

## Diagnóstico de Metapneumovirus humano. Revisión sistemática de la literatura.

Dr. Raúl Romero Feregrino,<sup>1</sup>  
Dr. Rodrigo Romero Feregrino,<sup>2</sup>  
Dr. Ignacio Mora Magaña,<sup>3</sup>  
Dr. Raúl Romero Cabello,<sup>4</sup>  
Dr. Napoleón González Saldaña,<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Médico infectólogo pediatra egresado del Instituto Nacional de Pediatría. Coordinador médico del Instituto para el Desarrollo Integral de la Salud.

<sup>2</sup>Médico egresado de la Universidad Nacional Autónoma de México. Coordinador general del Instituto para el Desarrollo Integral de la Salud.

<sup>3</sup>Médico audiólogo. Adscrito al servicio de audiología del Instituto Nacional de Pediatría y asesor metodológico.

<sup>4</sup>Médico infectólogo pediatra egresado del Hospital General de México. Adscrito al servicio de Infectología del Hospital General de México. Investigador del Departamento de Microbiología y Parasitología de la Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México.

<sup>5</sup>Médico infectólogo pediatra egresado del Instituto Nacional de Pediatría. Jefe del servicio de Infectología del Instituto Nacional de Pediatría.

### RESUMEN

Las infecciones por virus respiratorios son las principales causas de enfermedad y la etiología permanece indeterminada en más de 50% de casos. El metapneumovirus humano (MPVh) es un agente importante en la patología de la vía respiratoria baja en niños. Existen cuatro diferentes tipos de métodos diagnósticos para el MPVh: estudios serológicos, aislamiento del virus por cultivo, detección del RNA por RT-PCR y detección de antígenos. No existe tratamiento específico para MPVh. Existe poca información acerca de la prevalencia de los virus respiratorios. No existe ningún estudio que evalúe el peso individual y en conjunto de las pruebas diagnósticas para búsqueda de virus respiratorios. Este estudio permitirá construir el apartado de antecedentes de un protocolo de investigación sobre diagnóstico de Metapneumovirus humano en niños en el INP de forma prospectiva.

**Objetivos.** Comparar la utilidad diagnóstica de la PCR, la inmunofluorescencia y la serología contra el cultivo viral en la identificación del Metapneumovirus humano en pacientes pediátricos con infección de vías respiratorias. El tipo de estudio incluido fue la prueba diagnóstica.

**Resultados:** Se obtuvieron 169 artículos, de los cuales se descartaron 143, y con los restantes se realizó un análisis para la determinación de la heterogeneidad. Se encontraron artículos que comparaban cultivo contra cultivo, inmunofluorescencia contra cultivo, PCR contra cultivo, inmunofluorescencia contra PCR y PCR contra PCR.

**Conclusión:** La prueba que tiene una mejor utilidad diagnóstica es el cultivo viral, la PCR es una prueba útil ya que muestra adecuada utilidad diagnóstica, pero se requieren más estudios para tener más evidencia.

**Palabras clave:** Metapneumovirus humano, PCR, cultivo viral.

### ABSTRACT

**Background:** Respiratory viruses are common cause of disease. Specific etiology remains without identification at least at 50% of the cases. Human Metapneumovirus is an important agent in respiratory diseases in children. There are 4 diagnostic tools for human metapneumovirus: serologic, culture, PCR and antigens.

**Objective:** Identify diagnostic accuracy of PCR, culture, immunofluorescence and serologic tests for human metapneumovirus in pediatric patients.

**Methods:** Types of studies: Diagnostic accuracy papers. Search strategy: Keywords: Human Metapneumovirus, PCR, culture, immunofluorescence, serologic studies, antibodies, diagnostic test, diagnostic, diagnostic accuracy.

Results: 169 papers, 147 were dismissed because they were not diagnostic accuracy test or because they had incomplete data. We had culture against culture (one paper), immunofluorescence against culture (one paper), PCR against culture (four papers), immunofluorescence against PCR (fourteen papers) and PCR against PCR (2 papers).

Conclusion: The diagnostic test with the best diagnostic accuracy was culture. PCR is a useful diagnostic test but more studies are needed in order to get best evidence.

**Key words:** Human Metapneumovirus, PCR, viral culture.

## Antecedentes

Las infecciones por virus respiratorios están entre las principales causas de enfermedad en humanos.<sup>1-4</sup> Los niños y los ancianos, los pacientes cardiopatas, neumopatas o inmunodeprimidos tienen mayor riesgo de complicaciones por estos agentes.<sup>5-9</sup> Los virus respiratorios que se han reconocido incluyen los virus influenza A y B, virus parainfluenza 1, 2, 3 y 4, Metapneumovirus humano (MPVh), virus sincicial respiratorio (VSR), rinovirus y enterovirus, los cuales causan un gran espectro de manifestaciones clínicas, como son infecciones respiratorias altas y bajas, otitis media, encefalitis, entre otras.<sup>10-12</sup> Desafortunadamente, la etiología permanece indeterminada en más de 50% de los casos.<sup>16-20</sup>

Las infecciones respiratorias causadas por estos virus presentan usualmente signos y síntomas muy similares, prácticamente indistinguibles clínicamente.<sup>23-28</sup> El diagnóstico etiológico rápido de éstos patógenos es muy importante para iniciar una terapia antiviral (cuando ésta existe), evitar el uso de antibióticos innecesarios, disminuir la estancia hospitalaria, prevenir brotes nosocomiales y disminuir los costos.<sup>30-33</sup>

El metapneumovirus humano es un nuevo virus respiratorio descubierto en el año 2001, por Van den Hoogen, en Holanda.<sup>35-37</sup> El género Metapneumovirus pertenece a la familia Paramixoviridae y la subfamilia Pneumovirinae, a la que también pertenece el virus sincicial respiratorio (VSR).<sup>38-45</sup>

Existen dos linajes genéticos diferentes y, dentro de ellos, dos subtipos de cada uno. El MPVh es un virus ARN, de cadena simple y polaridad negativa. Afecta exclusivamente a humanos y de ahí su denominación como Metapneumovirus humano.<sup>45-47</sup> La evidencia acumulada desde su descubrimiento sugiere que MPVh es uno de los

agentes etiológicos más importantes en la patología de la vía respiratoria baja en niños.<sup>46-50</sup> Está presente alrededor del mundo; algunos estudios han demostrado que la mayoría de las personas han estado expuestas a estos virus a la edad de 5 años.<sup>51-55</sup>

Tiene una distribución temporal similar al VSR, presentándose principalmente en invierno, pero hay trabajos que lo demuestran también durante toda la primavera. Los estudios realizados han mostrado una distribución estacional con predominio al final del invierno y en primavera.<sup>55-60</sup> Desde su descubrimiento, se ha detectado en todos los continentes. Según distintos estudios se ha logrado determinar que MPVh produce entre 5-20% de los cuadros respiratorios en niños donde otro agente viral no ha podido ser reconocido. Su periodo de incubación es de aproximadamente 5-6 días. No hay reportes que hayan estudiado su forma de transmisión, pero lo más probable es que sea a través de gotitas de secreción respiratoria.<sup>60-62</sup> Se ha descrito la transmisión nosocomial, lo que sugiere que sea necesario el aislamiento de contacto y el lavado de manos, para prevenir su diseminación.<sup>63-65</sup>

Las manifestaciones clínicas son de espectro amplio y muy similares a las del VSR, con alteraciones a nivel de vía respiratoria alta y baja, produciendo cuadros desde leves a graves, en algunos casos requiriendo manejo hospitalario.<sup>66-69</sup> Es probable que exista infección asintomática, se sabe que existe reinfección y que puede ser frecuente, afectando a todas las edades. Los grupos de mayor riesgo de infección por MPVh son los menores de cinco años de edad, especialmente los pacientes de dos años, los ancianos y los inmunodeprimidos, donde puede presentarse de forma más grave.<sup>70-75</sup> El espectro clínico va desde cuadros de infección respiratoria superior, bronquiolitis, síndrome bronquial obstructivo y neumonía, entre otras. Mucho menos frecuente es su presentación en

cuadros como laringitis.<sup>76-79</sup> Los síntomas y signos más frecuentes son fiebre, tos, polipnea, dificultad respiratoria y sibilancias.<sup>80</sup> La radiografía de tórax muestra infiltrados parahiliares, engrosamiento peribronquial, atrapamiento aéreo, atelectasias y, con menor frecuencia, imágenes de condensación.<sup>81-83</sup>

Las pruebas diagnósticas para los virus respiratorios han tenido límites al tener que elegir entre pruebas que utilicen antígenos virales, las cuales ofrecen una pobre sensibilidad y especificidad y, los cultivos celulares que requieren mayor tiempo para determinar al agente.<sup>84</sup> Las pruebas moleculares tienen alta sensibilidad, y requieren poco tiempo (algunas horas) para su realización. La superioridad de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y la PCR de transcripción reversa (RT-PCR) sobre los métodos convencionales de diagnóstico para las infecciones por virus respiratorios se debe a la alta especificidad y sensibilidad (98 y 99% respectivamente)<sup>85</sup> que tienen, así como el relativamente corto tiempo que requieren para su realización. Sin embargo, estas pruebas organismo-específicas que requieren la amplificación por separado de cada virus, requieren de recursos económicos y materiales.<sup>86-90</sup>

Existen cuatro diferentes tipos de métodos diagnósticos para el MPVh: estudios serológicos, aislamiento del virus por cultivo, detección del RNA por RT-PCR y detección de antígenos. Los estudios serológicos son importantes para la diferenciación retrospectiva entre infección primaria y reinfección,<sup>91</sup> sin embargo, la inmunoglobulina G (IgG) y la inmunoglobulina M (IgM) que responden al MPVh en la fase aguda de la infección no son útiles para el diagnóstico.<sup>92-93</sup> El aislamiento en cultivos celulares es considerado el estándar de referencia para el diagnóstico, sin embargo, en el caso de MPVh, éste es difícil, ya que el MPVh no crece en los medios de cultivo de virus respiratorios habituales y requiere condiciones especiales y mayor tiempo para su crecimiento.<sup>93</sup>

Dentro de los métodos disponibles para su diagnóstico está la Reacción en Cadena de la Polimerasa con transcripción reversa (RT-PCR), que ha demostrado la mayor sensibilidad y especificidad para la identificación del virus a partir de muestras respiratorias, sin embargo, esta solo se puede realizar en laboratorios especiales y toma

más de seis horas para ofrecer resultados.<sup>94-95</sup> La inmunofluorescencia directa (IFD) con anticuerpos monoclonales de ratón ha permitido la detección de antígenos de MPVh en células infectadas de la nasofaringe, sin embargo, la IFD requiere entrenamiento para interpretar los resultados.<sup>96,97</sup>

Se encuentran disponibles dos métodos de detección rápida de antígenos: una prueba de inmunofluorescencia-anticuerpo y una prueba de ELISA. El método ELISA con anticuerpos policlonales de ratón ha reportado permitir la detección de antígenos de células infectadas por MPVh en cultivos, pero no se han realizado estudios de detección de antígenos de MPVh en muestras clínicas.<sup>98-99</sup> La prueba de anticuerpos con inmunofluorescencia para células epiteliales respiratorias ha mostrado ser una buena opción para detectar otros virus respiratorios como VSR, adenovirus, parainfluenza y virus de la influenza.<sup>100</sup>

No existe tratamiento específico para MPVh, sólo las medidas de soporte, como aporte de oxígeno, hidratación adecuada, manejo de la fiebre, manejo de las secreciones y de la obstrucción bronquial.<sup>101-102</sup>

No se han establecido medidas para la prevención, pero probablemente sean válidas las mismas que para VSR. En el caso de los pacientes hospitalizados se recomienda aislamiento de contacto (principalmente lavado de manos). No existe vacuna para MPVh.<sup>104-105</sup>

### Objetivos

Comparar la utilidad diagnóstica de la PCR contra el cultivo viral en la identificación del Metapneumovirus humano en pacientes pediátricos con infección de vías respiratorias y comparar la utilidad diagnóstica de la inmunofluorescencia contra el cultivo viral en la identificación del Metapneumovirus humano en pacientes pediátricos con infección de vías respiratorias. Además, comparar la utilidad diagnóstica de la serología contra el cultivo viral en la identificación del Metapneumovirus humano en pacientes pediátricos con infección de vías respiratorias.

### Material y método

Este trabajo se realizó en el Instituto Nacional de Pediatría de México. Se buscaron artículos con diseño metodo-

lógico de prueba diagnóstica que incluyeran los resultados de utilidad diagnóstica de la identificación del agente causal (Metapneumovirus humano), realizados en población pediátrica, sin límite de tiempo ni idioma. Mediante las bases de datos Lilacs, Artemisa, Scielo, Pubmed, Embase con las palabras mesh Human Metapneumovirus, PCR, culture, inmunofluorescence, serology, antibodies, diagnostic test, diagnostic accuracy.

Para determinar la inclusión de los estudios, dos evaluadores utilizaron la herramienta CASPe para prueba diagnóstica.<sup>106</sup>

Para evaluar la calidad de los estudios, dos evaluadores utilizaron las herramientas Stard<sup>107</sup> y Quadas<sup>108</sup> para prueba diagnóstica.

Las variables que se utilizaron fueron las siguientes:

#### **Análisis estadístico:**

- a.- Inicialmente se presentan los resultados de cada estudio individualmente (año de publicación, región geográfica, total de enfermos y total de sanos, forma de selección de los pacientes y características metodológicas), con la determinación de DOR (razón de momios del diagnóstico).
- b.- Se probó la presencia implícita o no del efecto del punto de corte con el coeficiente de Spearman para correlación entre la sensibilidad y la especificidad.
- c.- Determinación de la distribución de la heterogeneidad. A través de la gráfica de DOR y sus intervalos de confianza de 95% que puede mostrar la presencia o no, de estudios extremos.
- d.- 1. En caso de que los estudios fueran homogéneos y no hubiera evidencia de un efecto implícito del punto de corte, se usó un análisis basado en un modelo de efectos fijos y se graficó una curva de ROCs.

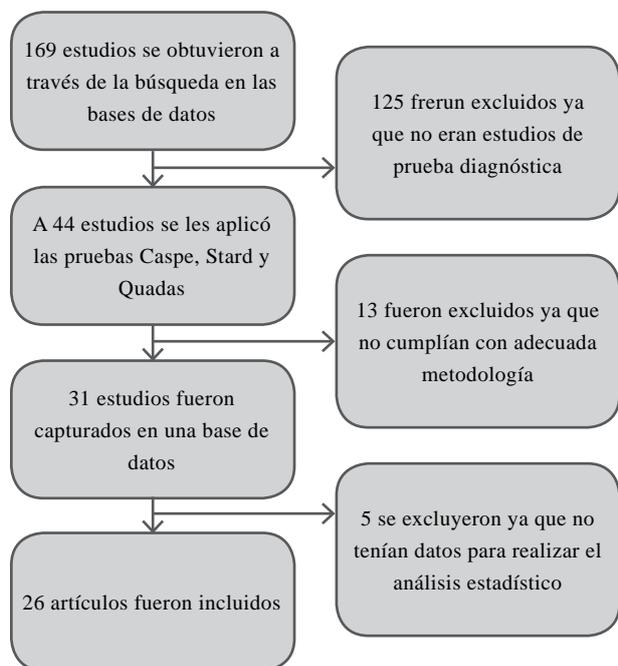
Variable	Definición	Tipo de variable
Autores.	Grupo de investigadores que realizaron el estudio.	Cualitativa, nominal, politómica.
Población.	Grupo de personas con características especiales en quienes se realizó el estudio.	Cualitativa, nominal, dicotómica.
Tamaño de la n.	Total de sujetos incluidos en el estudio.	Cuantitativa, numérica, discreta.
Estándar de referencia.	Prueba que se utilizó como referencia en el estudio.	Cualitativa, nominal, politómica.
Prueba de estudio.	Maniobra que se compara con la prueba de referencia.	Cualitativa, nominal, politómica.
Análisis estadístico.	Qué pruebas se usaron para considerar el valor de p.	Cualitativa, nominal, politómica.
Sensibilidad.	Probabilidad de clasificar correctamente a un individuo enfermo.	Cuantitativa, numérica, continua.
Especificidad.	Probabilidad de clasificar de forma correcta a un individuo sano.	Cuantitativa, numérica, continua.
Valor predictivo positivo.	Probabilidad de padecer la enfermedad dado que se obtiene un resultado positivo en el test.	Cuantitativa, numérica, continua.
Valor predictivo negativo.	Probabilidad de que un sujeto con un resultado negativo en la prueba esté realmente sano.	Cuantitativa, numérica, continua.

2. En los casos en que se evidenció heterogeneidad entre los estudios, el análisis se limitó a un aspecto cualitativo. Con los datos obtenidos, se hizo un análisis del subgrupo homogéneo y finalmente se usó un análisis basado en un modelo de efectos aleatorios.<sup>109</sup>

## Resultados

Se realizó la búsqueda de los artículos mediante las palabras clave (mesh) antes comentadas en las bases de datos ya descritas, obteniendo 169 artículos, de los cuales se descartaron 125, ya que no eran estudios de prueba diagnóstica. De los 44 restantes, se les revisó el resumen y se descartaron 13 artículos ya que al realizarles las evaluaciones CASPe, Stard y Quadas, no tenían una adecuada metodología. Los 31 restantes se capturaron en una base de datos y finalmente 5 se excluyeron ya que no tenían suficientes datos para construir una tabla de 2 x 2 y analizar la utilidad diagnóstica de cada uno. Al final se incluyeron 26 artículos, los cuales comparaban diferentes pruebas (Figura 1).

**Figura 1.** Diagrama de el proceso de inclusión de los estudios.



El artículo de Reina (2007)<sup>110</sup> comparaba cultivo en células LLC contra cultivo en células Vero.

Lee (2006)<sup>111</sup> comparó una prueba de inmunofluorescencia contra cultivo celular.

Cuatro artículos comparaban la reacción en cadena de polimerasa (PCR) contra cultivo, los artículos eran los de Coté (2003),<sup>112</sup> Gruteke(2004),<sup>113</sup> Hopkins(2008)<sup>114</sup> y Sarasini (2006).<sup>115</sup>

Los artículos de Bouscambert-Duchemp-2005,<sup>116</sup> Ishiguro-2005<sup>117</sup> y Jun-2007<sup>118</sup> compararon dos técnicas diferentes de inmunofluorescencia con anticuerpos distintos.

Catorce artículos hicieron la comparación entre inmunofluorescencia y PCR, los artículos fueron realizados por Kikuta-2008, Ebihara-2005, Manoha-2008, Li-2007, Aslanzadeh-2008,<sup>119</sup> Dare-2007,<sup>120</sup> Fenwik-2007,<sup>121</sup> Kuypers-2006,<sup>122</sup> Landry-2005 y Landry-2008,<sup>123-124</sup> Percivalle-2005,<sup>125</sup> Robinson-2008,<sup>126</sup> Van de pol-2006,<sup>127</sup> Vinh-2008.<sup>128</sup>

Los artículos escritos por Kaida-2008<sup>129</sup> y Pierangeli-2007<sup>130</sup> comparaban dos diferentes técnicas de PCR.

Al realizar el análisis individual de cada artículo se obtuvieron los siguientes resultados:

## Artículos incluidos

Reina en 2007 utilizó 483 aspirados nasofaríngeos en los cuales se aisló un virus respiratorio por inmunofluorescencia, los cultivó en dos diferentes medios celulares (LLC y Vero). Vinh D, 2008 realizó pruebas en 453 aspirados respiratorios de pacientes que ingresaban con síntomas respiratorios. Ishiguro N, 2005 realizó inmunofluorescencia con dos diferentes técnicas en 200 muestras nasofaríngeas de pacientes que al azar fueron elegidos. Kuypers J, 2006 examinó 1138 muestras respiratorias que fueron enviadas al laboratorio de virología en Washington. Landry M, 2005 en el que utilizó 159 aspirados nasofaríngeos, no tenía límite de edad; Landry en 2008 realizó comparación entre inmunofluorescencia y PCR de 202 muestras que fueron enviadas al laboratorio de virología clínica. Ebihara T en 2005 comparó inmunofluorescencia contra PCR en muestras nasofaríngeas de 48 niños en Sapporo, Japón. Manoha C, 2008 comparó en 1386 muestras de secreciones respiratorias en Dijon la inmunofluorescencia contra la

PCR. Percivalle E, 2005 realizó pruebas de inmunofluorescencia y las comparó con tra PCR en 40 aspirados nasofaríngeos en pacientes hospitalizados por afección respiratoria. Robinson J, 2008 comparó la detección de virus por inmunofluorescencia en 137 muestras nasofaríngeas comparándolas contra PCR en niños menores de 17 años en Edmonton, Alberta, Canadá. Van de Pol A, 2006 desarrolló pruebas virales con inmunofluorescencia y las comparó contra PCR en 23 niños menores de 25 años en Wilhemina. Vinh D, 2008 desarrolló una prueba de inmunofluorescencia que comparó contra PCR en 454 aspirados nasofaríngeos en la Universidad de McGill. Kaida A, 2008 comparó PCR en tiempo real contra PCR convencional en 146 muestras de pacientes con enfermedad respiratoria en Osaka, Japón. Pierangeli A, 2007 comparó dos pruebas diferentes de PCR en 227 niños en Roma, Italia.

Al tener los datos ordenados por grupos clasificados por la prueba de estudio contra la prueba de referencia (ej. PCR contra cultivo, etc.) se realizó análisis para determinación de la heterogeneidad mediante el programa Review Manager versión 5.<sup>136</sup> Los resultados obtenidos de éste análisis son los siguientes:

Del grupo de estudios que comparaban cultivo contra cultivo en diferentes líneas celulares (células LLC y células Vero) sólo hubo un artículo (Reina-2007) en el cual podemos observar que existe una excelente sensibilidad y especificidad (100%) para ambas pruebas (Gráfica 1 y 2). De los estudios que compararon inmunofluorescencia contra cultivo se obtuvo un artículo, el cual mostró una sensibilidad de 67% con intervalos de confianza (IC) entre 40 y 90% (Gráfica 3), y especificidad de 91% (Gráfica 4). Se analizaron cuatro artículos que compararon el uso de la PCR contra cultivo, donde vemos que la PCR obtuvo sensibilidad de 100% en el estudio de Coté-2003 con IC de 80-100% y la especificidad no se determinó (Gráfica 5). El estudio de Gruteke-2004 mostró sensibilidad de 88% con IC 47-100% y de 55% con IC 48-63% (Gráfica 6). El estudio de Hopkins-2008 obtuvo sensibilidad de 80% con IC 44-97% (Gráfica 5) y de 69% con IC 41-89% (Gráfica 6). El estudio realizado por Sarasini-2006 nos evidenció sensibilidad de 92% con IC 64-100% (Gráfica 5) y especificidad de 36% con IC 13-95% (Gráfica 6). Tres artículos compararon el uso de inmunofluorescencia

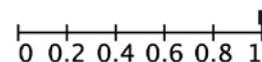
comparado con inmunofluorescencia observado en el realizado por Bouscambert-Duchamp-2005 con sensibilidad de 19% e IC 7-36% (Gráfica 7) y especificidad de 98% con IC 91-100% (Gráfica 8). El artículo escrito por Ishiguro-2005 obtuvo sensibilidad de 89% con IC de 83-93% y no se determinó la especificidad. El estudio realizado por Jun-2007 mostró sensibilidad de 41% con IC 33-50% (Gráfica 7) y de 90% con IC 79-97% (Gráfica 8). El grupo de estudios que compararon inmunofluorescencia contra PCR tiene 14 artículos, donde observamos resultados diversos; en el realizado por Aslanzadeh-2008 se muestra sensibilidad de 95% con IC 76-100% (Gráfica 9) y de 98% con IC 96-99% (Gráfica 10). El artículo escrito por Dare-2007 obtuvo sensibilidad de 93% con IC 68-100% (Gráfica 9) y de 96% con IC 93-98% (Gráfica 10). Ebihara-2005 desmostró en su estudio una sensibilidad de 73% con IC 45-92% (Gráfica 9) y de 97% con IC de 84-100% (Gráfica 10). Fenwick-2007 tiene resultado de sensibilidad de 100% con IC 94-100% (Gráfica 9) y de 100% IC 99-100% (Gráfica 10). Kikuta-2008 obtuvo sensibilidad de 71% con IC 58-81% (Gráfica 9) y de 96% con IC 91-98% (Gráfica 10). En el estudio que realizó Kuypers-2006 se muestra sensibilidad de 99% con IC 98-100% (Gráfica 9) y 74% de IC 71-78% (Gráfica 10). El artículo escrito por Landry-2008 muestra sensibilidad de 85% con IC 72-94% (Gráfica 9) y de 99% con IC 96-100% (Gráfica 10). Landry-2005 mostró sensibilidad de 80% IC 52-95% (Gráfica 9) y especificidad de 99% con IC 97-100% (Gráfica 10). El estudio que realizó Li-2007 muestra una sensibilidad de 80% con IC 52-96% (Gráfica 9) y especificidad de 100% con IC 98-100% (Gráfica 10). En el artículo de Manoha-2008 se observó la especificidad de 100% con IC 91-100% (Gráfica 9) y sensibilidad de 99% con IC 97-100% (Gráfica 10). Percivalle-2005 en su estudio tuvo los resultados de sensibilidad de 74% con IC 52-90% (Gráfica 9) y especificidad de 94% con IC 71-100% (Gráfica 10). Robinson-2008 en su artículo tiene sensibilidad de 93% con IC 85-97% (Gráfica 9) y especificidad de 58% con IC 42-73% (Gráfica 10). En el estudio de Van de Pol-2006 muestra sensibilidad de 100% IC 03-100% (Gráfica 9) y especificidad de 50% con IC 28-72% (Gráfica 10). Vinh-2008 mostró una sensibilidad de 95% con IC 76-100% (Gráfica 9) y especificidad de 100% IC 95-100 (Gráfica 10). En el último grupo donde se comparan dos pruebas de PCR por tener diferentes primers se obtuvieron dos estudios, los cuales se reportan

con sensibilidad de 63% con IC 24-91% (Gráfica 11) y especificidad de 100% con IC 97-100% (Gráfica 12) en el estudio de Kaida-2008 y en el estudio realizado por

Pierangeli-2007 se mostró sensibilidad de 8% con IC 4-15% (Gráfica 11) y especificidad de 96% con IC 91-98% (Gráfica 12).

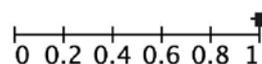
**Gráfica 1.** Sensibilidad de estudios que comparan cultivo vs cultivo.

Estudio	N	VP	FP	Sensibilidad (IC 95%)
Reina 2007	483	400	0	1.00 (0.99, 1.00)



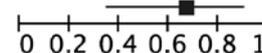
**Gráfica 2.** Especificidad de estudios que comparan cultivo vs cultivo.

Estudio	N	FN	VN	Especificidad (IC 95%)
Reina 2007	483	0	83	1.00 (0.96, 1.00)



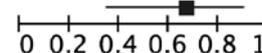
**Gráfica 3.** Sensibilidad de estudios que comparan inmufluorescencia vs cultivo.

Estudio	N	VP	FP	Sensibilidad (IC 95%)
Lee 2006	439	8	40	0.67 (0.35, 0.90)



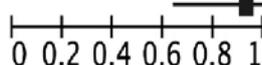
**Gráfica 4.** Especificidad de estudios que comparan inmufluorescencia vs cultivo.

Estudio	N	FN	VN	Especificidad (IC 95%)
Lee 2006	439	4	387	0.91 (0.87, 0.93)



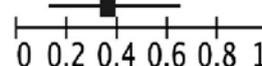
**Gráfica 5.** Sensibilidad de estudios que comparan PCR vs cultivo.

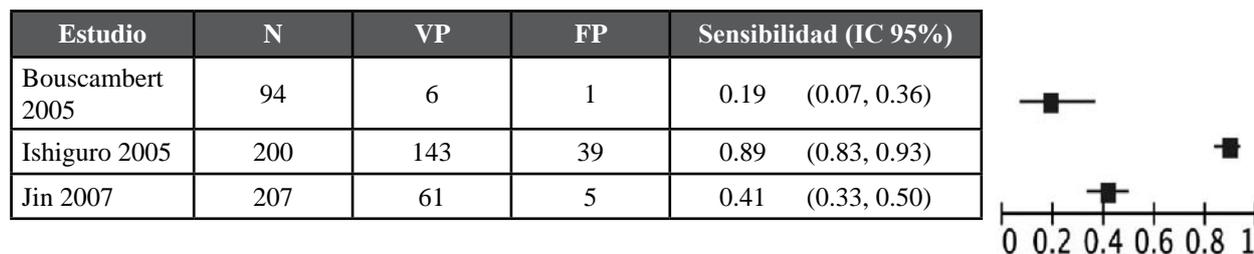
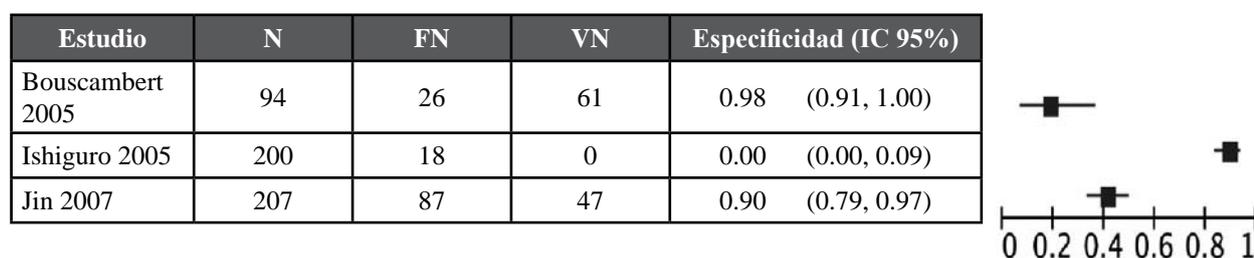
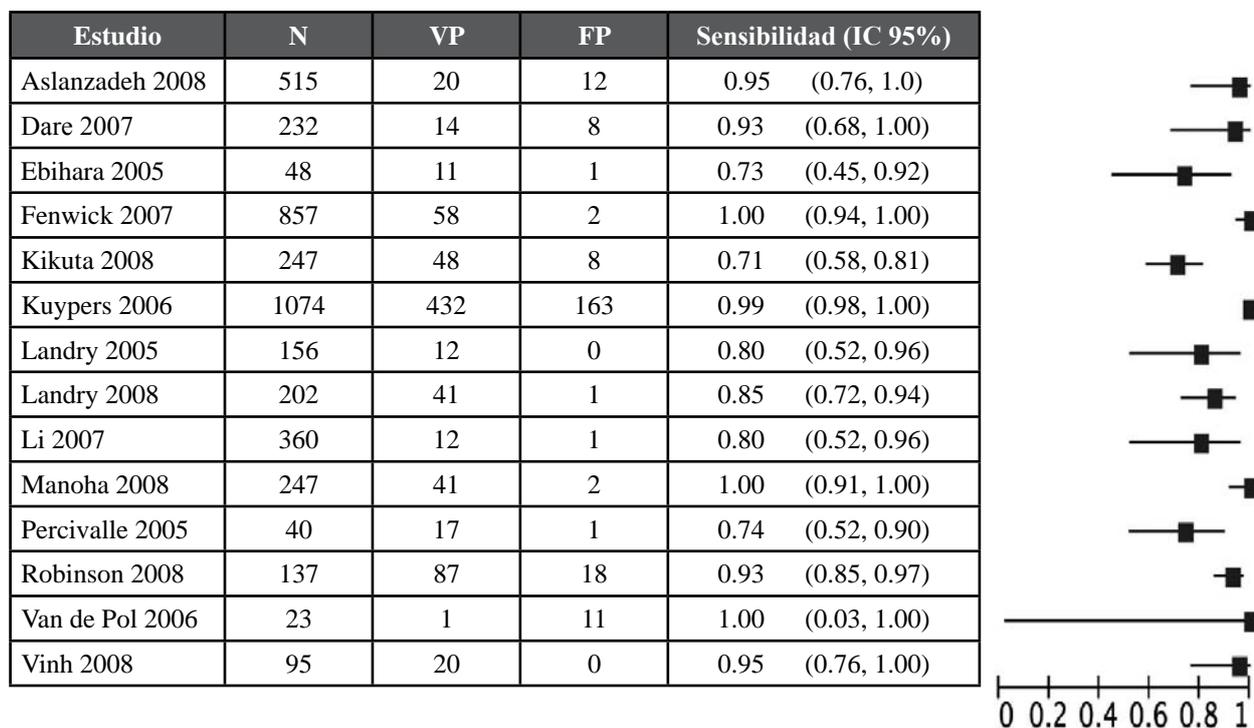
Estudio	N	VP	FP	Sensibilidad (IC 95%)
Coté 2003	20	18	2	1.0 (0.81, 1.00)
Gruteke 2004	174	7	74	0.88 (0.47, 1.00)
Hopkins 2008	26	8	5	0.80 (0.44, 0.97)
Sarasini 2006	27	12	9	0.92 (0.64, 1.00)



**Gráfica 6.** Especificidad de estudios que comparan PCR vs cultivo.

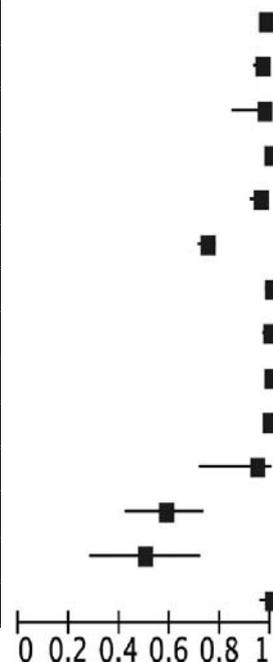
Estudio	N	FN	VN	Especificidad (IC 95%)
Coté 2003	20	0	0	0.0 (0.00, 0.84)
Gruteke 2004	174	1	92	0.55 (0.48, 0.63)
Hopkins 2008	26	2	11	0.69 (0.41, 0.89)
Sarasini 2006	27	1	5	0.36 (0.13, 0.65)



**Gráfica 7.** Sensibilidad de estudios que comparan inmufluorescencia vs inmunofluorescencia.**Gráfica 8.** Especificidad de estudios que comparan inmufluorescencia vs inmunofluorescencia.**Gráfica 9.** Sensibilidad de estudios que comparan inmufluorescencia vs PCR.

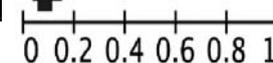
**Gráfica 10.** Especificidad de estudios que comparan inmufluorescencia vs PCR.

Estudio	N	FN	VN	Especificidad (IC 95%)
Aslanzadeh 2008	515	1	482	0.98 (0.96, 0.99)
Dare 2007	232	1	209	0.96 (0.93, 0.98)
Ebihara 2005	48	4	32	0.97 (0.84, 1.00)
Fenwick 2007	857	0	797	1.00 (0.99, 1.00)
Kikuta 2008	247	20	171	0.96 (0.91, 0.98)
Kuypers 2006	1074	3	476	0.74 (0.71, 0.78)
Landry 2005	156	3	141	1.00 (0.97, 1.00)
Landry 2008	202	7	153	0.99 (0.96, 1.00)
Li 2007	360	3	344	1.00 (0.98, 1.00)
Manoha 2008	247	0	204	0.99 (0.97, 1.00)
Percivalle 2005	40	6	16	0.94 (0.71, 1.00)
Robinson 2008	137	7	25	0.58 (0.42, 0.73)
Van de Pol 2006	23	0	11	0.50 (0.28, 0.72)
Vinh 2008	95	1	74	1.00 (0.95, 1.00)



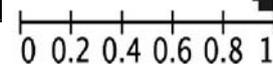
**Gráfica 11.** Sensibilidad de estudios que comparan PCR vs PCR.

Estudio	N	VP	FP	Sensibilidad (I de C 95%)
Kaida 2008	146	5	0	0.63 (0.24, 0.91)
Pierangeli 2007	235	8	6	0.08 (0.04, 0.15)



**Gráfica 12.** Especificidad de estudios que comparan PCR vs PCR.

Estudio	N	FN	VN	Especificidad (IC 95%)
Kaida 2008	146	3	138	1.00 (0.97, 1.00)
Pierangeli 2007	235	91	130	0.96 (0.91, 0.98)



## Discusión

Los resultados obtenidos en este estudio nos muestran que la mejor prueba es el cultivo viral, lo cual ya estaba descrito en la literatura. Esta es la prueba de referencia para el aislamiento o detección de los virus respiratorios, en específico para Metapneumovirus humano, lo vemos en el estudio de Reina-2007 donde ambas líneas celulares

mostraron 100% de sensibilidad y especificidad con intervalos de confianza muy estrechos lo que nos indica que tiene un adecuado tamaño de muestra. Sin embargo, a pesar de que el cultivo es el mejor medio de aislamiento viral, este no se realiza en todos los ámbitos clínicos pues requiere tecnología especial y además es caro para su realización.

En cuanto a otras pruebas, existen la reacción en cadena de polimerasa, la inmunofluorescencia y la serología, sin embargo, de esta última no se encontró ningún artículo.

Hubo artículos donde se comparaban inmunofluorescencia contra cultivo (Lee-2006) con sensibilidad de 67% y especificidad de 91%, lo que lo hace un estudio muy útil para descartar el componente Metapneumovirus humano en un proceso respiratorio. Acerca de PCR contra PCR (Kaida-2008 sensibilidad 63%, especificidad 100%; Pierangeli-2007 sensibilidad 8%, especificidad 96%) sólo se pudo analizar uno de la primera comparación y dos de la segunda lo que hace muy difícil hacer un análisis estadístico de los resultados de ambos estudios y, como en el caso anterior, solo son útiles para excluir al Metapneumovirus humano.

A pesar de que la PCR también requiere una tecnología especial, es más fácil realizar esta que el cultivo, además de que la PCR tarda mucho menos tiempo (6-8 horas) que el cultivo y en la literatura se reporta una sensibilidad y especificidad muy altas (97-99% respectivamente), encontramos 4 artículos que comparaban la PCR contra el cultivo donde se observaron resultados diversos ya que hay artículos como el de Coté-2003 que muestra 100% de especificidad pero 0% de sensibilidad, lo que puede ser por su pequeña muestra (20 pacientes). Lo que se concluye en este artículo es que la PCR se puede utilizar como prueba de exclusión y no confirmatoria, sin embargo, en otros artículos se tienen también una buena sensibilidad (80-92%) y especificidad que varía entre 36 y 69%, lo que nos indica que efectivamente, la PCR es una adecuada prueba para identificar pacientes.

Dado que la PCR es un estudio al que se tiene más fácil acceso y a que tiene una adecuada utilidad diagnóstica, se ha utilizado en diferentes artículos como prueba de referencia. En este trabajo se encontraron 14 artículos que compararon la inmunofluorescencia contra la PCR, donde 60% de los artículos (8 artículos) muestran sensibilidad arriba de 90% para la inmunofluorescencia, sin embargo, algunos como el de Van de Pol-2006 tienen intervalos de confianza muy amplios, lo que se puede deber a una muestra pequeña (su muestra es de 12 pacientes), en este mismo artículo reportan especificidad de 50%. En cuanto a la especificidad, 78% de estos artículos la

reporta por arriba de 90%, lo que representa que la inmunofluorescencia puede servir como una prueba confirmatoria, sin embargo, su realización es difícil ya que se necesitan equipos especiales y personal capacitado para leer las muestras.

### Conclusión

En este trabajo se puede concluir que la prueba que tiene una mejor utilidad diagnóstica es el cultivo viral pero es poco accesible. La PCR es una buena prueba ya que muestra adecuada utilidad diagnóstica, pero se requieren más estudios comparativos con la prueba de referencia (cultivo) para tener evidencia de mayor peso y la inmunofluorescencia es una buena prueba si se cuenta con el personal capacitado para realizarla. Se requieren más estudios que la comparen contra el cultivo viral, que es la prueba de referencia para el diagnóstico de los Metapneumovirus humanos.

---

### Correspondencia:

**Dr. Raúl Romero Feregrino.**

Av. Cuauhtémoc 271 int. 101 Col. Roma,  
Del. Cuauhtémoc, México D.F., México.

Tel. 55840843.

Correo electrónico: drraul@idisalud.com

---

### Referencias

1. Manoha C, Bour JB, Pitoiset C, et al. Rapid and sensitive detection of Metapneumovirus in clinical specimens by indirect fluorescence assay using a monoclonal antibody. *Journal of medical virology* 2008; 80: 154-158.
2. Li H, McCormac M, Wray R, et al. Simultaneous detection and high-throughput identification of a panel of RNA viruses causing respiratory tract infections. *Journal of clinical microbiology*. 2007; 45 (7): 2105-09.
3. Kikuta H, Sakata C, Gamo R, et al. Comparison of a lateral-flow immunochromatography assay with real-time reverse transcription-PCR for detection of human metapneumovirus. *Journal of clinical microbiology*. 2008; 46 (3): 928-32.
4. Ebihara T, Endo R, Ma X, et al. Detection of human metapneumovirus antigens in nasopharyngeal secretions by an immunofluorescent-antibody test. *Journal of clinical microbiology*. 2005; 43 (3): 1138-41.
5. Reijmans M, Dingemans G, Klaassen C, et al. RespiFinder: a new multiparameter test to differentially identify fifteen respiratory viruses. *Journal of clinical microbiology*. 2008; 46 (4): 1232-40.

6. Von Linstow M-L, Hogh M, Arne NS, et al. A community study of clinical traits and risk factors for human metapneumovirus and respiratory syncytial virus infection during the first year of life. *Eur J Pediatr*. 2008; 167: 1125–1133.
7. Louie J, Schnurr D, Pan C-Y, et al. A Summer Outbreak of Human Metapneumovirus Infection in a Long-Term-Care Facility. *The Journal of Infectious Diseases*. 2007; 196: 705–8.
8. Hart CA, Cuevas L. Acute respiratory infections in children. *Rev. Bras. Saúde Matern. Infant., Recife*. 2007; 7 (1): 23-29.
9. Don M, Fasioli L, Paldanius M, et al. Aetiology of community-acquired pneumonia: Serological results of a paediatric survey. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases*. 2005; 37: 806-812.
10. Boivin G, De Seres G, Hamelin M-E, et al. An Outbreak of Severe Respiratory Tract Infection Due to Human Metapneumovirus in a Long-Term Care Facility. *Clinical Infectious Diseases* 2007; 44:1152–8.
11. Mizuta K, Abiko C, Aoki Y, et al. Analysis of Monthly Isolation of Respiratory Viruses from Children by Cell Culture Using a Microplate Method: a Two-Year Study from 2004 to 2005 in Yamagata, Japan. *Jpn. J. Infect. Dis*. 2008; 61: 196-201.
12. Jofré ML, Luchsinger FV, Zepeda FG. Apnea como forma de presentación de una infección por metapneumovirus humano. *Rev Chil Infect* 2007; 24 (4): 313-318.
13. Williams JV, Tollefson SJ, Nair S, et al. Association of human metapneumovirus with acute otitis media. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*. 2006; 70 (7): 1189–1193.
14. Aberle SW, Aberle JH, Sandhofer MJ, et al. Biennial Spring Activity of Human Metapneumovirus in Austria. *Pediatr Infect Dis J*. 2008; 27: 1065–1068.
15. Reina J, Ferrés F, Mena A, et al. Características clínicas y epidemiológicas de las infecciones respiratorias causadas por el metapneumovirus humano en pacientes pediátricos. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2008; 26 (2): 72-6.
16. Regev L, Hindiyeh M, Shulman LM. Characterization of Human Metapneumovirus Infections in Israel. *Journal of Clinical Microbiology*. 2006; 44 (4): 484–1489.
17. Peret TCT, Boivin G, Li Y, et al. Characterization of Human Metapneumoviruses Isolated from Patients in North America. *The Journal of Infectious Diseases* 2002; 185: 1660–3.
18. Wyde PR, Chetty SN, Jewell AM, et al. Comparison of the inhibition of human metapneumovirus and respiratory syncytial virus by ribavirin and immune serum globulin in vitro. *Antiviral Research*. 2003; 60: 51–59.
19. Wolf DG, Greenberg D, Kalkstein D, 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: 320–324.
20. Lambert SB, Allen KM, Druce JD. Community Epidemiology of Human Metapneumovirus, Human Coronavirus NL63, and Other Respiratory Viruses in Healthy Preschool-Aged Children Using Parent-Collected Specimens. *Pediatrics*. 2007; 120 (4): e929-937.
21. Matsuzaki Y, Itagaki T, Abiko C, et al. Clinical Impact of Human Metapneumovirus Genotypes and Genotype-Specific Seroprevalence in Yamagata, Japan. *Journal of Medical Virology*. 2008; 80: 1084–1089.
22. Van Den Hoogen BG, Osterhaus DME, Fouchier R. Clinical impact and diagnosis of human metapneumovirus infection. *Pediatr Infect Dis J*, 2004; 23 (1): S25–32.
23. Baer G, Schaad UB, Heininger U. Clinical findings and unusual epidemiologic characteristics of human metapneumovirus infections in children in the region of Basel, Switzerland. *Eur J Pediatr*. 2008; 167: 63–69.
24. Morrow BM, Hatherill M, Smuts HEM. Clinical course of hospitalised children infected with human metapneumovirus and respiratory syncytial virus. *Journal of Paediatrics and Child Health*. 2006; 42: 174–178.
25. Malik PJS, Tang W-T, Chan K-H, et al. Children with Respiratory Disease Associated with Metapneumovirus in Hong Kong. *Emerging Infectious Diseases*. 2003; 9 (6): 628-633.
26. Herd KA, Mahalingam S, Mackay IM, et al. Cytotoxic T-Lymphocyte Epitope Vaccination Protects against Human Metapneumovirus Infection and Disease in Mice. *Journal of virology*. 2006; 80 (4): 2034–2044.
27. Ljubic SS, Santak M, Cepin BJ. Detection of Genetic Lineages of Human Metapneumovirus in Croatia During the Winter Season 2005/2006. *Journal of Medical Virology*. 2008; 80: 1282–1287.
28. Kuypers J, Wright N, Corey L, et al. Detection and quantification of human metapneumovirus in pediatric specimens by real-time RT-PCR. *Journal of Clinical Virology*. 2005; 33: 299–305.
29. Klig JE. Current challenges in lower respiratory infections in children. *Current Opinion in Pediatrics* 2004; 16: 107–112.
30. Hamano HK, Moroumi M, Nakayama E, et al. Comprehensive detection of causative pathogens using real-time PCR to diagnose pediatric community-acquired pneumonia. *J Infect Chemother*. 2008; 14: 424–432.
31. Vicente D, Montes M, Cilla G, et al. Differences in Clinical Severity between Genotype A and Genotype B Human Metapneumovirus Infection in Children. *Clinical Infectious Diseases*. 2006; 42: e111–3.
32. Pabbaraju K, Wong S, Mcmillan T, et al. Diagnosis and epidemiological studies of human metapneumovirus using real-time PCR. *Journal of Clinical Virology*. 2007; 40: 186–192.
33. Chung JY, Hee HT, Woo KS. Detection of Viruses Identified Recently in Children With Acute Wheezing. *Journal of Medical Virology*. 2007; 79: 1238–1243.
34. Fodha I, Legrand L, Vabret A, et al. Detection of human metapneumovirus in two Tunisian Children. *Annals of Tropical Paediatrics*. 2004; 24: 275–276.
35. Koetz A, Nilsson P, Lindé M, et al. Detection of human coronavirus NL63, human metapneumovirus and respiratory syncytial virus in children with respiratory tract infections in south-west Sweden. *Clin Microbiol Infect* 2006; 12: 1089–1096.
36. Tang RS, Schickli JH, Macphail M, et al. Effects of Human Metapneumovirus and Respiratory Syncytial Virus Antigen Insertion in Two 3- Proximal Genome Positions of Bovine/ Human Parainfluenza Virus Type 3 on Virus Replication and Immunogenicity. *Journal of Virology*. 2003; 77 (20): 10819–10828.
37. Semple MG, Cowell A, Dove W, et al. Dual Infection of Infants by Human Metapneumovirus and Human Respiratory Syncytial Virus Is Strongly Associated with Severe Bronchiolitis. *The Journal of Infectious Diseases*. 2005; 191: 382–6.
38. Chano F, Rousseau C, Laferrière C, et al. Epidemiological Survey of Human Metapneumovirus Infection in a Large Pediatric Tertiary Care Center. *Journal of Clinical Microbiology*. 2005; 43 (11): 5520–5525.

39. Galiano M, Videla C, Sanchez PS. Evidence of Human Metapneumovirus in Children in Argentina. *Journal of Medical Virology*. 2004; 72: 299–303.
40. Mejía A, Chávez BS, Ramilo O. Human metapneumovirus: a not so new virus. *Pediatr Infect Dis J*. 2004; 23 (1): 1–10.
41. Qin Z, Xi-qiang Y, Yao Z, et al. High seroprevalence of human metapneumovirus infection in children in Chongqing, China. *Chin Med J* 2008; 121 (21): 2162-2166.
42. Chung JY, Hee HT, Woo KS, et al. Genotype Variability of Human Metapneumovirus, South Korea. *Journal of Medical Virology*. 2008; 80: 902–905.
43. André DP, Cantarelli V. Human Metapneumovirus and Human Coronavirus NL63. *Pediatrics*. 2008; 121: 445-446.
44. Von Linstow ML, Henrik LH, Eugenolsen J, et al. Human Metapneumovirus and Respiratory Syncytial Virus in Hospitalized Danish Children with Acute Respiratory Tract Infection. *Scand J Infect Dis*. 2004; 36: 578-584.
45. Teeratakulpisarn J, Ekakalasananan T, Pietong C, et al. Human Metapneumovirus and Respiratory Syncytial Virus Detection in Young Children with Acute Bronchiolitis. *Asian Pacific Journal of Allergy and Immunology*. 2007; 25: 139-145.
46. Williams JV, Harris PA, Tollefson SJ. Human Metapneumovirus and Lower Respiratory Tract Disease in Otherwise Healthy Infants and Children. *N Engl J Med*. 2004; 350: 443-50.
47. Crowe J. Human Metapneumovirus as a Major Cause of Human Respiratory Tract Disease. *Pediatr Infect Dis J*. 2004; 23: S215–S221.
48. Stockton J, Stephenson I, Fleming D, et al. Human Metapneumovirus as a Cause of Community-Acquired Respiratory Illness. *Emerging Infectious Diseases*. 2002; 8 (9): 897-901.
49. Garcia DF, Hiatt PW, Jewell A, et al. Human Metapneumovirus and Respiratory Syncytial Virus Infections in Older Children With Cystic Fibrosis. *Pediatric Pulmonology*. 2007; 42: 66–74.
50. Cane PA, Van den Hoogen BG, Chakrabarti S, et al. Human metapneumovirus in a haematopoietic stem cell transplant recipient with fatal lower respiratory tract disease. *Bone Marrow Transplantation*. 2003; 31: 309–310.
51. Principi N, Bosis S, Esposito S. Human metapneumovirus in paediatric patients. *Clin Microbiol Infect*. 2006; 12: 301–308.
52. Hopkins P, McNeil K, Kermeen F, et al. Human Metapneumovirus in Lung Transplant Recipients and Comparison to Respiratory Syncytial Virus. *Am J Respir Crit Care Med*. 2008; 178: 876–881.
53. Werno AM, Anderson TP, Jennings LC. Human metapneumovirus in children with bronchiolitis or pneumonia in New Zealand. *J. Paediatr. Child Health*. 2004; 40: 549–551.
54. Falsey AR. Human Metapneumovirus Infection in Adults. *Pediatr Infect Dis J* 2008; 27: S80–S83.
55. Larcher C, Geltner C, Fischer H, et al. Human Metapneumovirus Infection in Lung Transplant Recipients: Clinical Presentation and Epidemiology. *J Heart Lung Transplant*. 2005; 24: 1891–901.
56. Ijma F, Beekhuis D, Cotton MF, et al. Human Metapneumovirus Infection in Hospital Referred South African Children. *Journal of Medical Virology*. 2004; 73: 486–493.
57. Wang S-M, Liu C, Wang C, et al. Human metapneumovirus infection among children in Taiwan: a comparison of clinical manifestations with other virus-associated respiratory tract infections. *Clin Microbiol Infect*. 2006; 12: 1221–1224.
58. Thanasugarn W, Samransamruajkit R, Vanapongtipagorn P. Human Metapneumovirus Infection in Thai Children. *Scand J Infect Dis*. 2003; 35: 754-756.
59. Caracciolo S, minini C, Colombrita D. Human Metapneumovirus Infection in Young Children Hospitalized With Acute Respiratory Tract Disease Virologic and Clinical Features. *Pediatr Infect Dis J*. 2008; 27: 406–412.
60. Esper F, Boucher D, Weibel C. Human Metapneumovirus infection in the United States: Clinical Manifestations Associated With a Newly Emerging Respiratory Infection in Children. *Pediatrics*. 2003; 111: 1407–1410.
61. Boivin G, Derres G, Cote S. Human Metapneumovirus Infections in Hospitalized Children. *Emerging Infectious Diseases*. 2003; 9 (6): 634-640.
62. Noyola DE, Alpuche-Solís AG, Herrera-díaz A, et al. Human metapneumovirus infections in Mexico: epidemiological and clinical characteristics. *Journal of Medical Microbiology*. 2005; 54: 969–974.
63. Wilkesmann A, Schildgen O, Eis-Hubinger A, et al. Human metapneumovirus infections cause similar symptoms and clinical severity as respiratory syncytial virus infections. *Eur J Pediatr*. 2006; 165: 467–475.
64. García-García ML, Calvo C, Matín F, et al. Human metapneumovirus infections in hospitalized infants in Spain. *Arch Dis Child*. 2006; 91: 290–295.
65. Derdowski, Peters TR, Glover N, et al. Human metapneumovirus nucleoprotein and phosphoprotein interact and provide the minimal requirements for inclusion body formation. *Journal of General Virology*. 2008; 89: 2698–2708.
66. Alvarez R, Harrpd K, Shieh W, et al. Human Metapneumovirus Persists in BALB/c Mice despite the Presence of Neutralizing Antibodies. *Journal of Virology*. 2004; 78 (24): 14003–14011.
67. Ulloa GR. Human metapneumovirus: a new agent in the differential diagnosis of respiratory tract infection. *An Pediatr*. 2003; 59 (2): 1-2.
68. Don M, Korppi M, Valent F. Human metapneumovirus pneumonia in children: Results of an Italian study and mini-review. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases*. 2008; 40: 821-826.
69. Broor S, Bharaj P, Chahar HS. Human metapneumovirus: a new respiratory pathogen. *J. Biosci*. 2008; 33 (4): 483–493.
70. Prins JM, Wolthers KC. Human metapneumovirus: a new pathogen in children and adults. *The Netherland journal of medicine*. 2004; 62 (6): 177-179.
71. Gray G, Capuano A, Setterquist S, et al. Human Metapneumovirus, Peru. *Emerging Infectious Diseases*. 2006; 12 (2): 347-350.
72. Ong BH, Gao Q, Phoon MC, et al. Identification of human metapneumovirus and Chlamydomphila pneumoniae in children with asthma and wheeze in Singapore. *Singapore Med J*. 2007; 48 (4): 291-293.
73. Mallimaci M, Espul C, Sijvarger C, et al. Infección Respiratoria Aguda por metapneumovirus humano en Ushuaia, Argentina: descripción del primer caso. *Arch.argent.pediatr* 2006; 104 (2): 150-152.
74. Nicholson K, McNally T, Silverman M, et al. Influenza-related hospitalizations among young children in Leicestershire. *Pediatr Infect Dis J*. 2003; 22 (10): S228–30.
75. García GM, Calvo RC, Martín VF. Infecciones respiratorias

- por metapneumovirus en lactantes hospitalizados. *An Pediatr.* 2004; 61(3): 213-8.
76. Christensen A, Arne S, Jeansson S, et al. Lower Respiratory Tract Infection Caused by Human Metapneumovirus in Two Children: The First Report of Human Metapneumovirus Infection in Norway. *Scand J Infect Dis.* 2008; 35: 772-775.
  77. Prado M, Perret C, Montecinos L, et al. Metapneumovirus humano como causa de hospitalización en niños bajo 3 años de edad, con infección respiratoria aguda, durante el año 2004. *Rev Chil Infect.* 2007; 24 (1): 19-26.
  78. Jartti T, Van den Hoogen B, Garofalo R, et al. Metapneumovirus and acute wheezing in children. *Lancet* 2002; 360: 1393-94.
  79. Schildgen O, Geikowski T, Glatzela T. New variant of the human metapneumovirus (HMPV) associated with an acute and severe exacerbation of asthma bronchiale. *Journal of Clinical Virology.* 2004; 31: 283-288.
  80. Maffey A. Nuevos virus asociados a infecciones respiratorias en niños. *Arch Argent Pediatr.* 2008; 106 (4): 341-350.
  81. Semple M, Booth J, Ebrahimi B. Most human metapneumovirus and human respiratory syncytial virus in infant nasal secretions is cell free. *Journal of Clinical Virology.* 2007; 40: 241-244.
  82. Maffey A, Venialgo C, Barrero P, et al. Nuevos virus respiratorios en niños de 2 meses a 3 años con sibilancias recurrentes. *Arch Argent Pediatr.* 2008; 106(4): 302-309.
  83. Vargas S, Kozakewich H, Pérez A. Pathology of Human Metapneumovirus Infection: Insights into the Pathogenesis of a Newly Identified Respiratory Virus. *Pediatric and Developmental Pathology.* 2004; 7: 478-486.
  84. Kling J. Office pediatrics: current perspectives on the outpatient evaluation and management of lower respiratory infections in children. *Current Opinion in Pediatrics.* 2006; 18: 71-76.
  85. Freymuth F, Vabret A, Legrand L. Presence of the New Human Metapneumovirus in French Children with Bronchiolitis. *The Pediatric Infectious Disease Journal.* 2003; 22 (1): 92-94.
  86. Madhi S, Ludewick H, Kuwanda L, et al. Pneumococcal Coinfection with Human Metapneumovirus. *The Journal of Infectious Diseases.* 2006; 193:1236-43.
  87. Mahalingam S, Schwarza J, Zaid A, et al. Perspective on the host response to human metapneumovirus infection: what can we learn from respiratory syncytial virus infections? *Microbes and Infection.* 2006; 8: 285-293.
  88. Khetsuriani N, Neely N, Erdman D, et al. Prevalence of viral respiratory tract infections in children with asthma. *Allergy Clin Immunol.* 2007; 119: 314-21.
  89. Barenfanger J, Mueller T, O'Brien J. Prevalence of Human Metapneumovirus in Central Illinois in Patients Thought To Have Respiratory Viral Infection. *Journal of Virology.* 2004; 78 (15): 8264-8270.
  90. Bredius R, Templeton K, Schlynga. Prospective Study of Respiratory Viral Infections in Pediatric Hemopoietic Stem Cell Transplantation Patients. *Pediatr Infect Dis J.* 2004; 23: 518-522.
  91. Gerna G, Sarasini A, Percivalle E, et al. Prospective study of human metapneumovirus infection: Diagnosis, typing and virus quantification in nasopharyngeal secretions from pediatric patients. *Journal of Clinical Virology.* 2007; 40: 236-240.
  92. Bingen E, Cohen R, Jourenkova N. Epidemiologic study of Conjunctivitis-Otitis Syndrome. *The Pediatric Infectious Disease Journal.* 2005; 24 (8): 733-735.
  93. Rohde G, Borg I, Arinir U, et al. Relevance of human metapneumovirus in exacerbations of COPD. *Respiratory Research.* 2005, 6:150.
  94. Hayden F. Respiratory viral threats. *Curr Opin Infect Dis.* 2006; 19: 169-178.
  95. Jartti T, Lehtinen P, Vuorinen T, et al. Respiratory Picornaviruses and Respiratory Syncytial Virus as Causative Agents of Acute Expiratory Wheezing in Children. *Emerging Infectious Diseases.* 2004; 10 (6): 1095-1101.
  96. Smuts H, Workman L, Zar H. Role of Human Metapneumovirus, Human Coronavirus NL63 and Human Bocavirus in Infants and Young Children With Acute Wheezing. *Journal of Medical Virology.* 2008; 80: 906-912.
  97. Costa LF, Yokosawa J, Mantese OC, et al. Respiratory viruses in children younger than five years old with acute respiratory disease from 2001 to 2004 in Uberlândia, MG, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2006; 101 (3): 301-306.
  98. Peck A, Englund J, Kuypers J, et al. Respiratory virus infection among hematopoietic cell transplant recipients: evidence for asymptomatic parainfluenza virus infection. *Blood.* 2007; 110: 1681-1688.
  99. Alvarez R, Jones L, Seal B, et al. Serological cross-reactivity of members of the Metapneumovirus genus. *Virus Research.* 2004; 105: 67-73.
  100. Madhi S, Ludewick H, Kuwanda L, et al. Seasonality, Incidence, and Repeat Human Metapneumovirus Lower Respiratory Tract Infections in an Area With a High Prevalence of Human Immunodeficiency Virus Type-1 Infection. *Pediatr Infect Dis J.* 2007; 26: 693-699.
  101. Kaida A, Iritani N, Kubo H, et al. Seasonal distribution and phylogenetic analysis of human metapneumovirus among children in Osaka City, Japan. *Journal of Clinical Virology.* 2006; 35: 394-399.
  102. Ordas J, Boga JA, Alvarez-Arguelles. Role of Metapneumovirus in Viral Respiratory Infections in Young Children. *Journal of Clinical Microbiology.* 2006; 44 (8): 2739-2742.
  103. Thomazelli L, Vieira S, Leal A, et al. Surveillance of eight respiratory viruses in clinical samples of pediatric patients in southeast Brazil. *J Pediatr.* 2007; 83 (5): 422-428.
  104. Casas I, Pozo F. Síndrome respiratorio agudo grave, gripe aviar e infección por metapneumovirus humano. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2005; 23 (7): 438-48.
  105. Estrada B, Carter M, Barik S, et al. Severe Human Metapneumovirus Infection in Hospitalized Children. *Clinical Pediatrics.* 2007; 46 (3): 258-262.
  106. Lijmer JC, Moll BW, Heisterkamp S, et al. Empirical evidence of design related bias in studies of diagnostic tests. *JAMA* 1999; 282: 1061-1066.
  107. Bossuyt PM, Reitsma JB, Bruns DE, et al. Towards complete and accurate reporting of studies of diagnostic accuracy: the STARD initiative. *Clin Chem Lab Med.* 2003; 41 (1): 68-73.
  108. Whiting P, Rutjes A, Reitsma J, et al. The development of QUADAS: a tool for the quality assessment of studies of diagnostic accuracy included in systematic reviews. *BMC Medical Research Methodology.* 2003; 3: 25.
  109. Deville W, Buntinx F, Bouter L, et al. Conducting systematic reviews of diagnostic studies: didactic guidelines. *BMC Medical Research Methodology.* 2002; 2: 9.

110. Reina J, Ferres F, Alcoceba E, et al. Comparison of different cell lines and incubation times in the isolation by the shell vial culture of human metapneumovirus from pediatric respiratory samples. *Journal of Clinical Virology*. 2007; 40: 46–49.
111. Lee BE, Robinson JL, Khurana V, et al. Enhanced Identification of Viral and Atypical Bacterial Pathogens in Lower Respiratory Tract Samples With Nucleic Acid Amplification Tests. *Journal of Medical Virology*. 2006; 78: 702–710.
112. Côté S, Abed Y, Boivin G, et al. Comparative Evaluation of Real-Time PCR Assays for Detection of the Human Metapneumovirus. *Journal of Clinical Microbiology*. 2003; 41(8): 3631–3635.
113. Gruteke P, Glas A, Dierdorff M, et al. Practical Implementation of a Multiplex PCR for Acute Respiratory Tract Infections in Children. *Journal of Clinical Microbiology*. 2004; 42 (12): 5596–5603.
114. Hopkins M, Redmond C, Shaw J, et al. Detection and characterisation of human metapneumovirus from children with acute respiratory symptoms in north-west England, UK. *Journal of Clinical Virology*. 2008; 42: 273–279.
115. Sarasini A, Percivalle E, Rovida F, et al. Detection and pathogenicity of human metapneumovirus respiratory infection in pediatric Italian patients during a winter–spring season. *Journal of Clinical Virology*. 2006; 35: 59–68.
116. Bouscambert-Duchamp M, Lina B, Trompette A, et al. Detection of Human Metapneumovirus RNA Sequences in Nasopharyngeal Aspirates of Young French Children with Acute Bronchiolitis by Real-Time Reverse Transcriptase PCR and Phylogenetic Analysis. *Journal of Clinical Microbiology*. 2005; 43 (3): 1411–1414.
117. Ishiguro N, Ebihara T, Endo R, et al. Immunofluorescence Assay for Detection of Human Metapneumovirus-Specific Antibodies by Use of Baculovirus-Expressed Fusion Protein. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*. 2005; 12 (1): 202–205.
118. Jun KR, DaeWoo Y, Sung H, et al. Detection of human metapneumovirus by direct antigen test and shell vial cultures using immunofluorescent antibody staining. *Journal of Virological Methods*. 2008; 152: 109–111.
119. Aslanzadeh J, Zheng X, Li H, et al. Prospective Evaluation of Rapid Antigen Tests for Diagnosis of Respiratory Syncytial Virus and Human Metapneumovirus Infections. *Journal of Clinical Microbiology*. 2008; 46 (5): 1682–1685.
120. Dare R, Sanghavi S, Bullotta A, et al. Diagnosis of Human Metapneumovirus Infection in Immunosuppressed Lung Transplant Recipients and Children Evaluated for Pertussis. *Journal of Clinical Microbiology*. 2007; 45 (2): 548–552.
121. Fenwick F, Young B, McGuckin R, et al. Diagnosis of human metapneumovirus by immunofluorescence staining with monoclonal antibodies in the North-East of England. *Journal of Clinical Virology*. 2007; 40: 193–196.
122. Kuypers J, Wright N, Ferrenberg J. Comparison of Real-Time PCR Assays with Fluorescent-Antibody Assays for Diagnosis of Respiratory Virus Infections in Children. *Journal of Clinical Microbiology*. 2006; 44 (7): 2382–2388.
123. Landry M, Ferguson D, Cohen S, et al. Detection of Human Metapneumovirus in Clinical Samples by Immunofluorescence Staining of Shell Vial Centrifugation Cultures Prepared from Three Different Cell Lines. *Journal of Clinical Microbiology*. 2005; 43 (4): 1950–1952.
124. Landry M, Cohen S, Ferguson D. Prospective Study of Human Metapneumovirus Detection in Clinical Samples by Use of Light Diagnostics Direct Immunofluorescence Reagent and Real-Time PCR. *Journal of Clinical Microbiology*. 2008; 46 (3): 1098–1100.
125. Percivalle E, Sarasini A, Visai L, et al. Rapid Detection of Human Metapneumovirus Strains in Nasopharyngeal Aspirates and Shell Vial Cultures by Monoclonal Antibodies. *Journal of Clinical Microbiology*. 2005; 43 (7): 3443–3446.
126. Robinson JL, Lee BE, Kothapalli S, et al. Use of Throat Swab or Saliva Specimens for Detection of Respiratory Viruses in Children. *Clinical Infectious Diseases* 2008; 46: e61–4.
127. Van de Pol A, Wolfs T, Jansen N, et al. Diagnostic value of real-time polymerase chain reaction to detect viruses in young children admitted to the paediatric intensive care unit with lower respiratory tract infection. *Critical Care*. 2006; 10 (2): 1–7.
128. Vinh D, Newby D, Charest H, et al. Evaluation of a Commercial Direct Fluorescent-Antibody Assay for Human Metapneumovirus in Respiratory Specimens. *Journal of Clinical Microbiology*. 2008; 46 (5): 1840–1841.
129. Kaida A, Kubo H, Shiomi M, et al. Evaluation of Real-Time RT-PCR compared with conventional RT-PCR for detecting Human Metapneumovirus RNA from Clinical Specimens. *Jpn. J. Infect. Dis.* 2008; 61: 41–464.
130. Pierangeli A, Gentile M, Di Marco P, et al. Detection and Typing by Molecular Techniques of Respiratory Viruses in Children Hospitalized for Acute Respiratory Infection in Rome, Italy. *Journal of Medical Virology*. 2007; 79: 463–468.
131. Kyung RJ, Young DW, Heungsup S, Mi-Na. Detection of human metapneumovirus by direct antigen test and shell vial cultures using immunofluorescent antibody staining. *Journal of Virological Methods*. 2008; 152: 109–111.
132. Freymuth F, Vabret A., Cuvillon-Nimal D. Comparison of Multiplex PCR Assays and Conventional Techniques for the Diagnostic of Respiratory Virus Infections in Children Admitted to Hospital With an Acute Respiratory Illness. *Journal of Medical Virology*. 2006; 78: 1498–1504.
133. Scheltinga S., Templeton K., Beersma M. Diagnosis of human metapneumovirus and rhinovirus in patients with respiratory tract infections by an internally controlled multiplex real-time RNA PCR. *Journal of Clinical Virology*. 2005; 33: 306–311.
134. Ginocchio C., Ryhana Manji R., Lotlikar M. Clinical Evaluation of NucliSENS Magnetic Extraction and NucliSENS Analyte-Specific Reagents for Real-Time Detection of Human Metapneumovirus in Pediatric Respiratory Specimens. *Journal of Clinical Microbiology*. 2008; 46 (4): 1274–1280.
135. Lee W., Grindle K., Pappas T. High-Throughput, Sensitive, and Accurate Multiplex PCR-Microsphere Flow Cytometry System for Large-Scale Comprehensive Detection of Respiratory Viruses. *Journal of Clinical Microbiology*. 2007; 45 (8): 2626–2634.
136. Review Manager (RevMan) [Computer program]. Version 5.0. Copenhagen: The Nordic Cochrane Centre, The Cochrane Collaboration, 2008.
137. Moher D, Liberati A, Tetzlaff J, et al. Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses: The PRISMA statement. *PLoS Med* 6(7): e1000097.