

NUEVOS VIRUS RESPIRATORIOS EN PEDIATRÍA

NEW RESPIRATORY VIRUS IN PEDIATRICS

DRA. ERIKA INOSTROZA (1), DR. RICARDO PINTO (2)

(1) Pediatra Broncopulmonar, Hospital de Niños Roberto del Río. Santiago, Chile.

(2) Profesor Asociado de Pediatría y Enfermedades Respiratorias en Niños. Clínica Las Condes. Facultad de Medicina, Universidad de Chile. Hospital de Niños Roberto del Río. Santiago, Chile.

Email: erikainostrozavega@gmail.com, rpinto@clinalascondes.cl

RESUMEN

Las infecciones respiratorias continúan siendo la mayor causa de morbimortalidad en pediatría. Los virus constituyen los agentes infecciosos más frecuentes, actualmente con los avances en las técnicas diagnósticas se han sumado "nuevos virus" entre los que destacan Metapneumovirus (MPVh), Bocavirus (BoVh) y Coronavirus (CoVh), que son el objetivo de este artículo.

Palabras clave: Metapneumovirus humano, Bocavirus, Coronavirus.

SUMMARY

Acute lower respiratory infection is still the leading cause of global morbidity and mortality in children. Viruses are the most frequent pathogen, currently the most common viral etiology VRS, although recently due to advances in diagnostic techniques new viruses have been added, that includes Metapneumovirus (hMPV), Bocavirus (hBoV) and Coronavirus (hCoV), which are the purpose of this review.

Key words: Human Metapneumovirus, Bocavirus, Coronavirus.

INTRODUCCIÓN

Las infecciones respiratorias siguen siendo la mayor causa de morbimortalidad en pediatría, especialmente en pacientes con factores de riesgo como recién nacidos, inmunodeprimidos o portadores de enfermedades crónicas. En países desarrollados, lactantes y preescolares presentan una media de 6 a 10 infecciones virales al año, mientras que escolares y adolescentes alrededor de 3 a 5 (1). Las infecciones de la vía aérea superior habitualmente no constituyen una enfermedad grave, pero se traducen en pérdidas de días de escolaridad y aumento en los gastos de salud. Aproximadamente 6.6 millones de niños menores de 5 años mueren anualmente, siendo la principal causa la neumonía, provocando 1.3 millones de muertes (2).

El diagnóstico etiológico comienza en 1933 con el descubrimiento del virus influenza A (3), posteriormente en la década del 90 con el desarrollo de técnicas de biología molecular se produce un aumento explosivo en el conocimiento de nuevos virus. Mejores pruebas de identificación viral han ayudado a reducir el uso exagerado de antibióticos y han contribuido a disminuir las infecciones intrahospitalarias (1).

Los "clásicos" virus respiratorio sincicial (VRS), influenza, parainfluenza y adenovirus (ADV) son reconocidos por

producir infecciones respiratorias con alto impacto en salud pública. Los rinovirus, históricamente asociados al resfriado común, actualmente son identificados como agentes de neumonía y como desencadenantes de exacerbaciones asmáticas.

Dentro de los “nuevos virus respiratorios” se encuentran Metapneumovirus Humano (MPVh), Bocavirus (BoVh) y Coronavirus (CoVh), los cuales son el objetivo de esta revisión. Hemos dejado a propósito fuera el virus Influenza y sus recientes serotipos porque por sí solo justifican un artículo en el futuro.

METAPNEUMOVIRUS HUMANO (MPVh)

Generalidades

Es un virus RNA de 150 a 600 nm de tamaño, fue descubierto el año 2001, aunque análisis filogenéticos sugieren su existencia por aproximadamente 50 años (4). Se relaciona estrechamente con VRS por su genoma, patología celular y presentación clínica (3).

Pertenece a la familia Paramyxoviridae, subfamilia Pneumovirinae, género Metapneumovirus. Hay 2 genotipos, A y B, y varios subgrupos: A1, A2, B1 y B2. El subgrupo A2 a su vez se divide en A2a y A2b, la clasificación anterior se obtiene de las variantes de dos glicoproteínas, una que es responsable de la adherencia (G) y otra involucrada en la fusión (F). Algunos estudios sugieren que el genotipo A produce enfermedad más severa que el B, otros estudios no han mostrado esta diferencia. La infección por un genotipo no confiere inmunidad protectora cruzada. Igual que VRS, las cepas predominantes circulantes varían año tras año (5).

Epidemiología

Desde el punto de vista epidemiológico, MPVh ha sido detectado en 4 a 16% de los pacientes con infecciones respiratorias agudas, tiene distribución mundial y afecta a todos los grupos etarios (5).

Los brotes ocurren principalmente en primavera e invierno. La infección está asociada con un número importante de hospitalizaciones y consultas ambulatorias en niños menores de 5 años, especialmente durante los primeros 12 meses de vida (6). Estudios de seroprevalencia han mostrado que un alto porcentaje de los niños (90-100%) han sido infectados entre los 5 y 10 años de edad, las reinfecciones pueden ocurrir en adultos (7).

El mecanismo de transmisión es por gotitas y contacto directo con secreciones; el tiempo de incubación habitualmente dura entre 3 y 5 días. Se excreta por un período que varía entre 1 a 6 semanas (8).

Patogenia

MPVh interfiere con la respuesta inmune del huésped usando mecanismos específicos.

El virus antagoniza la respuesta celular mediante la regulación de patrones de reconocimiento de diferentes receptores como los receptores tipo Toll. La infección interfiere con la actividad de células dendríticas y disminuye la activación de células T antígeno específicas. Los virus respiratorios son conocidos por modular la respuesta de citocinas; comparado con VRS e Influenza, MPVh es un inductor menos eficaz de diferentes citocinas como IL-2, TNF-alfa, IL-6, IL-1beta, IL-8 e IL-10. En VRS han sido identificadas 2 proteínas no estructurales (NS1 y NS2) como potentes antagonistas de la vía del interferon, la ausencia de estas proteínas en MPVh puede ser la causa de la diferencia en el nivel de respuesta inmune innata de ambos virus. La infección por MPVh produce inflamación perivascular y peribronquiolar. Hasta la fecha no existe evidencia para determinar si la infección por MPVh se limita al tracto respiratorio o causa infección sistémica (5).

Clínica

Los adultos habitualmente presentan síntomas leves como rinitis, odinofagia y tos. En niños comúnmente se observan coriza, tos, fiebre y en menor frecuencia otitis media aguda, conjuntivitis, rash, diarrea y vómitos. Puede causar bronquiolitis, neumonía y exacerbaciones asmáticas. Las sibilancias son un hallazgo común en múltiples estudios en niños (3-5).

Existen grupos de riesgo de desarrollar enfermedad severa, entre los que se encuentran lactantes (especialmente prematuros), ancianos, inmunodeprimidos, pacientes institucionalizados y con enfermedades crónicas respiratorias, cardiovasculares o neurológicas (9-11).

Se ha observado que la carga viral se relaciona directamente con la severidad de la enfermedad, independiente del genotipo involucrado (12). Mediante reacción de polimerasa en cadena (RPC) en tiempo real se ha detectado MPVh en niños asintomáticos, en los cuales la carga viral fue significativamente menor que la encontrada en niños enfermos (13). Sin embargo, en un estudio de muestras de aspirados nasofaríngeos de niños hospitalizados, donde también se usó RPC en tiempo real, la carga viral elevada se asoció con algunos síntomas, pero no tuvo un impacto significativo en la gravedad de la enfermedad (14).

Mencionando otro aspecto, en un modelo animal se observó que la alteración de la respuesta de los linfocitos T CD4+ y humoral se asoció con infecciones más graves (15).

Muchos estudios han reportado coinfección de MPVh con otros patógenos respiratorios incluyendo VRS, BoVh, rinovirus, enterovirus, virus parainfluenza, CoV e influenza A y B. También se ha encontrado coinfección con bacterias como *Streptococcus pneumoniae*, *Mycoplasma pneumoniae* y *Chlamydia pneumoniae*. La interacción con estos agentes no es clara (5). Estudios *in vitro* y *in vivo* han mostrado que la infección por MPVh facilita la adhesión del *Streptococcus pneumoniae* (4).

El efecto de la coinfección VRS-MPVh en la severidad de la enfermedad aún es controversial. Semple y col encontraron que la infección conjunta de VRS-MPVh se asocia con bronquiolitis severa (16), sin embargo otros estudios no muestran esta relación (17). En un meta-análisis y revisión sistemática reciente en niños menores de 5 años, la coinfección de virus respiratorios no se asoció con mayor gravedad clínica (18).

Diagnóstico

Actualmente está disponible la detección directa de antígenos con inmunofluorescencia, pero su sensibilidad no es óptima.

En Santiago de Chile el año 2003 se realizó un estudio usando RPC para detectar MPVh en aspirados nasofaríngeos obtenidos de niños hospitalizados por infecciones agudas del tracto respiratorio inferior. Un 5.4% de las muestras fueron positivas, porcentaje que pudo ser mayor, ya que en el estudio sólo se incluyeron las muestras que habían resultado negativas mediante inmunofluorescencia indirecta para VRS, ADV, virus Influenza y Parainfluenza (19).

La PCR es el test más sensible para pesquisar la infección por MPVh. En un estudio donde se comparan test comerciales de PCR en tiempo real, la sensibilidad general para todos los virus estudiados fue 97% (20,21).

Tratamiento

En la actualidad no existe un tratamiento específico ni vacunas para MPVh, el manejo de la enfermedad se basa en medidas de control de síntomas y de soporte en los casos más severos.

Los fármacos antivirales se emplean en casos de enfermedad grave como último recurso. La ribavirina y las inmunoglobulinas se han utilizado en algunos pacientes, pero la efectividad real de estos tratamientos no es clara (22).

A la fecha existen varias vacunas en fase de estudio, pero su seguridad y eficacia aún no han sido evaluadas en la población (20). Recientemente se realizó una infección

experimental con MPVh recombinante de tipo salvaje en adultos, lo que hace ya factible la posibilidad de probar en humanos la eficacia de una vacuna para MPVh recombinante atenuada en el futuro (23).

CORONAVIRUS HUMANO (CoVh)

Generalidades

Los coronavirus (CoV) pertenecen a la familia Coronaviridae, son virus ARN cuya envoltura está cubierta por una glicoteína de superficie que le da su característica apariencia de corona (24). Inicialmente las infecciones por coronavirus se hicieron conocidas por afectar animales, y su impacto en la industria veterinaria. El compromiso en seres humanos fue inicialmente subestimado, pero la mayor capacidad de diagnóstico ha permitido establecer causalidad en una serie de enfermedades respiratorias y gastrointestinales de diferente severidad.

El primer CoVh fue identificado en 1965 por Tyrell y Bynoe en cultivos de tráquea de embriones y fue llamado B814 (24).

Se conocen 4 CoVh endémicos del hombre que se asocian con enfermedad respiratoria leve y autolimitada: HCoV-229E, HCoV-OC43, HCoV-NL63 y HCoV-HKU1; mientras que otros 2 CoV causan síndrome respiratorio severo con altas tasas de mortalidad: SARS-CoV y MERS-CoV (4,24).

CORONAVIRUS HUMANOS NO SEVEROS: HCoV-229E, HCoV-OC 43, HCoV-NL63 Y HCoV-HKU1.

Epidemiología

Los CoV son endémicos en el mundo; su prevalencia, distribución regional y patogenicidad no son claras. Afectan a todos los grupos etarios, pero producen enfermedad más severa en ancianos e inmunocomprometidos. Su prevalencia en enfermedad respiratoria varía entre 3.3 y 16% (25,26). Sobre el 70% de la población tiene seroconversión para los 4 CoVh, con infección primaria en la infancia y reinfecciones a lo largo de la vida (27,28).

Clínica

La presentación clínica de estos CoV es indistinguible por sus síntomas, comúnmente se manifiesta con rinorrea, odinofagia, tos y fiebre (25,26). Habitualmente causan infecciones respiratorias de vía aérea alta o "resfrío común", pero también pueden producir bronquiolitis, neumonía, exacerbaciones asmáticas y laringitis. Las convulsiones febriles se han asociado mayormente para HCoV-HKU1 (4).

Se han reportado altas tasas de coinfección con otros virus respiratorios como enterovirus, rinovirus y virus para-

influenza. Sin embargo, la evolución clínica de la enfermedad en pacientes que presentan coinfección es similar a los que tienen un solo virus identificado (4).

Diagnóstico

Diagnóstico por RPC en tiempo real (3).

Tratamiento

Manejo básicamente sintomático (24) ya que no existen medicamentos antivirales específicos a la fecha.

SARS-COV

Epidemiología

En febrero del 2003 la OMS reportó un brote de neumonía atípica, en marzo del mismo año la enfermedad fue llamada SARS (*Severe Acute Respiratory Syndrome*) y se identificó el agente causal: SARS-CoV, un nuevo CoV que entre noviembre del 2002 y julio del 2003 infectó un total de 8098 personas en 25 países, produciendo 774 muertes (29). Actualmente existe suficiente evidencia filogenética que demuestra que el SARS-CoV se originó de murciélagos (24).

Se transmite por contacto directo con secreciones, gotitas y en menor medida por aerosoles, pudiera haber diseminación por deposiciones. Existe transmisión del virus de persona a persona. El período de incubación varía de entre 2 a 14 días, con un promedio de 4 a 6 días (8).

Clínica

SARS produce un cuadro respiratorio febril, acompañado de calofríos, cefalea y mialgias, posteriormente aparecen diarreas, vómitos y progresión grave del compromiso respiratorio(8).

SARS se presenta como una neumonía atípica. Se produce una inflamación hemorrágica en la mayoría de los alvéolos con engrosamiento y daño alveolar difuso, descamación de neumocitos, formación de membranas hialinas y neumocitos multinucleados con congestión capilar y microtrombosis. Aproximadamente el 60% de los pacientes presentan deterioro en la segunda semana de infección, aparecen fiebre persistente y dificultad respiratoria progresiva. Alrededor del 20 a 30% de los casos evoluciona con *distress* respiratorio necesitando manejo en unidades de cuidados intensivos con apoyo de ventilación mecánica (4).

Durante el brote de SARS el cuadro clínico fue menos severo en lactantes, ningún niño entre 1 y 12 años necesitó manejo en Unidad de Cuidados Intensivos o ventilación mecánica, la explicación hasta ahora es materia de estudio (30,31).

La tasa de mortalidad es de 10%, pero puede ser mucho mayor en ciertas poblaciones y grupos etarios como en los mayores de 65 años donde alcanza el 50% (8,24).

Tratamiento

Actualmente no existen opciones de tratamiento profiláctico o terapéutico eficaces. Los pacientes que han presentado enfermedad grave han sido tratados con esteroides e interferón, a veces en combinación con ribavirina, pero sin resultados óptimos. Se han descrito fármacos que inhiben la infección por CoVh en diferentes etapas del ciclo de replicación y algunos podrían servir como opciones terapéuticas en el futuro. En el área de prevención, se han comenzado a desarrollar vacunas que han demostrado ser protectoras en modelos animales (24).

Durante el brote de SARS-CoV el manejo se enfocó en tratamiento de soporte y antibióticos cuando se agregaron infecciones bacterianas (4).

MERS-COV

Epidemiología

En junio del 2012 ocurrió la más reciente emergencia de una nueva cepa de CoV. MERS-CoV (*Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus*) fue aislado de una muestra de esputo de un hombre de 60 años que falleció por una neumonía grave asociada a falla renal en Arabia Saudita. Los primeros casos se presentaron en varios países del Medio Oriente y luego se extendieron a Reino Unido, Francia, Italia y Alemania; Egipto y Estados Unidos posteriormente reportaron su primer caso confirmado por laboratorio (4).

No está claro el origen de MERS-CoV, se ha planteado una transmisión zoonótica, se cree que el virus se originó en murciélagos y luego se transmitió a camellos, posteriormente por contacto directo o consumo de leche no pasteurizada se transmitió al hombre. El contagio se produce por contacto estrecho o intrahospitalario, especialmente en pacientes con comorbilidades. La posibilidad de una pandemia es baja porque la transmisión es ineficiente y no hay evidencia suficiente de transmisión comunitaria (4).

El brote de SARS-CoV y posteriormente MERS-CoV no fueron un incidente aislado, ya que cuando aumenta la diversidad de especies de CoV animal, ocurre un aumento de la probabilidad de recombinación y generación de CoV altamente patógenos para el hombre (4).

Clínica

La presentación clínica es similar al SARS, los síntomas más comunes son tos, fiebre y síntomas gastrointestinales, antes de progresar a neumonía y complicaciones graves

como síndrome de distress respiratorio agudo y falla renal (32-34).

La tasa de mortalidad es 30%, pero es significativamente mayor en pacientes con comorbilidades e inmunosuprimidos. Las complicaciones más frecuentes que han sido reportadas en los casos fatales son hiperkalemia, taquicardia ventricular, coagulación intravascular diseminada, pericarditis y falla multiorgánica (35).

Tratamiento

La combinación de interferón tipo 1 más lopinavir/ritonavir es considerada la primera línea de tratamiento para MERS y se recomiendan 10 a 14 días de tratamiento antiviral. La terapia con plasma ha mostrado cierta eficacia entre los pacientes refractarios a los fármacos antivirales si se administra dentro de las 2 semanas del inicio de la enfermedad (35).

BOCAVIRUS HUMANO (BOVH)

Generalidades

BoVh pertenece a la familia Parvoviridae, subfamilia Parvovirinae, género Bocavirus. Son virus ADN de hebra simple, cuya replicación es altamente dependiente de las funciones celulares. El primer BoVh fue descubierto en Suecia el año 2005 por investigadores de la Universidad de Karolinska y fue llamado HBoV1, posteriormente durante el 2010, se descubrieron HBoV2, HBoV3 y HBoV4 (3).

Las secuencias genéticas y el análisis filogenético muestran una estrecha relación de BoVh con dos miembros de la familia Parvoviridae: parvovirus bovino y virus minute canino, por lo que Allander y col lo llamaron bocavirus humano, "bo" de bovino y "ca" de canino (36).

Epidemiología

HBoV1 causa entre 2 a 19% de las infecciones respiratorias, su ADN ha sido detectado principalmente en muestras respiratorias y de deposiciones, pero también en suero, amígdalas, saliva y orina (3,4). Los otros BoVh se han encontrado en el tracto gastrointestinal, HBoV2 es el único BoVh entérico que se ha aislado de aspirados nasofaríngeos y se ha asociado con enfermedad respiratoria (4).

Se ha encontrado HBoV1 en todos los grupos etarios, pero predominantemente en niños pequeños. La primo-infección ocurre típicamente entre los 6 a 48 meses de edad, alrededor del 94% de los adultos tiene anticuerpos positivos. Las reinfecciones ocurren a lo largo de la vida (3). La transmisión e infección ocurre durante todo el año,

pero predominantemente durante los meses de invierno y primavera.

Clínica

La presentación clínica incluye rinorrea, tos, otitis media aguda. También se ha asociado con neumonía, sibilancias, exacerbación asmática y bronquiolitis (4).

Diagnóstico

Usando RPC en muestras de secreciones respiratorias se ha detectado ADN de HBoV1 en niños asintomáticos que puede persistir en la nasofaringe por varios meses; este hallazgo generó dudas en relación al rol de este virus, pero estudios mediante serología y RPC han aportado evidencia de que HBoV1 es un verdadero patógeno respiratorio. La carga viral elevada se asocia estadísticamente con síntomas (36,37). Las infecciones por HBoV1 tienden a estar asociadas con altas tasas de coinfección con otros patógenos virales como rinovirus, ADV y VRS y con bacterias como *Streptococcus spp* y *Mycoplasma pneumoniae* (38).

Por las características de la persistencia y la alta frecuencia de coinfección, su diagnóstico no es recomendable que se realice por RPC cualitativa y se recomienda que sea un estudio serológico, o RPC cuantitativa en aspirado nasofaríngeo o en suero (38).

Tratamiento

Básicamente manejo de los síntomas y complicaciones.

CONCLUSIONES

Con el avance de las técnicas diagnósticas actualmente conocemos "nuevos virus" respiratorios. Estos agentes, exceptuando SARS-CoV y MERS-CoV, producen cuadros clínicos similares, pudiendo ir desde síntomas respiratorios leves hasta formas graves de neumonías con *distress* respiratorio asociado. Los patrones radiológicos son variables y no característicos. Estos virus pueden ser detectados por PCR, sin embargo, con una PCR no cuantitativa es difícil probar que el virus encontrado es el agente causal de la enfermedad, a lo que se suma que frecuentemente se pesquisa más de un virus en una muestra, lo que dificulta aún más el diagnóstico etiológico.

Sin duda, en pacientes hospitalizados y con factores de riesgo de desarrollar enfermedad más severa, es necesario encontrar el agente causal, no sólo para enfocar correctamente el manejo, sino para también evitar la transmisión de enfermedades y el uso excesivo de antibióticos. Como siempre la medicina es un desafío diario y una oportunidad constante de aprendizaje.

Los autores declaran no tener conflictos de interés, en relación a este artículo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Pavia A. Viral infections of the lower respiratory tract: Old viruses, new viruses, and the role of diagnosis. *Clin Infect Dis* 2011;52 (S4):S284-S289.
2. Zar HJ, Ferkol TW. The global burden of respiratory disease-impact on child health. *Pediatric Pulmonology* 2014; 49:430-434.
3. Jartti T, Jartti L, Ruuskanen O et al. New respiratory viral infections. *Curr Opin Pulm Med* 2012; 18: 271-278.
4. Berry M, Gamiieldien J, Fielding B. Identification of new respiratory viruses in the new millennium viruses 2015; 7: 996-1019.
5. Panda S, Mohakud NK, Pena L et al. Human Metapneumovirus: review of an important respiratory pathogen. *Int J Infect Dis* 2014; 25:45-52.
6. Edwards KM, Zhu Y, Griffin MR et al. Burden of Human Metapneumovirus infection in young children. *N Engl J Med* 2013; 368(7): 633-643.
7. Van den Hoogen BG, de Jong JC, Groen J et al. A newly discovered human pneumovirus isolated from young children with respiratory tract disease. *Nat Med* 2001;7: 719-724.
8. Jofre L. Virus respiratorios emergentes. *Neumología Pediátrica* 2007. <http://www.neumologia-pediatria.cl>
9. Boivin G, De Serres G, Hamelin ME et al. An outbreak of severe respiratory tract infection due to Human Metapneumovirus in a long-term care facility. *Clin Infect Dis* 2007; 44:1152-1158.
10. Louie JK, Schnurr DP, Pan CY et al. A summer outbreak of Human Metapneumovirus infection in a long-term-care facility . *J Infect Dis* 2007;196:705-708.
11. Principi N, Esposito S. Paediatric Human Metapneumovirus infection: epidemiology, prevention and therapy. *J Clin Virol* 2014;59:141-7.
12. Roussy JF, Carbonneau J, Ouakki M et al. Human Metapneumovirus viral load is an important risk factor for disease severity in young children. *J Clin Virol* 2014;60:133-140.
13. Bosis S, Esposito S, Osterhaus AD et al. Association between high nasopharyngeal viral load and disease severity in children with Human Metapneumovirus infection. *J Clin Virol* 2008;42:286-290.
14. Yan XL, Li YN, Tang YJ et al. Clinical characteristics and viral load of Respiratory Syncytial Virus and Human Metapneumovirus in children hospitalized for acute lower respiratory tract infection. *J Med Virol* 2016 Sept 15
15. Darniot M, Pitoiset C, Petrella T, et al. Age-associated aggravation of clinical disease after primary Metapneumovirus infection of BALB/c mice. *J Virol* 2009;83:3323-3332.
16. 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. *J Infect Dis* 2005;191:382-386.
17. Peng D, Zhao D, Liu J et al. Multipathogen infections in hospitalized children with acute respiratory infections. *Virol J* 2009;6-155.
18. Lim FJ, de Klerk N, Blyth CC et al. Systematic review and meta-analysis of respiratory viral coinfections in children. *Respirology* 2016;21:648-655.
19. Luchsinger V et al. Detection of Human Metapneumovirus in children hospitalized for acute lower respiratory infection in Santiago, Chile. *Rev Méd Chile* 2005; 133: 1059-64.
20. Kroll JL, Weinberg A. Human Metapneumovirus. *Semin Respir Crit Care Med* 2011;32(4):447-53.
21. Butt SA, Maceira VP, McCallen ME et al. Comparison of three commercial RT-PCR system for detection of respiratory viruses. *J Clin Virol* 2014; 61:406-410.
22. Esposito S, Mastrolia V. Metapneumovirus infections and respiratory complications. *Semin Respir Crit Care Med* 2016;37(4):512-21.
23. Ren J, Phan T, Bao X. Recent vaccine development for Human Metapneumovirus. *J Gen Virol* 2015;96:1515-1520.
24. Jonsdottir H, Dijkman R. Coronaviruses and the human airway: a universal system for virus-host interaction studies. *Virol J* 2016; 13:24.
25. Lu R, Yu X, Wang W, et al. Characterization of Human Coronavirus etiology in Chinese adults with acute upper respiratory tract infection by real-time RT-PCR assays. *Plos One* 2012, 7, e 36638.
26. Walsh E, Shin JH, Falsey A. Clinical impact of Human Coronaviruses 229E and OC43 infection in diverse adult population. *J Infect Dis* 2013;208:1634-1642
27. Zhou W, Wang W, Wang H, et al. First infection by all four non-severe acute respiratory syndrome Human Coronaviruses takes places during childhood. *BMC Infect Dis* 2013, 13,e433.
28. Gaunt ER, Hardie A, Claas ECJ et al. Epidemiology and Clinical Presentations of the four Human Coronaviruses 229E, HKU1, NL63 and OC43 detected over 3 years using a novel multiplex real-time PCR method. *J Clin Microbiol* 2010;48:2940-2947.
29. Summary of probable SARS cases with onset of illness from 1 November 2002 to 31 July 2003. http://www.who.int/csr/sars/country/table2004_04_21/en/.
30. Hon K, Leung C, Cheng W, et al. Clinical presentations and outcome of severe acute respiratory syndrome in children. *Lancet* 2003;361:1701-1703.
31. Leung C, Kwan Y, Ko P, et al. Severe acute respiratory syndrome among children. *Pediatrics* 2004; 113:535-543.
32. De Sousa R, Reusken C, Koopmans M. MERS Coronavirus: Data gaps for laboratory preparedness. *J Clin Virol* 2014;59:4-11.

33. Assiri A, McGeer A, Perl TM et al. Hospital outbreak of Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus. *N Engl J Med* 2013; 369: 407-416.
34. Assiri A, Al-Tawfiq JA, Al-Rabeeh AA et al. Epidemiological, demographic, and clinical characteristics of 47 cases of Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus disease from Saudi Arabia: A descriptive study. *Lancet Infect Dis* 2013;13:752-761.
35. Singh SK. Middle East Respiratory Syndrome virus pathogenesis. *Semin Respir Crit Care Med* 2016;37(4): 572-7.
36. Allander T, Tammi MT, Eriksson M et al. Cloning of a Human Parvovirus by molecular screening of respiratory tract samples. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005;102 (36):12891-6.
37. Allander T, Jartti T, Gupta S et al. Human Bocavirus and acute wheezing in children. *Clin Infect Dis* 2007;44: 904-910.
38. Debiaggi M, Canducci F, Ceresola ER et al. The role of infections and coinfections with newly identified and emerging respiratory viruses in children. *Virology Journal* 2012;9:247.