

Características clínicas y epidemiológicas de las infecciones respiratorias causadas por el metapneumovirus humano en pacientes pediátricos

Jordi Reina, Francesc Ferrés, Aina Mena, Joan Figuerola y Eva Alcoceba

Unidad de Virología. Servicio de Microbiología y Servicio de Pediatría. Hospital Universitario Son Dureta. Palma de Mallorca. España.

INTRODUCCIÓN. El metapneumovirus humano (MPVh) fue identificado por primera vez en 2001 a partir de aspirados nasofaríngeos de niños y adultos con infección aguda del tracto respiratorio. El objetivo de este estudio prospectivo es conocer las características clínicas y epidemiológicas de los pacientes pediátricos con infección respiratoria aguda y aislamiento exclusivo del MPVh (diciembre 2005-enero 2007).

MATERIAL Y MÉTODOS. Las muestras fueron sometidas a la detección antigénica rápida frente al virus respiratorio sincitial (VRS) y los virus gripales A y B. Las muestras fueron sembradas en *shell*-viales de diferentes líneas celulares para el aislamiento de virus respiratorios. Para el MPVh se utilizó la línea LLC-MK2. Sólo las muestras negativas en las técnicas antigénicas fueron estudiadas para la presencia del MPVh.

RESULTADOS. En este estudio se han aislado 32 MPVh de pacientes distintos, que representan el 1,7% de todas las muestras estudiadas para este virus (sólo las negativas al VRS: 1.791) y el 1,5% de todas las muestras analizadas. La mayoría de casos se presentaron entre los meses de diciembre y marzo de ambos años estudiados. Los 32 casos correspondían a 17 niñas (53,2%) y 15 niños (46,8%). La edad media de los pacientes fue de 12,5 meses (intervalo: 1 mes y 4 años). La mayoría de los pacientes presentaron fiebre (90,6%), tos (87,5%), rinorrea y bronquiolitis (46,8%). Sólo 3 pacientes (9,4%) precisaron de ingreso hospitalario.

CONCLUSIONES. Las infecciones respiratorias causadas por el MPVh se han convertido en una enfermedad emergente en la población pediátrica. Las manifestaciones clínicas no permiten realizar un diagnóstico diferencial con el VRS, de modo que sólo el estudio virológico permitirá establecer el diagnóstico etiológico definitivo.

Palabras clave: Metapneumovirus humano (MPVh). Infección respiratoria. Pediatría.

Clinical and epidemiological characteristics of respiratory infections caused by human Metapneumovirus in pediatric patients

INTRODUCTION. Human Metapneumovirus (hMPV) was first identified in 2001 in respiratory samples from children and adults with acute respiratory tract infection. The aim of this prospective study was to determine the clinical and epidemiological characteristics of pediatric patients with an acute respiratory tract infection and exclusive isolation of hMPV in respiratory samples (December 2005-January 2007).

MATERIAL AND METHODS. All respiratory tract samples were submitted to rapid antigen detection against respiratory syncytial virus (RSV) and influenza A and B viruses. To isolate respiratory viruses, samples were inoculated in various cell lines using the shell vial culture assay. To isolate hMPV, the LLC-MK2 cell line was used. Only antigen-negative samples were studied for the presence of hMPV.

RESULTS. Over the study period, 32 hMPV were isolated from different patients, accounting for 1.7% of all samples studied for this virus (only RSV-negative samples, 1,791) and 1.5% of all samples studied. Peak incidence was found between December and March of the two years studied. Of the 32 patients in whom hMPV was detected, 17 (53.2%) were female and 15 (46.8%) male. Mean age was 12.5 months (range, 1 month-4 years). The most frequent clinical symptoms were fever (90.6%), cough (87.5%), rhinorrhea and bronchiolitis (46.8%). Three patients (9.4%) were hospitalized.

CONCLUSIONS. Respiratory infection caused by hMPV is considered an emergent disease in pediatric patients. The clinical manifestations are very similar to those of RSV infection; hence, only virological study can establish the definite etiological diagnosis.

Key words: Human Metapneumovirus (hMPV). Respiratory infection. Pediatric patients.

Introducción

El metapneumovirus humano (MPVh) fue identificado por primera vez en Holanda en el año 2001 a partir de aspirados nasofaríngeos de niños y adultos con una infección

Correspondencia: Dr. J. Reina.
Unidad de Virología.
Servicio de Microbiología.
Hospital Universitario Son Dureta.
Andrea Doria, 55. 07014 Palma de Mallorca. España.
Correo electrónico: jreina@hsd.es

Manuscrito recibido el 12-3-2007; aceptado el 6-6-2007.

aguda del tracto respiratorio¹. Los estudios realizados posteriormente han demostrado que este virus es el responsable de una parte significativa de las infecciones víricas respiratorias de la comunidad que afectan a la población infantil en todo el mundo¹⁻¹⁰. Las coinfecciones entre el MPVh y el virus respiratorio sincitial (VRS) son bastante frecuentes y parecen agravar el pronóstico y la morbilidad de las bronquiolitis infantiles^{5,7,11,12}.

El diagnóstico virológico frente al MPVh puede hacerse por cultivo celular, detección antigénica directa, amplificación genómica (retrotranscripción inversa-reacción en cadena de la polimerasa [RT-PCR]) o estudio serológico^{1,2,13-18}. El MPVh crece lentamente en las líneas celulares utilizadas habitualmente para el aislamiento de otros virus respiratorios^{1,14,16}. Aunque Boivin et al⁸ han demostrado que este virus crece bien en la línea LLC-MK2, utilizada sistemáticamente para el aislamiento del virus parainfluenza, el método diagnóstico considerado de referencia es la amplificación genómica^{13,14}.

Debido al carácter emergente de este nuevo virus, se presenta un estudio prospectivo sobre las características clínicas y epidemiológicas de los pacientes pediátricos con infección respiratoria aguda y aislamiento exclusivo del MPVh en el tracto respiratorio.

Material y métodos

Se ha realizado un estudio prospectivo sobre las características clínicas y epidemiológicas de los pacientes pediátricos (< 15 años) con infección respiratoria y aislamiento del MPVh entre los meses de diciembre de 2005 y enero de 2007.

A todos los pacientes con sospecha de infección respiratoria aguda se les tomó una muestra que fue remitida lo antes posible en un medio de transporte para virus. Las diferentes muestras respiratorias (aspirados nasofaríngeos y frotis faríngeos) fueron sometidas inicialmente a la detección antigénica rápida frente al VRS (Directigen RSV, Becton & Dickinson, EE.UU.) y los virus gripales A y B (Directigen FluA + B, Becton & Dickinson, EE.UU.). Las muestras fueron sembradas en *shell*-viales (200 µl/vial) de las líneas celulares Hep-2 (VRS y adenovirus), MDCK (virus gripales A y B), LLC-MK2 (virus parainfluenza y MPVh) y MRC-5 (CMV y enterovirus) (Viracell, Granada). Sólo las muestras negativas en la técnica antigénica frente al VRS

fueron estudiadas para la presencia del MPVh. A los viales destinados al aislamiento del MPVh se les añadió al medio de mantenimiento tripsina (2 µg/ml) antes de su incubación. Todos los viales fueron incubados a 36 °C durante 3 días, a excepción de los destinados al aislamiento del MPVh, que lo fueron durante 5 días. Tras este proceso, los diferentes viales fueron fijados y teñidos mediante anticuerpos monoclonales específicos para cada uno de los virus (Monofluokit, Bio-Rad, Irlanda). La presencia del MPVh se detectó mediante el empleo del anticuerpo monoclonal anti-MPVh (clon MAB8510; Chemicon, EE.UU.). En todos los casos la tinción se realizó mediante la técnica de inmunofluorescencia indirecta siguiendo las instrucciones del fabricante. Se consideraron positivas aquellas monocapas con presencia de fluorescencia específica y compatible con cada uno de los diferentes virus estudiados.

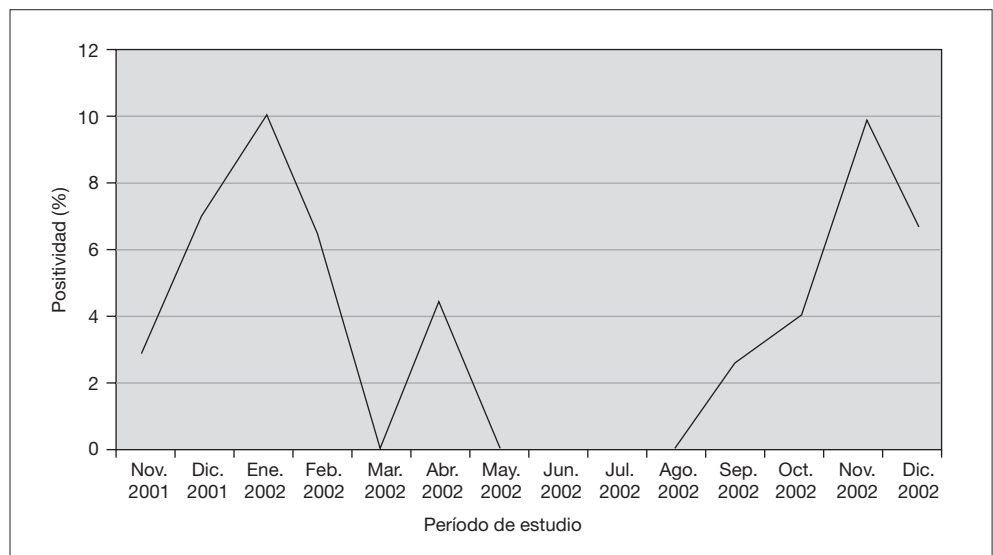
Se han analizado las características clínicas y epidemiológicas de los pacientes con aislamiento exclusivo del MPVh en muestras respiratorias, a través del estudio de sus historias clínicas.

Resultados

A lo largo del período de estudio se han analizado 2.029 muestras respiratorias, de las cuales 1.685 (83%) fueron aspirados nasofaríngeos y 344 (17%), frotis faríngeos. De todas ellas, 484 (23,8%) fueron consideradas positivas. Los virus aislados en estas muestras fueron: VRS, 318 (65,7%); adenovirus, 50 (10,3%); virus gripales A y B, 46 (9,5%); MPVh, 32 (6,6%); virus parainfluenza, 3,26 (5,3%), y otros virus, 12 (2,2%) (enterovirus y citomegalovirus). Los 32 MPVh aislados correspondían a pacientes distintos, que representaban el 1,7% de todas las muestras estudiadas para este virus (sólo las negativas al VRS: 1.791), el 1,5% del total de muestras analizadas y el 6,6% de todas las muestras positivas (32/484). Los MPVh sólo se aislaron en los aspirados nasofaríngeos. Durante el estudio no se ha detectado ninguna coinfección del MPVh con otro virus respiratorio.

Los porcentajes de positividad para el MPVh, sobre el total de cultivos positivos, obtenidos en este estudio han oscilado entre el 2,3 y el 10% (fig. 1). En relación con el aislamiento del VRS, los casos positivos frente al MPVh han mostrado un patrón epidemiológico muy parecido a este virus, aunque un poco posterior al pico máximo del VRS

Figura 1. Porcentajes de positividad mensual de las infecciones respiratorias causadas por el MPVh durante el período de estudio.



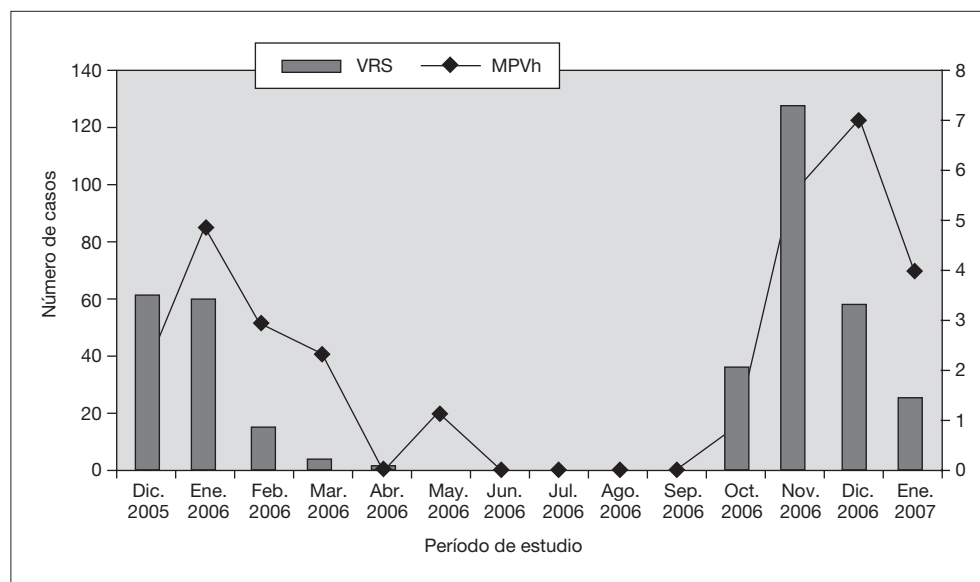


Figura 2. Distribución mensual de los casos de infección respiratoria causados por el virus respiratorio sincitial (VRS) y el metapneumovirus humano (MPVh) durante el período de estudio.

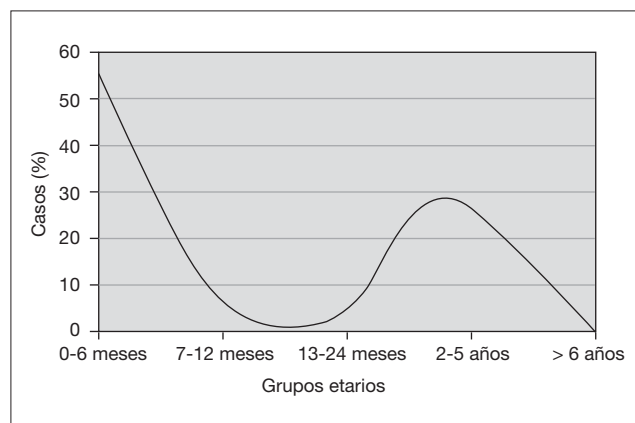


Figura 3. Distribución etaria de los pacientes con aislamiento de MPVh en muestras respiratorias.

TABLA 1. Principales características clínicas de los pacientes con infección por el metapneumovirus humano

Fiebre > 38 °C	29 (90,6)*
Tos	28 (87,5)
Rinorrea	15 (46,8)
Bronquiolitis	15 (46,8)
Faringitis	9 (28,1)
Síndrome febril respiratorio	9 (28,1)
Sibilancias	5 (15,6)
Neumonía	3 (9,3)
Asma	3 (9,3)
Distrés respiratorio	2 (6,2)
Vómitos	2 (6,2)
Diarrea	2 (6,2)
Otitis media aguda	1 (3,1)

*Número de casos (%); algún paciente presentó más de una manifestación clínica.

(fig. 2). Desde el punto de vista epidemiológico la mayoría de casos se presentaron entre los meses de diciembre y febrero de ambos años estudiados (v. fig. 2).

Los 32 casos correspondían a 17 niñas (53,2%) y 15 niños (46,8%). La edad media de los pacientes fue de 12,5 meses (intervalo: 1 mes y 4 años). El 56,2% de los pacientes tenían una edad inferior a los 6 meses, el 65,6% eran menores de 12 meses y el 35,2% eran mayores de 2 años; se observaba, además, una distribución bimodal entre los diferentes grupos de edad (fig. 3). El 90,6% de los pacientes fueron atendidos en urgencias y sólo 3 pacientes (9,4%) precisaron de ingreso hospitalario. En la tabla 1 se exponen las principales características clínicas de los pacientes con infección por el MPVh.

Discusión

Desde su detección se han comunicado muchos estudios sobre la incidencia de las infecciones respiratorias agudas causadas por el MPVh en la población pediátrica mundial¹⁻¹⁰. Los porcentajes de detección muestran un intervalo muy amplio, que va desde el 1,5% hasta el 25% dependiendo de la zona geográfica, la edad del paciente y la patología del mismo^{1,4-11}. Nuestro porcentaje total de aislamiento ha sido del 1,7%, bastante más bajo que los comunicados en nuestro país. Así, Vicente et al¹⁹ han comunicado una positividad del 4,1% en los que fueron negativos a otros virus respiratorios, y en el estudio inicial de García et al²⁰, en un 9% de los pacientes. Este virus fue el detectado en el 18% de todas las muestras positivas; en un estudio posterior, García et al²¹ detectaron un porcentaje del 10,8% en lactantes hospitalizados, mientras que Ordás et al²² comunicaron una positividad del 16,2%.

La mayoría de los estudios realizados para la detección del MPVh han utilizado la técnica de RT-PCR, considerada más sensible que el cultivo celular^{14,15}. En el estudio comparativo entre el cultivo *shell-vial* y la RT-PCR, Schirm et al¹⁴ observan como el cultivo presenta una sensibilidad del 61,3%, con un porcentaje de positividad por cultivo del 7,6 frente al 11,5% de la RT-PCR. La no utilización de las técnicas moleculares podría explicar el bajo número de casos detectados en nuestro estudio.

La mayoría de infecciones respiratorias por MPVh se producen en los meses fríos¹¹. Maggi et al⁵ han observado que el 91% de los casos se detectan entre enero y mayo, con variaciones porcentuales en diferentes años a lo largo del estudio. En el estudio de Williams et al²³, el 78% de los casos se presentaron entre diciembre y abril, y en Japón la mayoría de casos se han detectado entre marzo y junio²⁴. En nuestro estudio la mayoría de casos se presentaron entre los meses de diciembre y enero de ambos años estudiados, mientras que en el estudio de García et al²⁰ el 100% de los pacientes se detectaron entre marzo y abril, con un pico máximo en marzo^{20,21}.

Las infecciones respiratorias por MPVh parecen afectar al mismo segmento etario que el VRS¹¹. En nuestro estudio la edad media de los pacientes fue de 12,5 meses; aunque el 56,2% de los pacientes tenían una edad inferior a los 6 meses y el 65,6%, una edad inferior a los 12 meses. Se observaba, de este modo, una distribución bimodal entre los diferentes grupos de edad. La edad media observada en nuestro estudio es un poco superior a la descrita por otros autores españoles; así, García et al²¹ observaron una edad media de 6,7 meses y, además, el 80% presentaban menos de 12 meses, y Ordás et al²² detectaron una edad media de 6,4 meses. Sin embargo, estudios realizados en otros países, como el de Williams et al²³, se observa que la edad media fue de 11,6 meses y de 17,6 meses en Israel²⁵.

No hemos encontrado diferencias entre los sexos de los pacientes infectados por el MPVh; así, el 53,2% eran niños y el 46,8%, niñas. Estos datos contrastan con los comunicados por García et al²⁰, en los cuales el 72% de los infectados eran niños; los de Williams et al²³, en los que la relación niño:niña era de 1,8:1; los de Regev et al²⁶, con una relación 2:1, y los de Peiris et al⁷, con una relación 3:1. Sin embargo, en otros estudios no se ha podido demostrar tanta diferencia entre la incidencia por sexo^{8,11}.

Las manifestaciones clínicas de las infecciones respiratorias por el MPVh son prácticamente indistinguibles de las observadas en los infectados por el VRS^{5,7,11,12}. En nuestro estudio, la mayoría de los pacientes presentaban fiebre elevada y tos, acompañados de otras manifestaciones respiratorias. La asociación de estos dos síntomas ha sido descrita entre el 90 y el 100% de los casos comunicados^{11,19-22}. La rinorrea, que traduce una afectación de las vías respiratorias altas, la hemos observado en casi la mitad de los pacientes, tal como han comunicado Bach et al²⁷, pero en porcentaje inferior a los observados en otras series^{6,8,26}. Como diagnósticos clínicos, la bronquiolitis fue la entidad más frecuente observada (46,8%). Sin embargo, el porcentaje de positividad en esta patología varía ampliamente en la bibliografía médica, oscilando entre el 1 y el 59%, lo cual se debe básicamente a los grupos de edad estudiados en cada área geográfica¹¹.

Otra patología asociada frecuentemente con las infecciones por el MPVh es el asma, las crisis asmáticas y/o las sibilancias^{8,11}. En nuestro estudio, cerca del 25% de los pacientes presentaban este tipo de sintomatología, porcentaje algo inferior al 45-55% comunicado por García et al²¹, aunque en este estudio la mayoría de los pacientes estaban hospitalizados. Las sibilancias se han comunicado en el 80-90% en varios estudios⁵⁻⁸. La asociación entre el MPVh y el asma o las crisis asmáticas parece una evidencia clínica, aunque todavía no existe una certeza científica

asociativa; no obstante, en un estudio se ha observado que los niños infectados por el MPVh presentan títulos más elevados de interleucina-8 en sus secreciones respiratorias²⁸.

La implicación del MPVh en las neumonías del lactante es todavía un dato controvertido; así, su detección en esta entidad es muy variable y depende del área geográfica, la edad del paciente y la patología de base del mismo^{5,10,24}. En nuestro estudio sólo se pudo implicar al MPVh en 3 casos de neumonía (9,3%), cuando algunos estudios, basados la mayoría en datos radiológicos de infiltrados pulmonares, elevan el porcentaje al 25-30%²³⁻²⁵. Aunque, dada la dificultad para establecer el diagnóstico definitivo de neumonía en los niños de corta edad, deban tomarse estos valores con cierta prudencia.

Algunos estudios parecen indicar que la gravedad de las infecciones por el MPVh es inferior a las causadas por el VRS⁴⁻⁸. En nuestro estudio sólo 3 pacientes (9,3%) precisaron de ingreso hospitalario debido a su corta edad y al distrés respiratorio; por lo tanto, en la mayoría de pacientes la infección por el MPVh fue considerada leve o moderada y sin criterios de ingreso. Con los datos disponibles no podemos establecer la verdadera magnitud epidemiológica de las infecciones comunitarias por el MPVh. Peiris et al⁷ han calculado una tasa de admisiones hospitalarias por infecciones causadas por este virus de 441,6/100.000 niños menores de 6 años.

En algunos estudios se ha intentado buscar algunas características clínicas o epidemiológicas diferenciales con las infecciones respiratorias causadas por el VRS; así, sólo se han podido observar diferencias significativas en que los pacientes con MPVh presentan una edad media más elevada que afecta a mayores de 6 meses, presentan una tasa de sibilancias recurrentes más elevada y presentan una proteína C reactiva menos elevada^{21,22,27}. En términos generales, las infecciones por MPVh son menos graves y precisan de menos ingresos hospitalarios, aunque depende de los grupos etarios y las zonas geográficas consideradas.

Bibliografía

1. Van den Hoogen BG, De Jong JC, Groen J, Kuiken T, De Groot R, Fouchier RAM, et al. A newly discovered human pneumovirus isolated from young children with respiratory tract disease. *Nat Med*. 2001;7:719-24.
2. Peret TC, Boivin G, Li Y, Couillard M, Humphrey C, Osterhaus AD, et al. Characterization of human metapneumovirus isolated from patients in North America. *J Infect Dis*. 2002;185:1660-3.
3. Van den Hoogen BG, Besterbroer TM, Osterhaus AD, Fouchier RA. Analysis of the genomic sequence of a human metapneumovirus. *Virology*. 2002;295:119-32.
4. Stockton J, Stephenson I, Fleming D, Zambon M. Human metapneumovirus as a cause of community-acquired respiratory illness. *Emerg Infect Dis J*. 2002;8:897-901.
5. Maggi F, Pifferi M, Vatteroni M, Fornari C, Tempestini E, Anzilotti S, et al. Human metapneumovirus associated with respiratory tract infections in a 3 year study of nasal swabs from infants in Italy. *J Clin Microbiol*. 2003;41:2987-91.
6. Chan PKS, Tam JS, Lam CW, Chan E, Wu A, Li CK, et al. Human metapneumovirus detection in patients with severe acute respiratory syndrome. *Emerg Infect Dis J*. 2003;9:1058-63.
7. Peiris JSM, Tang WH, Chan KH, Khong PL, Guan Y, Lau YL, et al. Children with respiratory disease associated with metapneumovirus in Hong Kong. *Emerg Infect Dis J*. 2003;9:628-33.
8. Boivin G, Abed Y, Pelletier G, Ruel L, Moisan D, Cote S, et al. Virological features and clinical manifestations associated with human metapneumovirus: a new paramyxovirus responsible for acute respiratory-tract infections in all age groups. *J Infect Dis*. 2002;186:1330-4.

9. Collins PL, Crowe JE. Respiratory syncytial virus and metapneumovirus. En: Knipe DM, Howley PM, editors. *Fields virology*. 5th ed. Philadelphia: Wolters Kluwer, 2007. p. 1601-46.
10. Nissen MD, Siebert DJ, MacKay IM, Sloots TP, Withers SJ. Evidence of human metapneumovirus in Australian children. *Med J Aust*. 2002;176:188.
11. Kahn JS. Epidemiology of human metapneumovirus. *Clin Microbiol Rev*. 2006;19:546-57.
12. Reina J. Metapneumovirus humano (MPVh) un nuevo patógeno causante de infecciones del tracto respiratorio. *Rev Esp Pediatr*. 2005;61:245-7.
13. Cote S, Abed Y, Boivin G. Comparative evaluation of real-time PCR assays for detection of the human metapneumovirus. *J Clin Microbiol*. 2003;41:3631-5.
14. Schirm J, Van Gijssel P, Benner R, Doedens R, Schölvinc L, De Waard P. Detection of human metapneumovirus in clinical specimens from infants by shell-vial culture and RT-PCR. *Eurovirology*. II European Congress of Virology, Eurovirology Madrid, 2004. Libro de Comunicaciones Abstract P10-7, p. 216.
15. Ebihara T, Endo R, Ma X, Ishiguro N, Kikuta H. Detection of human metapneumovirus antigens in nasopharyngeal secretions by an immunofluorescent-antibody test. *J Clin Microbiol*. 2005;43:1138-41.
16. Ingram RE, Fenwick F, McGuckin R, Tefari A, Taylor C, Toms GL. Detection of human metapneumovirus in respiratory secretions by reverse-transcriptase polymerase chain reaction, indirect immunofluorescence, and virus isolation in human bronchial epithelial cells. *J Med Virol*. 2006;78:1223-31.
17. Barry-Murphy K, Sloots T, Setterquist S, Gray G, Reid S, Elliott G. Detection of human metapneumovirus in clinical specimens using a novel immunoassay. *J Clin Virol*. 2006;36:16.
18. Landry ML, Ferguson D, Cohen S, Peret TCT, Erdman DD. Detection of human metapneumovirus in clinical samples by immunofluorescence staining of shell vial centrifugation cultures prepared from three different cell lines. *J Clin Microbiol*. 2005;43:1950-2.
19. Vicente D, Cilla G, Montes M, Pérez-Trallero E. Human metapneumovirus and community-acquired respiratory illness in children. *Emerg Infect Dis J*. 2003;9:602-3.
20. García ML, Calvo C, Martín del Valle F, López MR, Casas I, Díaz-Delgado R, et al. Infecciones respiratorias por metapneumovirus en lactantes hospitalizados. *An Pediatr (Barc)*. 2004;61:213-8.
21. García ML, Calvo C, Pérez-Breña P, De Cea JM, Acosta MD, Casas I. Prevalence and clinical characteristics of human metapneumovirus infections in hospitalized infants in Spain. *Ped Pneumol*. 2006;41:863-71.
22. Ordás J, Boga JA, Álvarez-Argüelles M, Villa L, Rodríguez-Dehli C, De Oña M, et al. Role of metapneumovirus in viral respiratory infections in young children. *J Clin Microbiol*. 2006;44:2739-42.
23. Williams JV, Harris PA, Toilefson SJ, Halburnt-Rush LL, Joyce ME, Pings-terhaus JM, et al. Human metapneumovirus and lower respiratory tract disease in otherwise healthy infants and children. *N Engl J Med*. 2004;350:443-50.
24. Kashiwa H, Shimozone H, Takao S. Clinical pictures of children with human metapneumovirus infection: comparison with respiratory syncytial virus infection. *Jpn J Infect Dis*. 2004;57:80-2.
25. Wolf DG, Greenberg D, Kalkstein D, Shemer-Avni Y, Givon-Lavi N, Goldberg MD, et al. Comparison of human metapneumovirus, respiratory syncytial virus and influenza A virus lower respiratory tract infections in hospitalized young children. *Pediatr Infect Dis J*. 2006;25:320-4.
26. Regev L, Hindiyeh M, Shulman LM, Barak A, Levy V, Azar R, et al. Characterization of human metapneumovirus infections in Israel. *J Clin Microbiol*. 2006;44:1484-9.
27. Bach N, Cuvillon D, Brouard J, Lafay F, Freymuth F, Legrand L, et al. Acute respiratory tract infections due to a human metapneumovirus in children: descriptive study and comparison with respiratory syncytial virus infections. *Arch Pediatr*. 2004;11:212-5.
28. Jartti T, Van den Hoogen B, Garofalo RP, Osterhaus AD, Ruuskanen O. Metapneumovirus and acute wheezing in children. *Lancet*. 2002;360:1393-4.