%), mientras que el subtipo A(H1N1)pdm09 fue el involucrado con mayor frecuencia en coinfecciones con 2 o más virus respiratorios adicionales ( $n = 32$ ; 21,1%).

### Análisis de factores asociados con la coinfección entre gripe y otros virus respiratorios

Para analizar las variables asociadas con la coinfección entre la gripe y OVR, se realizó un análisis multivariante (log-Bin), incluyendo como variables independientes la edad, el sexo, el tipo de paciente (hospitalizado/centinela) y el tipo/subtipo del virus de la gripe detectado. El análisis multivariante se centró en 3 aproximaciones distintas: la primera (A) enfocada a identificar las variables asociadas con un aumento en la probabilidad de detección de coinfección entre gripe y al menos un virus respiratorio adicional, la segunda (B) enfocada a identificar con un aumento en la probabilidad de detección de coinfección con un solo virus respiratorio adicional, y la tercera (C) enfocada a

**Tabla 1** Edad mediana (RIC), número y porcentaje de muestras positivas para el virus de la gripe, y tipo/subtipo detectado por grupo de edad estudiado

Grupo de edad	Edad mediana (RIC)	Muestras gripe	%	Virus de la gripe detectado		
				A(H3N2)n (%)	A(H1N1)pdm09n (%)	B n (%)
0-4 años	2,0 (2,0)	647	17,9	260 (40,1)	222 (34,3)	165 (25,6)
5-14 años	8,0 (5,0)	526	14,5	223 (42,4)	97 (18,5)	206 (39,1)
15-39 años	32,0 (12,0)	382	10,5	183 (47,9)	118 (30,9)	81 (21,2)
40-64 años	52,0 (11,0)	757	20,9	335 (44,3)	266 (35,1)	156 (20,6)
≥ 65 años	79,0 (14,0)	1.311	36,2	807 (61,6)	268 (20,4)	236 (18,0)

RIC: rango intercuartílico.

**Tabla 2** Número y porcentaje de muestras positivas con detección de coinfección por uno, 2 o más virus respiratorios adicionales en cada categoría. También se muestra el virus detectado con mayor frecuencia en coinfección con gripe para cada variable de estudio

Factor	Total muestras, n	Muestras sin coinfección, n (%)	Muestras con coinfección, n (%)	Coinfección con un virus, n (% de coinfectados)	Coinfección con ≥ 2 virus, n (% de coinfectados)	Virus detectado con mayor frecuencia en las coinfecciones, n (% de coinfectados)
<i>Edad</i>						
0-4 años	647	448 (69,2)	199 (30,8)	146 (73,4)	53 (26,6)	Bocavirus, 67 (33,6)
5-14 años	526	417 (79,3)	109 (20,7)	94 (86,2)	15 (13,8)	Enterovirus/rinovirus, 34 (31,2)
15-39 años	382	337 (88,2)	45 (11,8)	37 (82,2)	8 (17,8)	Coronavirus, 13 (28,9)
40-64 años	757	663 (87,6)	94 (12,4)	79 (84,0)	15 (16,0)	Enterovirus/rinovirus, 26 (27,7)
≥ 65 años	1.311	1.113 (84,9)	198 (15,1)	164 (82,8)	34 (17,2)	VRS, 62 (31,3)
<i>Sexo</i>						
Varón	1.854	1.500 (80,9)	354 (19,1)	301 (85,0)	50 (15,0)	Enterovirus/rinovirus, 96 (27,1)
Mujer	1.769	1.478 (83,6)	291 (16,4)	221 (76,0)	69 (24,0)	VRS, 77 (26,5)
<i>Tipo de paciente</i>						
Hospitalizado	2.681	2.198 (82,0)	483 (18,0)	375 (77,6)	108 (22,4)	VRS, 127 (26,3)
Centinela	942	780 (82,8)	162 (17,2)	137 (84,6)	25 (15,4)	Enterovirus/rinovirus, 57 (35,1)
<i>Tipo/subtipo gripe</i>						
A(H3N2)	1.808	1.452 (80,3)	356 (19,7)	289 (81,2)	67 (18,8)	Enterovirus/rinovirus, 102 (28,7)
A(H1N1)pdm09	971	819 (84,4)	152 (15,6)	120 (78,9)	32 (21,1)	Enterovirus/rinovirus, 35 (23,0)
B	844	707 (83,8)	137 (16,2)	115 (83,9)	22 (16,1)	VRS, 33 (24,1)

VRS: virus respiratorio sincitial.

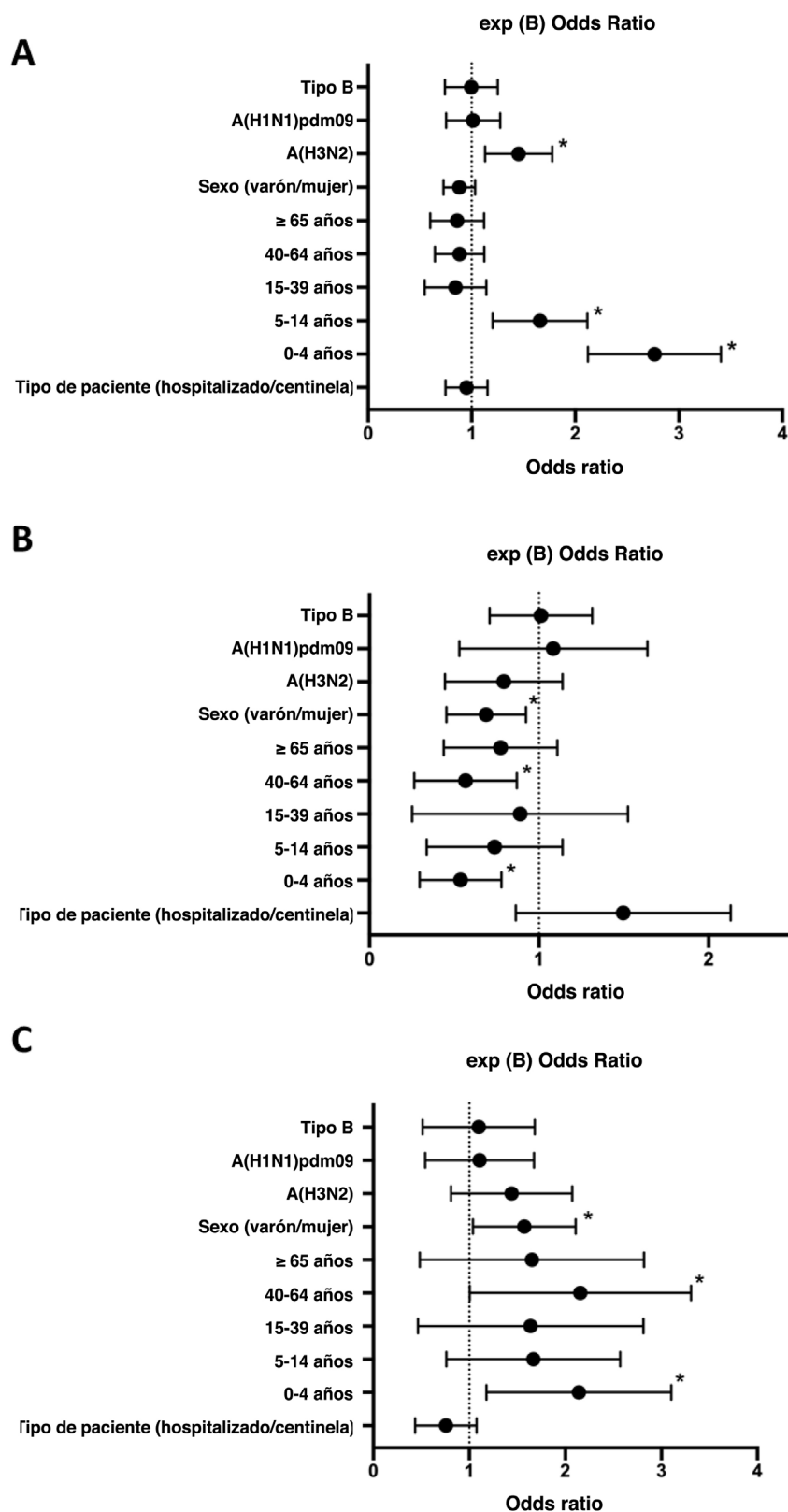
identificar con un aumento en la probabilidad de detección de coinfección con 2 o más virus respiratorios adicionales.

El modelo multivariante fue significativo en las 3 aproximaciones ( $p < 0,05$ ). La aproximación (A) encontró una mayor probabilidad de detectar coinfección entre gripe y al menos un virus respiratorio adicional en caso de infección por el subtipo A(H3N2) (OR: 1,4; intervalo de confianza del 95% [IC 95%]: 1,14-1,79), en niños pequeños de 0-4 años (OR: 2,7; IC 95%: 2,2-3,4) y en niños de 5-14 años (OR: 1,6; IC 95%: 1,2-2,1) ( $p < 0,05$ ) ( $R^2 = 0,03-0,05$ ) (fig. 1). La aproximación (B) encontró una probabilidad menor de detectar coinfección entre gripe y un único virus respiratorio adicional en niños pequeños de 0-4 años (OR: 0,5; IC 95%: 0,32-0,8), en adultos de 40-64 años (OR: 0,5; IC 95%: 0,3-0,9) y en mujeres (OR: 0,7; IC 95%: 0,5-0,9) ( $p < 0,05$ ) ( $R^2 = 0,03-0,04$ ). Por otro lado, la aproximación (C), encontró una probabilidad

mayor de detectar coinfección entre el virus de la gripe y 2 o más virus respiratorios adicionales en niños pequeños de 0-4 años (OR: 2,0; IC 95%: 1,3-3,2), en adultos de 40-64 años (OR: 2,0; IC 95%: 1,1-3,4) y en mujeres (OR: 1,5; IC 95%: 1,1-2,1) ( $p < 0,05$ ) ( $R^2 = 0,03-0,4$ ). En estas 3 aproximaciones no se identificaron diferencias significativas en ninguna otra variable.

## Discusión

En el diagnóstico etiológico de las enfermedades respiratorias infecciosas, es frecuente que no se tomen en cuenta las coinfecciones entre varios virus para filiar el origen de la enfermedad<sup>19</sup>. Aun así, la detección de coinfección entre gripe y varios virus respiratorios es frecuente durante las temporadas epidémicas cuando el diagnóstico se realiza por



**Figura 1** Forest plots del análisis multivariante (logBin) de cada una de las 3 aproximaciones, expresándose los valores del exp(B) con intervalo de confianza del 95% para cada variable como *odds ratio*. A) Probabilidad de coinfección entre gripe y, al menos, un virus respiratorio adicional; B) Probabilidad de coinfección entre gripe y un único virus respiratorio adicional; C) Probabilidad de coinfección entre gripe y 2 o más virus respiratorios adicionales. \* $p < 0,05$ .

medio de técnicas moleculares *multiplex*<sup>19,20</sup>, por lo que esta posibilidad ha de tenerse en cuenta. Nuestro estudio muestra que las coinfecciones entre la gripe y OVR estaban presentes en aproximadamente 2 de cada 10 pacientes (17,8%) con resultados positivos para el virus de la gripe, demostrando que estas coinfecciones son relativamente frecuentes durante las temporadas de gripe. En la mayoría de los pacientes coinfectados (76,0%) se detectó coinfección entre gripe y un solo virus respiratorio adicional, mientras que en el restante 24,0% se detectó coinfección entre gripe y 2 o más virus respiratorios adicionales. Otros estudios han encontrado tasas similares de coinfección (4-33%)<sup>20-25</sup>.

Nuestros hallazgos muestran que los virus respiratorios detectados más frecuentemente en coinfección con la gripe fueron el rinovirus/enterovirus (24,0%), el VRS (19,1%), el bocavirus (19,1%) y el coronavirus humano (18,3%). Estos virus se encuentran entre los más prevalentes durante todo el año, especialmente en los meses invernales en el hemisferio norte<sup>1</sup>, y otros estudios han reportado porcentajes similares<sup>24</sup>. El protocolo de PCR empleado en nuestro estudio no es capaz de diferenciar entre rinovirus y enterovirus, por lo que no se pudo establecer con certeza la proporción de cada uno de estos géneros virales en las infecciones respiratorias correspondientes. No obstante, en un estudio previo realizado por nuestro grupo, los rinovirus estaban implicados en más del 90% de estas muestras, y es de esperar que esa proporción se haya mantenido en el presente estudio<sup>26</sup>.

El virus respiratorio detectado más comúnmente en coinfección con el virus de la gripe varió según la edad. El bocavirus fue el más detectado en niños pequeños de 0-4 años, el rinovirus/enterovirus en niños de 5-14 años y jóvenes adultos de 15-39 años, los hCoV en adultos de 40-64 años y el VRS en ancianos de  $\geq 65$  años. En algunos estudios anteriores, el rinovirus fue el virus detectado con mayor frecuencia en coinfecciones entre gripe y OVR<sup>12</sup>. Los rinovirus juegan un papel clínico relevante en enfermedades del tracto respiratorio tanto superior como inferior, y son la causa más frecuente de neumonía en adultos<sup>27</sup>, y la segunda más frecuente de neumonía en niños<sup>28</sup>. Sin embargo, estudios previos realizados en España muestran que el VRS es el virus detectado con mayor frecuencia junto con la gripe, sobre todo en pacientes jóvenes<sup>24</sup>. En cualquier caso, en nuestro estudio la mayor proporción de coinfección con VRS se observó en el grupo de  $\geq 65$  años, lo que sugiere que este virus ha de contemplarse en adultos, y no solo en niños<sup>29</sup>.

Por otro lado, en 2020, la pandemia causada por el SARS-CoV-2 ha subrayado el importante papel de los hCoV en las enfermedades respiratorias. Nuestros datos muestran que los hCoV fueron los virus detectados con mayor frecuencia en coinfecciones de la gripe en adultos de 40-64 años, que es uno de los grupos de edad más afectados por la COVID-19 en esta pandemia<sup>30,31</sup>. La posible concurrencia de la gripe, OVR y el SARS-CoV-2 ha de tenerse en consideración en años venideros, sobre todo en los grupos más vulnerables. Aunque nuestros hallazgos muestran que los hCoV se detectan en coinfección con la gripe en pacientes adultos, no fue posible evaluar el posible papel del SARS-CoV-2. En cualquier caso, ya se han publicado algunos estudios sobre la coinfección entre gripe y el SARS-CoV-2 que sugieren que estas coinfecciones podrían ser frecuentes y asociarse a una mayor gravedad en ciertos casos<sup>32,33</sup>.

Nuestros resultados muestran una asociación clara entre la coinfección y la edad. El análisis multivariante mostró que la detección de coinfección entre gripe y OVR fue 2,7 veces más frecuente en niños pequeños y 1,6 veces más frecuente en niños. Además, la coinfección también parece estar asociada al subtipo de la gripe involucrado, ya que las coinfecciones con OVR fueron 1,4 veces más frecuentes en pacientes con infección por el subtipo A(H3N2).

La mayor probabilidad de detección de coinfección en los pacientes más jóvenes se podría explicar de varias maneras. Una posibilidad es la inmadurez del sistema inmune de los niños en comparación con adultos, lo que incrementaría la probabilidad de ser infectado por varios virus respiratorios al mismo tiempo<sup>34-36</sup>. También está la mayor interacción entre niños en el entorno escolar, que también aumenta la probabilidad de exposición a distintos virus<sup>13,37</sup>. La mayor proporción de pacientes con el subtipo A(H3N2) en los casos de coinfección podría explicarse por la mayor virulencia de este subtipo en comparación con otros virus de la gripe<sup>38,39</sup>. Debido a su mayor virulencia, este subtipo puede causar alteraciones en las células epiteliales, menoscabando la respuesta inmune y promoviendo la infección por OVR y bacterias<sup>40</sup>. No obstante, este aspecto requiere más investigación.

Nuestros datos también demuestran que la prevalencia de coinfección con 2 o más virus respiratorios adicionales era 2 veces más frecuente en niños pequeños y adultos, y 1,5 veces más frecuente en mujeres. Las coinfecciones con 2 o más virus respiratorios adicionales fueron particularmente frecuentes en mujeres adultas (40-64 años). Una posible explicación sería el mayor contacto de las mujeres con niños, que también mostraron una mayor frecuencia de coinfecciones múltiples, debido a su mayor implicación en el cuidado de estos últimos en comparación con los hombres<sup>41</sup>. De hecho, la Organización Mundial de la Salud sugiere que este factor tiene más peso que las diferencias en la inmunidad asociadas al sexo<sup>42</sup>. En cualquier caso, las muestras incluidas no fueron suficientes para analizar este aspecto en profundidad, por lo que se necesita investigación adicional en el futuro. Por otro lado, el tipo de paciente (hospitalizado/centinela) no pareció ser un factor asociado a la probabilidad de detección de coinfección entre gripe y OVR.

Una de las principales limitaciones del estudio fue su diseño retrospectivo, que hacía imposible evaluar variables relacionadas con la evolución de los pacientes incluidos, como por ejemplo la duración de la enfermedad, el ingreso en cuidados intensivos o la mortalidad. Son necesarios estudios adicionales para analizar detalladamente estas variables de resultado y su asociación con la presencia de coinfección entre gripe y ORV. Una de las principales fortalezas del estudio es que analizó múltiples temporadas de la gripe, lo que compensó la variabilidad intrínseca en cada temporada y permitió obtener información más precisa sobre los factores implicados realmente en la coinfección, como la edad.

En resumen, nuestro estudio encontró que las coinfecciones entre gripe y OVR se detectaron en casi 2 de cada 10 casos de gripe confirmada por laboratorio, y que las coinfecciones fueron más frecuentes en niños pequeños (0-4 años), niños (5-14 años) y pacientes con infección por el subtipo A(H3N2) de la gripe. El virus detectado más frecuentemente

en coinfección con la gripe varió según el grupo de edad, y los hCoV fueron los detectados con mayor frecuencia en adultos (40-64 años). Aunque el sexo del paciente no se asoció a una incidencia mayor de coinfección, se observó una mayor frecuencia de coinfección entre gripe y 2 o más OVR en mujeres, probablemente debido a su mayor implicación en el cuidado de niños, ya que estos mostraron las tasas más altas de coinfección, tanto por un único como por múltiples virus respiratorios adicionales. Estos resultados podrían ser de utilidad para guiar el uso de PCR *multiplex* para el diagnóstico de virus respiratorios durante la temporada de la gripe en laboratorios con pocos recursos.

## Financiación

Esta investigación no recibió ninguna financiación específica para su realización, ni de entidades públicas ni privadas.

## Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

## Bibliografía

- Moe N, Pedersen B, Nordbø SA, Skanke LH, Krokstad S, Smyrniaios A, et al. Respiratory Virus Detection and Clinical Diagnosis in Children Attending Day Care. *PLoS One*. 2016;11:e0159196.
- Subramoney K, Hellferscee O, Pretorius M, Tempia S, McMorro M, Gottberg A. von, et al. Human bocavirus, coronavirus, and polyomavirus detected among patients hospitalised with severe acute respiratory illness in South Africa, 2012 to 2013. *Health Sci Rep*. 2018;1:e59.
- Lagare A, Ousmane S, Dano ID, Issaka B, Issa I, Mainassara HB, et al. Molecular detection of respiratory pathogens among children aged younger than 5 years hospitalized with febrile acute respiratory infections: A prospective hospital-based observational study in Niamey, Niger. *Health Sci Rep*. 2019;2:e137.
- Chan M, Koo SH, Jiang B, Lim PQ, Tan TY. Comparison of the Bio-fire FilmArray Respiratory Panel, Seegene AnyplexII RV16, and Argene for the detection of respiratory viruses. *J Clin Virol*. 2018;106:13-7.
- Martínez-Roig A, Salvadó M, Caballero-Rabasco MA, Sánchez-Buenavida A, López-Segura N, Bonet-Alcaina M. Viral coinfection in childhood respiratory tract infections. *Arch Bronconeumol*. 2015;51:5-9.
- Meligy B, Sayed A, Ismail DK, Kamal D, Abdel-Latif W, Erfan DM. Detection of viral acute lower respiratory tract infection in hospitalized infants using real-time PCR. *Egypt Pediatr Assoc Gaz*. 2016;64:13-9.
- Bicer S, Giray T, Çöl D, Erdağ GÇ, Vitrinel A, Gürol Y, et al. Virological and clinical characterizations of respiratory infections in hospitalized children. *Ital J Pediatr*. 2013;39:22.
- Tran D. Respiratory viral coinfection and clinical disease severity. *J Pediatr (Rio J)*. 2013;89:421-3.
- Pinky L, Dobrovolny HM. Coinfections of the Respiratory Tract: Viral Competition for Resources. *PLoS One*. 2016;11:e0155589.
- Rhedin S, Hamrin J, Naucler P, Bennet R, Rotzén-Östlund M, Färnert A, et al. Respiratory viruses in hospitalized children with influenza-like illness during the H1N1 2009 pandemic in Sweden. *PLoS One*. 2012;7:e51491.
- Echenique IA, Chan PA, Chapin KC, Andrea SB, Fava JL, Mermel LA. Clinical characteristics and outcomes in hospitalized patients with respiratory viral co-infection during the 2009 H1N1 influenza pandemic. *PLoS One*. 2013;8:e60845.
- Asner SA, Science ME, Tran D, Smieja M, Merglen A, Mertz D. Clinical disease severity of respiratory viral co-infection versus single viral infection: A systematic review and meta-analysis. *PLoS One*. 2014;9:e99392.
- Cilla G, Oñate E, Perez-Yarza EG, Montes M, Vicente D, Perez-Trallero E. Viruses in community-acquired pneumonia in children aged less than 3 years old: High rate of viral coinfection. *J Med Virol*. 2008;80:1843-9.
- Antalis E, Oikonomopoulou Z, Kottaridi C, Kossyvakis A, Spathis A, Magkana M, et al. Mixed viral infections of the respiratory tract; An epidemiological study during consecutive winter seasons. *J Med Virol*. 2018;90:663-70.
- Lagler H, Tobudic S, Ramharter M, Elandt K, Sperr WR, Redlberger-Fritz M, et al. Pandemic whole-virion, Vero-cell-derived, adjuvant-free influenza A H1N1 vaccine in patients with solid tumors and hematologic malignancies receiving concurrent anticancer treatment: Immunogenicity, tolerability, and acceptability during the pandemic situation. *Vaccine*. 2012;30:6864-70.
- Vardeny O, Udell JA, Joseph J, Farkouh ME, Hernandez AF, McGeer AJ, et al. High-dose influenza vaccine to reduce clinical outcomes in high-risk cardiovascular patients: Rationale and design of the INVESTED trial. *Am Heart J*. 2018;202:97-103.
- Kmeid J, Vanichanan J, Shah DP, El Chaer F, Azzi J, Ariza-Heredia EJ, et al. Outcomes of Influenza Infections in Hematopoietic Cell Transplant Recipients: Application of an Immunodeficiency Scoring Index. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2016;22:542-8.
- Gonsalves S, Mahony J, Rao A, Dunbar S, Juretschko S. Multiplexed detection and identification of respiratory pathogens using the NxTAG<sup>®</sup> respiratory pathogen panel. *Methods*. 2019;158:61-8.
- Stefanska I, Romanowska M, Donevski S, Gawryluk D, Brydak LB. Co-infections with influenza and other respiratory viruses. *Adv Exp Med Biol*. 2013;756:291-301.
- Goka E, Valley P, Mutton K, Klapper P, Influenza A. viruses dual and multiple infections with other respiratory viruses and risk of hospitalisation and mortality. *Influenza Other Respir Viruses*. 2013;7:1079-87.
- Goka EA, Valley PJ, Mutton KJ, Klapper PE. Single, dual and multiple respiratory virus infections and risk of hospitalization and mortality. *Epidemiol Infect*. 2015;143:37-47.
- Sung RYT, Chan PKS, Tsen T, Li AM, Lam WY, Yeung ACM, et al. Identification of viral and atypical bacterial pathogens in children hospitalized with acute respiratory infections in Hong Kong by multiplex PCR assays. *J Med Virol*. 2009;81:153-9.
- Brunstein JD, Cline CL, McKinney S, Thomas E. Evidence from multiplex molecular assays for complex multipathogen interactions in acute respiratory infections. *J Clin Microbiol*. 2008;46:97-102.
- Reina J, López C, Morales C, Busquets M. Análisis de las coinfecciones detectadas entre los virus gripales A y B y otros virus respiratorios, 2012-2013. *Enferm Infec Microbiol Clin*. 2014;32:693-5.
- Reina J, Dueñas J. Coinfecciones respiratorias entre los virus gripales y el virus respiratorio sincitial (2014-2017). *An Pediatr*. 2019;90:118-9.
- Rojo-Rello S, Sanz-Muñoz I, Ortiz de Lejarazu-Leonardo R. D68 enterovirus does exist in Spain. *Enferm Infec Microbiol Clin*. 2016;34:611-2.
- Jain S, Self WH, Wunderink RG, Fakhran S, Balk R, Bramley AM, et al. Community-Acquired Pneumonia Requiring Hospitalization among U.S. Adults. *N Engl J Med*. 2015;373:415-27.
- Jain S, Williams DJ, Arnold SR, Ampofo K, Bramley AM, Reed C, et al. Community-Acquired Pneumonia Requiring Hospitalization among U.S. Children. *N Engl J Med*. 2015;372:835-45.
- Falsey AR, Walsh EE. Respiratory syncytial virus infection in elderly adults. *Drugs Aging*. 2005;22:577-87.

30. Song X, Liu X, Wang C. Epidemic of the 2019 severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 outside of Wuhan China. *BMC Public Health*. 2020, <http://dx.doi.org/10.21203/rs.3.rs-18669/v1>.
31. Garg S. Hospitalization Rates and Characteristics of Patients Hospitalized with Laboratory-Confirmed Coronavirus Disease 2019 — COVID-NET, 14 States, March 1-30, 2020. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2020;69.
32. Hashemi SA, Safamanesh S, Ghasemzadeh-moghaddam H, Ghafouri M, Azimian A. High prevalence of SARS-CoV-2 and influenza A virus (H1N1) coinfection in dead patients in Northeastern Iran. *J Med Virol*. 2020;1–5.
33. Cuadrado-Payán E, Montagud-Marrahi E, Torres-Elorza M, Bodro M, Blasco M, Poch E, et al. SARS-CoV-2 and influenza virus coinfection. *Lancet*. 2020;39:e84.
34. Gervassi AL, Horton H. Is Infant Immunity Actively Suppressed or Immature? *Virol Res Treat*. 2014;2014:1–9.
35. Simon AK, Hollander GA, McMichael A. Evolution of the immune system in humans from infancy to old age. *Proc R Soc B*. 2015;282:20143085.
36. Ruckwardt TJ, Morabito KM, Graham BS. Determinants of early life immune responses to VRS infection. *Curr Opin Virol*. 2016;16:151–7.
37. Peci A, Winter AL, Gubbay JB, Skowronski DM, Balogun EI, De Lima C, et al. Community-acquired respiratory viruses and co-infection among patients of Ontario sentinel practices, April 2009 to February 2010. *Influenza Other Respir Viruses*. 2013;7:559–66.
38. Kaji M, Watanabe A, Aizawa H. Differences in clinical features between influenza A H1N1, A H3N2, and B in adult patients. *Respirol*. 2003;8:231–3.
39. Jester BJ, Uyeki TM, Jernigan DB. Fifty Years of Influenza A(H3N2) Following the Pandemic of 1968. *Am J Public Health*. 2020;110:669–76.
40. Deng JC. Viral-bacterial interactions-therapeutic implications. *Influenza Other Respir Viruses*. 2013;7:24–35.
41. Alger I, Cox D. The Evolution of Altruistic Preferences: Mothers versus Fathers. *Rev Econ Househ*. 2013;11:421–46.
42. WHO. Addressing sex and gender in epidemic-prone infectious diseases. Genève (Suisse): World Health Organization; 2007 [consultado 15 Sep 2020] Disponible en: <https://www.who.int/csr/resources/publications/SexGenderInfectDis.pdf>.