

## BOCAVIRUS HUMANO 1: SU PARTICIPACIÓN EN LA INFECCIÓN RESPIRATORIA AGUDA Y EPIDEMIOLOGÍA EN ARGENTINA

*HUMAN BOCAVIRUS 1: ROLE IN THE ACUTE RESPIRATORY INFECTION AND EPIDEMIOLOGY IN CORDOBA, ARGENTINA*

**María Pilar Adamo**

---

### Resumen

El Bocavirus humano 1 (HBoV1) es un agente ubicuo de infección respiratoria aguda, frecuente en población infantil. En lactantes puede causar neumonía en ausencia de factores de riesgo epidemiológico y comorbilidades. Los estudios sistemáticos de casos clínicos y series de casos siguen siendo útiles para la caracterización de los aspectos clínicoepidemiológicos de la infección, mientras se profundiza en la biología molecular del virus y se comienzan a explorar la relación virus-célula y la historia natural de la infección. Esta revisión brinda el estado del arte y perspectivas sobre este nuevo parvovirus y su rol etiológico en la patología respiratoria.

**Palabras clave:** parvovirus; bronquiolitis; neumonía; lactante; adulto; sano; carga viral; cultivo celular.

### Abstract

Human bocavirus 1 (HBoV1) is an agent of acute respiratory infection frequent in children. It can cause pneumonia in infants, in the absence of epidemiological risk factors and comorbidities. Well-controlled studies of clinical cases and case series are still useful for the characterization of the clinicoepidemiological features of the infection, while research dives on the molecular biology of the virus and the virus-cell relationship allowing to unveil the natural history of the infection. This article reviews the state of the art and future perspectives on this new human parvovirus and its etiological role in the respiratory pathology.

**Key words:** parvovirus; bronchiolitis; pneumonia; infant; adult; healthy; viral load; cell culture.

---

Instituto de Virología "Dr. J. M. Vanella", Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Córdoba.  
Calle Enf. Gordillo Gómez S/N, Ciudad Universitaria  
CP 5016, Córdoba, Argentina.  
e-mail: mpadamo@fcm.unc.edu.ar  
Tel. 54-351-4334022 interno 34

---

## Introducción

La infección respiratoria aguda (IRA) es una causa principal de enfermedad en el mundo <sup>(1)</sup>, representando una carga sustancial para los servicios de Salud, en tanto que la IRA del tracto respiratorio inferior o IRA baja (bronquiolitis, neumonía) es la fuente más importante de mortalidad infantil en países en desarrollo <sup>(2)</sup>. Los virus son los agentes predominantes en la IRA, entre los que se destacan virus respiratorio sincicial, parainfluenza, adenovirus, influenza, rinovirus, coronavirus y metapneumovirus <sup>(3)</sup>. Actualmente se incluye también al Bocavirus humano 1 (HBoV1), un parvovirus que fue identificado por primera vez en Suecia, en 2005, en niños hospitalizados con IRA <sup>(4)</sup>. Desde entonces se lo ha detectado y relacionado con enfermedad respiratoria aguda en todo el mundo, mayoritariamente en niños, entre los que suele ser reportado como el segundo o tercer agente más prevalente <sup>(5-9)</sup>. Distintos estudios coinciden en que la infección por HBoV1 se asocia a neumonía y bronquiolitis <sup>(10-13)</sup>. En lactantes (menores de 2 años) sin factores de riesgo epidemiológico ni comorbilidades, HBoV1 puede producir enfermedad respiratoria aguda grave: infección del tracto respiratorio inferior con hipoxemia y requerimiento de hospitalización <sup>(14,15)</sup>.

## Antecedentes, avances y el estado del arte

Los bocavirus pertenecen a la familia Parvoviridae <sup>(16)</sup> y como tal el HBoV1 es un virus cuya partícula es extremadamente pequeña (una de las más pequeñas que se conocen). Carece de envoltura lipídica y el genoma está constituido por ADN monocatenario, lineal, de aproximadamente 5300 nucleótidos. La cápside del virión está constituida por dos proteínas, VP1 y VP2, las cuales sólo se diferencian en el extremo N-terminal porque están codificadas por el mismo gen, pero usan distintos codones de inicio (Fig. 1). Como en otros parvovirus (B19, por ejemplo), VP2 es la proteína mayoritaria de la cápside <sup>(17)</sup> y la región única de VP1 (VP1u) tiene un motivo de fosfolipasa A2 que podría estar implicado en la patogénesis de la infección <sup>(18)</sup>. El genoma cifra la proteína no estructural NS1, con funciones en la replicación viral, común a toda la familia <sup>(19)</sup> y en los bocavirus se ha descrito un marco de lectura adicional, propio

sólo de los miembros de este género: se trata de la secuencia NP1, a la que se asignan funciones reguladoras de la replicación <sup>(20-22)</sup>.

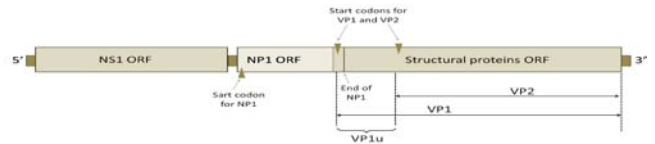


Fig. 1. Esquema de la organización genómica de HBoV1.

Se reportaron inicialmente cuatro tipos de bocavirus humanos <sup>(23)</sup>. Las secuencias HBoV2, HBoV3 y HBoV4 se han detectado casi exclusivamente en el tracto entérico (muestras de materia fecal), mientras que el HBoV1, el primero de los bocavirus humanos identificados, infecta principalmente el tracto respiratorio y es mucho más frecuente que los otros. Recientemente, el Comité Internacional de Taxonomía de Virus ha realizado una exhaustiva reevaluación de la nomenclatura y la estructura taxonómica de la familia, disminuyendo el nivel de homología de secuencia requerido para que un virus pertenezca a una misma especie. Como resultado, los bocavirus han sido renombrados y ahora se reconocen dos especies humanas: Bocaparvovirus primate 1 (BPV1), que agrupa a los anteriormente conocidos como HBoV1 y HBoV3, y Bocaparvovirus primate 2, que incluye HBoV2 y HBoV4 <sup>(16)</sup>. Por simplicidad, en adelante se referirá al bocavirus humano respiratorio como HBoV1.

El HBoV1 fue identificado en un estudio planificado para la búsqueda activa de nuevos virus respiratorios (mediante amplificación aleatoria, clonado, secuenciación y análisis bioinformático) a partir de extractos nucleicos de aspirados nasofaríngeos de niños con infección respiratoria <sup>(4)</sup>. Desde entonces ha sido detectado en casos de infección aguda del tracto respiratorio superior e inferior (IRA alta y baja), principalmente en niños <sup>(5,11,24,25)</sup> pero también en adultos <sup>(26-28)</sup>. Varios estudios ubican al HBoV1 en segundo o tercer lugar en frecuencia de detección en niños con enfermedad respiratoria <sup>(6-8,11,29-31)</sup>, aunque la prevalencia

varía considerablemente entre 0,9 y 33%, dependiendo de la serie de casos estudiada <sup>(32,33)</sup>. Por otro lado, la seroprevalencia en niños menores de 6 meses es inferior al 10%, pero alcanza el 50% entre los 6 meses y los 2 años de edad; en niños en edad escolar, adolescentes y adultos ronda el 60-70%. Ello demuestra su amplia circulación en la población humana e indica la incidencia temprana de la infección: el principal grupo susceptible sería el de los niños pequeños, lactantes y preescolares <sup>(34-36)</sup>.

La participación de HBoV1 en la patología respiratoria como agente causal independiente se debate en función de las altas tasas de coinfección con otros agentes de potencial patogénico establecido <sup>(37,38)</sup>. También debido a que, aunque en general se encuentra al HBoV1 en pacientes con enfermedad respiratoria, se ha reportado la presencia del genoma viral en algunos individuos sanos <sup>(39,40)</sup>. Ya que los pacientes en los que se detecta alta carga viral de HBoV1 suelen presentar sibilancias por más tiempo y requerir mayor cantidad de días de hospitalización y oxigenoterapia <sup>(9,41,42)</sup>, una hipótesis que explicaría las observaciones anteriores propone que HBoV1 puede causar enfermedad cuando la carga viral es elevada, mientras que una carga viral baja se asociaría con excreción de virus en individuos infectados asintomáticos o portadores sanos. Por otra parte, HBoV1 podría establecer infecciones persistentes en las que la producción de la enfermedad se relaciona con la etapa inicial de la infección, mientras que el genoma viral seguiría siendo detectable después de remitir las manifestaciones clínicas <sup>(33,43,44)</sup>. La permanencia prolongada del virus en los tejidos del hospedador proveería la posibilidad de codetección durante eventos posteriores de infección con otros agentes. Alternativamente, se contempla la ocurrencia de reinfecciones frecuentes durante la niñez, postulándose que sólo la primoinfección estaría ligada a manifestaciones clínicas <sup>(35,43)</sup>.

A pesar los numerosos trabajos en niños (o tal vez precisamente porque todos los esfuerzos se concentraron inicialmente en dicha población), y debido a que aún es muy limitada la información sobre la patogénesis asociada a la infección, el HBoV1 no se investiga de rutina en el contexto

de la práctica clínica -sí en centros médicos de países desarrollados, donde incluso existen ensayos diagnósticos disponibles comercialmente <sup>(45)</sup>. Sin embargo, en los últimos años se ha ampliado el campo de estudio y recientemente se han reportado casos graves con desorden neurológico y fatales, tanto en niños como en adultos <sup>(46-49)</sup>.

La historia natural de la infección no se ha investigado, y por ello representa todavía un gran interrogante, si bien inicialmente se asumía que podía ser similar a la de otros virus respiratorios <sup>(50)</sup>. No obstante, HBoV1 no es un virus respiratorio estricto, pues el ADN del virus se ha detectado en suero de algunos pacientes <sup>(7,12,35)</sup>. Aunque no hay datos precisos sobre viremia durante la infección por HBoV1, se puede suponer que cursa con una etapa de diseminación sistémica mediante la vía hemática durante la fase aguda de la enfermedad respiratoria. En este caso, el HBoV1 sería detectable en muestra temprana de suero de los pacientes con IRA, al menos en individuos con alta carga viral. Además, se ha recuperado ADN viral de diversos tejidos y plasma de niños y adultos, tanto sanos como enfermos, incluyendo adenoides, pulmón y colon <sup>(51-53)</sup>. Sumado a ello, la detección de HBoV1 en materia fecal de individuos sanos, tanto niños como adultos <sup>(54)</sup> indica la excreción viral y la posible participación de la vía fecal-oral en la transmisión del virus en un ciclo natural que involucra portadores sanos.

En cuanto a la respuesta inmune frente a la infección por HBoV1, se han realizado estudios que evidencian la producción de IgM, aumento del título y avidéz de IgG <sup>(12,26,35,55)</sup> y se han descrito también reacciones cruzadas entre anticuerpos para distintos tipos de bocavirus, así como la ausencia de respuesta inmune frente HBoV1 cuando ha ocurrido infección previa por otro bocavirus humano <sup>(36,56)</sup>.

Sin embargo, los aspectos fundamentales de la replicación de HBoV1 y de la infección en el humano no se conocen, debido a que no existe un modelo animal y todavía no se ha aislado virus en cultivo "estándar". Se ha reportado el aislamiento de HBoV1 en cultivos primarios de células humanas epiteliales diferenciadas del tracto respiratorio <sup>(57)</sup> y a partir de ello, en base al uso de procesos de diferenciación de células epiteliales de la

vía aérea y técnicas de clonado y transfección, ya sea del genoma completo o de las proteínas estructurales y no estructurales individuales de HBoV1, se han demostrado la replicación y algunas propiedades patogénicas del virus (21,55,58-60). A partir de estos estudios se ha observado un espectro diverso (aún de interpretación fragmentaria) de procesos que podrían tener un efecto patognico a nivel tisular y sistémico, incluyendo: ausencia de arresto celular y apoptosis (58), inducción de la vía apoptótica mitocondrial (60), disrupción de las uniones estrechas (18,61,62), inhibición (63) o inducción (64) de Interferón (IFN) tipo I, inducción de citoquinas profibróticas (65) e inhibición de la expresión del factor de transcripción NF-κB (66). Promisorias para la caracterización de la replicación de HBoV1 y su interacción con componentes celulares, la dificultad en el uso de estas células reside en el proceso de diferenciación mediante técnicas que emplean una fase aire-líquido, lo que resulta en procedimientos especiales y elevados costos. Por eso estos sistemas no son ampliamente utilizados ni pueden adaptarse al diagnóstico en la práctica clínica.

En particular en cuanto a la detección de ADN de HBoV1 en tejidos de adenoides, amígdalas y tejido tumoral de pacientes con cáncer de pulmón y colorrectal, se ha descrito en algunos casos la presencia de señales de replicación de bocavirus (37,51,53,67-69).

En función de esos datos, recientemente hemos

detectado al HBoV1 en cultivos de células Caco-2, una línea establecida de células epiteliales de adenocarcinoma colorrectal de origen humano, después de inocularlas con muestras filtradas de secreciones respiratorias de pacientes con infección por este virus. La presencia del virus no estuvo acompañada por efecto citopático (70). Pero, considerando los antecedentes, está justificado profundizar la investigación de la infección por HBoV1 en estos cultivos.

### Clínica y epidemiología de la infección por Bocavirus humano 1 en Argentina

Los primeros reportes sobre la presencia de bocavirus respiratorio en Argentina corresponden a estudios realizados con pacientes de Buenos Aires, con el objetivo de detectar el virus en niños de 2 meses a 6 años de edad atendidos en consulta médica por síntomas respiratorios (enfermedad tipo influenza) y sibilancias recurrentes (71,72). En ellos la prevalencia detectada fue de 5 a 10,8%. Datos recientes de las provincias de Santa Fe, Tucumán y Chaco en niños menores de 5 años con IRA indican prevalencias similares: 8%, 5,9% y 7,4%, respectivamente (73,74). En Córdoba se ha estudiado la infección por HBoV1 desde 2009. Primero se abordó la pesquisa retrospectiva en niños hospitalizados con IRA baja y luego se hicieron estudios clínicoepidemiológicos con muestreos prospectivos (27,75-77). A partir de estos estudios conocemos la presencia de HBoV1 en

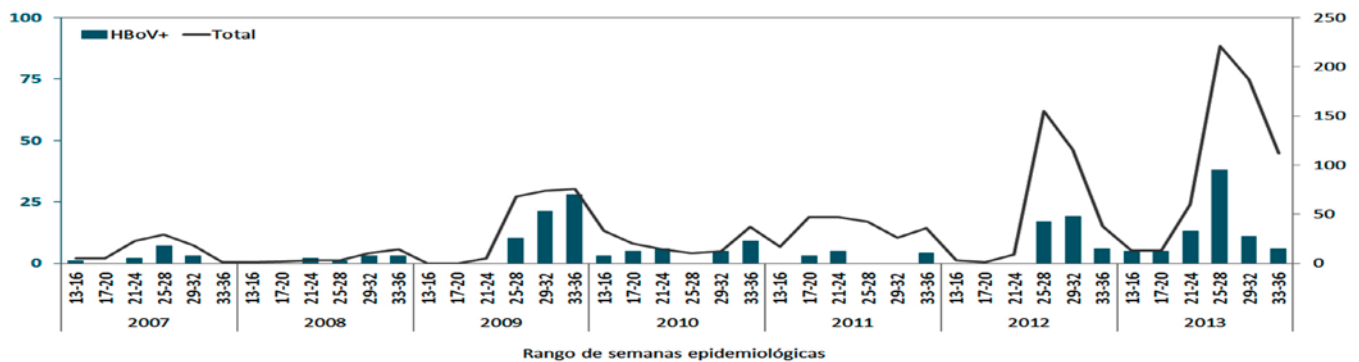


Fig. 2. Distribución de casos HBoV1 en pacientes pediátricos menores de 5 años hospitalizados por IRA baja en la estación fría (otoño e invierno, semanas epidemiológicas 13 a la 36). Córdoba, Argentina, 2007 a 2013. Los casos totales están representados en el eje de la derecha y los casos HBoV1, en el de la izquierda.

un período de 7 años consecutivos (2007-2013) en población pediátrica con enfermedad respiratoria aguda baja (niños hospitalizados), habiéndose observado la circulación permanente del virus, todo el año, pero con frecuencias variables cada año, de 5,6% a 21,5%, siendo marcada la concentración de los casos en invierno y principio de primavera en los períodos de brotes de mayor magnitud (Fig. 2).

Aunque el virus se detectó en un amplio rango de edades, incluyendo adultos con enfermedad tipo influenza, la mayoría de los casos ocurre en menores de 2 años, incluyendo neonatos y lactantes menores de 6 meses de edad <sup>(15,27,75-77)</sup>.

En los estudios con muestreos prospectivos se realizó una selección cuidadosa de las situaciones clínicas y el registro individualizado de datos de los pacientes en formularios ad-hoc, lo que nos permitió caracterizar los casos de IRA baja que ocurrieron en niños pequeños (lactantes, menores de 2 años de edad), sin comorbilidad (previamente sanos), sin coinfecciones y con alta carga viral detectada en la muestra de secreción respiratoria obtenida dentro de las 24 h de admisión al hospital. Estos casos se presentaron predominantemente en menores de 6 meses sin factores de riesgo epidemiológico, siendo las principales manifestaciones clínicas las sibilancias, hipoxemia (con requerimiento de terapia de oxígeno), tos y temperatura superior a 38°C. Los infiltrados pulmonares presentes en las radiografías de tórax confirmaron el diagnóstico de neumonía (patrón 2, compatible con infección viral) y el tiempo promedio de internación fue de 5.9±3.0 días. A pesar de recibir terapia de oxígeno y medicación broncodilatadora, ninguno requirió ventilación mecánica y todos tuvieron buena evolución, recibiendo el alta sin complicaciones. En comparación con casos de VRS, el cuadro clínico solo se diferenció significativamente con respecto a los días de oxigenoterapia y hospitalización. Estos resultados son importantes por su aporte a la documentación de datos locales, en tanto que el mayor conocimiento (clínico como epidemiológico) de HBoV1 puede contribuir a optimizar el manejo de pacientes con patologías tan prevalentes como son las IRA, sobre todo en los grupos etarios de mayor riesgo <sup>(15)</sup>.

Paralelamente, se realizó un estudio observacional de corte transversal en el que se detectó HBoV1 en muestras respiratorias (hisopados nasofaríngeos) de pacientes menores de 14 años con crisis de sibilancias. El trabajo incluyó niños en edad escolar (mayores de 4 años). En concordancia con algunos reportes previos <sup>(33,40)</sup>, la prevalencia de HBoV1 fue alta (55%) y no se encontraron diferencias significativas entre prevalencias al comparar subgrupos según sexo, edad, antecedentes de rinitis, número de episodios de sibilancias en el año previo, e historia familiar de atopía. Sin embargo, sí se encontró asociación significativa entre detección de HBoV1 y exposición a humo de tabaco y contacto con conviviente con IRA. Por lo tanto, HBoV1 también es un virus frecuente en niños en edad escolar con crisis de sibilancias en nuestro medio, y la infección se asocia en estos casos con factores de riesgo epidemiológico <sup>(78)</sup>.

Asimismo, se ha investigado la presencia de HBoV1 en muestras respiratorias de individuos sanos, habiendo detectado casos positivos pero en proporción significativamente inferior a la prevalencia detectada en pacientes con IRA. Todos los casos positivos en el grupo de individuos sanos se registraron en niños en edad escolar y todos tuvieron baja carga viral <sup>(76)</sup>.

Por otra parte, en los análisis filogenéticos de las cepas locales circulantes sólo se detectó HBoV1 <sup>(27,76,79,80)</sup>, en tanto que los análisis de las secuencias de las regiones NP1 y VP1/VP2 mostraron que la región VP1u presenta escasa variabilidad genética en comparación con otros parvovirus (incluyendo al parvovirus humano B19), si bien la distancia genética entre las cepas locales es mayor en la región VP1u que en el fragmento NP1 <sup>(81)</sup>. La baja variabilidad de VP1u se correlacionaría con su localización interna en la cápside viral, afectando así su accesibilidad y capacidad antigénica. Por el contrario, aguas abajo de VP1u, en la región N-terminal de VP2, se identificaron cambios aminoacídicos que indican la importancia de enfocar los ensayos de detección o diagnóstico en la región NP1, en tanto que los estudios sobre la interacción entre el virus y el hospedador deberán considerar también la región VP1/VP2. Todas las secuencias analizadas, incluyendo el geno-

ma completo de HBoV1 cepa 307\_AR09 (80), se encuentran disponibles en la base de datos pública GenBank (números de acceso KJ634207, KC544960 a KC544969, KC878500 a KC878510, JX034726 a JX034736, JN632482 a JN632496).

### Diagnóstico y perspectivas

Al presente, la identificación del virus se realiza mayoritariamente mediante la detección del genoma viral por métodos moleculares en muestras respiratorias. Sin embargo, el significado clínico de los hallazgos de estos ensayos es de interpretación incierta debido a que HBoV1 podría ocasionar infecciones persistentes (33). No obstante, todavía no se ha dilucidado la historia natural ni la patogénesis de la infección. Por ello, aún se busca establecer un método diagnóstico seguro, lo cual es esencial para poder identificarlo como agente etiológico en los casos graves. Con respecto a la serología, no se encuentran disponibles comercialmente ensayos para detección de anticuerpos específicos para HBoV1. Sin embargo, recientemente se han descrito reacciones cruzadas entre anticuerpos para distintos tipos de bocavirus y el fenómeno conocido como “pecado original antigénico”, por el cual no se detecta respuesta inmune frente HBoV1 cuando ha ocurrido infección previa por otro bocavirus humano <sup>(36,56,82-84)</sup>. Por lo tanto, no todas las infecciones por HBoV1 pueden ser diagnosticadas por serología. Así, aunque con la hipótesis de la persistencia de HBoV1 se puso en duda la verdadera utilidad de los métodos moleculares con fines diagnósticos, actualmente se tiende a considerar una combinación de métodos según la situación diagnóstica. La detección de HBoV1 en suero sustenta la posibilidad de que la presentación de la enfermedad se relacione con la carga viral elevada en la vía respiratoria y viremia (presencia del virus en sangre), aunque no siempre esta relación resulta evidente <sup>(7,9,42,76,85,86)</sup>. Estudios más completos son necesarios al respecto, por lo que un bloque significativo de conocimiento derivará del análisis ordenado de la correspondencia y correlación entre la detección y cuantificación de HBoV1 en muestras del tracto respiratorio y suero. Ello permitirá definir mejores condiciones para la detección del virus en pacientes con IRA baja y contribuir a establecer

un método diagnóstico confiable. Paralelamente, las evidencias sobre la replicación de HBoV1 en células diferenciadas de epitelio respiratorio y en tejido tumoral de pacientes con cáncer colorrectal <sup>(37,57,59,62,69)</sup> indican que en estos datos podrían encontrarse las claves para dilucidar la fisiopatogénesis de la infección.

### Conceptos clave

- El Bocavirus humano 1 es un parvovirus descrito por primera vez en 2005, actualmente nombrado Bocaparvovirus primate 1.
- Se asocia a infección respiratoria aguda principalmente en niños.
- Es un virus de distribución mundial con prevalencias variables pero presente todo el año, todos los años, con brotes estacionales en invierno.
- Puede producir enfermedad respiratoria aguda grave (infección del tracto respiratorio inferior con hipoxemia y requerimiento de hospitalización) en lactantes sin factores de riesgo epidemiológico ni comorbilidades.
- Ha sido detectado tanto en pacientes como individuos sanos de todas las edades, y no sólo en secreciones respiratorias sino también en suero, amígdalas, adenoides y tejidos tumorales de pulmón y colon.
- Sobre la historia natural y la fisiopatología de la infección, se postula una incidencia temprana, el establecimiento de infecciones persistentes, la asociación entre la alta carga viral y las manifestaciones clínicas, y la posible ocurrencia de eventos frecuentes de reinfección durante la niñez.
- El diagnóstico se apoya en una combinación de métodos serológicos, moleculares, cualitativos y cuantitativos, en combinación con los datos clínicos y epidemiológicos del caso -incluyendo code-tecciones.
- Al presente no existe un modelo animal ni cultivos celulares estándares para el estudio in vitro.

Agradecimientos. SeCyT UNC y Fundación A. J. Roemmers.

## Referencias

1. World Health Organization. *The Global Burden of Disease: 2004 update* [Internet]. 2004 Update. 2008. Available from: [http://www.who.int/healthinfo/global\\_burden\\_disease/2004\\_report\\_update/en/index.html](http://www.who.int/healthinfo/global_burden_disease/2004_report_update/en/index.html)
2. World Health Organization. *Children: reducing mortality*. 2016;178(FS). Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs178/en/>
3. Nichols WG, Peck Campbell AJ, Boeckh M. Respiratory viruses other than influenza virus: Impact and therapeutic advances. *Clin Microbiol Rev*. 2008;21(2):274–90.
4. Allander T, Tammi MT, Eriksson M, Bjerkner A, Tiveljung-Lindell A, Rn Andersson B. Cloning of a human parvovirus by molecular screening of respiratory tract samples. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2005;102(36):12891–6.
5. Allander T, Jartti T, Gupta S, Niesters HGM, Lehtinen P, Österback R, et al. Human bocavirus and acute wheezing in children. *Clin Infect Dis*. 2007;44:904–10.
6. Don M, Söderlund-Venermo M, Valent F, Lahtinen A, Hedman L, Canciani M, et al. Serologically verified human bocavirus pneumonia in children. *Pediatr Pulmonol*. 2010;45(2):120–6.
7. Wang K, Wang W, Yan H, Ren P, Zhang J, Shen J, et al. Correlation between bocavirus infection and humoral response, and co-infection with other respiratory viruses in children with acute respiratory infection. *J Clin Virol*. 2010;47(2):148–55.
8. Zuccotti G, Dilillo D, Zappa A, Galli E, Amendola A, Martinelli M, et al. Epidemiological and clinical features of respiratory viral infections in hospitalized children during the circulation of influenza virus A(H1N1) 2009. *Influenza Other Respi Viruses*. 2011;5(6).
9. Zhao B, Yu X, Wang C, Teng Z, Wang C, Shen J, et al. High Human Bocavirus Viral Load Is Associated with Disease Severity in Children under Five Years of Age. *PLoS One*. 2013;8(4):e62318.
10. Guo L, Gonzalez R, Xie Z, Zhou H, Liu C, Wu C, Paranhos-Baccalà G VG, Shen K, Jin Q WJ. Bocavirus in children with acute respiratory infection. *Emerg Infect Dis*. 2011;17(9):1775–7.
11. Zappa A, Canuti M, Frati E, Pariani E, Perin S, Ruzza ML, et al. Co-circulation of genetically distinct human metapneumovirus and human bocavirus strains in young children with respiratory tract infections in Italy. *J Med Virol*. 2011;83(1):156–64.
12. Nascimento-Carvalho CM, Cardoso MRA, Meriluoto M, Kempainen K, Kantola K, Ruuskanen O, et al. Human bocavirus infection diagnosed serologically among children admitted to hospital with community-acquired pneumonia in a tropical region. *J Med Virol*. 2012;84(2):253–8.
13. Arnott A, Vong S, Rith S, Naughtin M, Ly S, Guillard B, et al. Human bocavirus amongst an all-ages population hospitalised with acute lower respiratory infections in Cambodia. *Influenza Other Respi Viruses*. 2013;7(2):201–10.
14. Moreno L, Eguizábal L, Ghietto LM, Bujedo E AM. Human bocavirus respiratory infection in infants in Córdoba, Argentina. *Arch Argent Pediatr* [Internet]. 2014;112(1):70–4. Available from: <http://dx.doi.org/10.5546/aap.2014.eng.70>
15. Wasinger NS, Marchesi A, Cardozo Tomas A, Khon V, Arroyo F, Marchetti C, Moreno L AM. Características clínicas de la infección respiratoria por Bocavirus humano en niños menores de 5 años previamente sanos. *Rev Fac Cien Med Univ Nac Cordoba*. 2014;Supl:199–200.
16. International Committee on Taxonomy of viruses. *Virus Taxonomy: 2015 Release* [Internet]. 2016. Available from: <http://www.ictvonline.org/virusTaxonomy.asp>
17. Fang L, Wang Z, Song S, Kataoka M, Ke C, Suzuki T, et al. Characterization of human bocavirus-like particles generated by recombinant baculoviruses. *J Virol Methods*. 2014;207:38–44.
18. Chiu CC, Shi YF, Yang JJ, Hsiao YC, Tzang BS, Hsu TC. Effects of human parvovirus B19 and bocavirus VP1 unique region on tight junction of human airway epithelial A549 cells. *PLoS One*. 2014;9(9):e107970.
19. Rogo LD, Mokhtari-Azad T, Kabir MH, Rezaei F. Human parvovirus B19: A review. Vol. 58, *Acta Virologica*. AEP - Academic Electronic Press Ltd.; 2014. p. 199–213.
20. Sun Y, Chen AY, Cheng F, Guan W, Johnson FB, Qiu J. Molecular characterization of infectious clones of the minute virus of canines reveals unique features of bocaviruses. *J Virol* [Internet]. 2009;83(8):3956–67. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2663281&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
21. Shen W, Deng X, Zou W, Engelhardt JF, Yan Z QJ. Analysis of the Cis and Trans Requirements for DNA Replication at the Right End Hairpin of the Human Bocavirus 1 Genome. *J Virol*. 2016;pii: JVI.00708–16.
22. Zou W, Cheng F, Shen W, Engelhardt JF, Yan Z QJ. Nonstructural Protein NP1 of Human Bocavirus 1 Plays a Critical Role in the Expression of Viral Capsid Proteins. *J Virol*. 2016;90(9):4658–69.
23. Kapoor A, Simmonds P, Slikas E, Li L, Bodhidatta L, Sethabutr O, et al. Human bocaviruses are highly diverse, dispersed, recombination prone, and prevalent in enteric infections. *J Infect Dis* [Inter-



- net]. 2010;201(11):1633–43. Available from: <http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-77951916579&partnerID=tZOTx3y1>
24. Brieu N, Gay B, Segondy M, Foulongne V. Electron microscopy observation of human bocavirus (HBoV) in nasopharyngeal samples from HBoV-infected children. *J Clin Microbiol*. 2007;45(10):3419–20.
  25. Wang W, Cavailler P, Ren P, Zhang J, Dong W, Yan H, et al. Molecular monitoring of causative viruses in child acute respiratory infection in endemo-epidemic situations in Shanghai. *J Clin Virol*. 2010;49(3):211–8.
  26. Hedman L, Söderlund-Venermo M, Jartti T, Ruuskanen O HK. Dating of human bocavirus infection with protein-denaturing IgG-avidity assays-Secondary immune activations are ubiquitous in immunocompetent adults. *J Clin Virol*. 2010;48(1):44–8.
  27. Ghietto LM, Cámara A, Zhou Y, Pedranti M, Ferreyra S, Frey T, et al. High prevalence of human bocavirus 1 in infants with lower acute respiratory tract disease in Argentina. *Brazilian J Infect Dis [Internet]*. 2012;16(1):38–44. Available from: [www.elsevier.com/locate/bjid](http://www.elsevier.com/locate/bjid)
  28. Guido M, Zizza A, Bredl S, Lindner J, De Donno A, Quattrocchi M, et al. Seroepidemiology of human bocavirus in Apulia, Italy. *Clin Microbiol Infect*. 2012;18:E74–6.
  29. Shen J, Zhu Q, Zeng M, Yu H. Detection and genome analysis of human bocavirus 1-4 from hospitalized children with acute lower respiratory tract infection and symptoms of wheezing in Shanghai. *Int J Mol Med*. 2013;32(6):1415–20.
  30. Chen YW, Huang YC, Ho TH, Huang CG, Tsao KC, Lin TY. Viral etiology of bronchiolitis among pediatric inpatients in northern Taiwan with emphasis on newly identified respiratory viruses. *J Microbiol Immunol Infect*. 2014;47(2):116–21.
  31. Finianos M, Issa R, Curran M, C A, M R, J I, et al. Etiology, seasonality and clinical characterization of viral respiratory infections among hospitalized children in Beirut, Lebanon. *J Med Virol*. 2016;[Epub ahead of print].
  32. Bicer S, Giray T, Çöl D, Erdağ GÇ, Vitrinel A, Gürol Y, et al. Virological and clinical characterizations of respiratory infections in hospitalized children. *Ital J Pediatr [Internet]*. 2013;39:22. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3621398&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
  33. Martin ET, Fairchok MP, Kuypers J, Magaret A, Zerr DM, Wald A, et al. Frequent and prolonged shedding of bocavirus in young children attending day-care. *J Infect Dis*. 2010;201(11):1625–32.
  34. Guo L, Wang Y, Zhou H, Wu C, Song J, Li J, et al. Differential Seroprevalence of human bocavirus species 1-4 in Beijing, China. *PLoS One*. 2012;7(6):e39644.
  35. Meriluoto M, Hedman L, Tanner L, Simell V, Makinen M, Simell S, et al. Association of human bocavirus 1 infection with respiratory disease in childhood follow-up study Finland. *Emerg Infect Dis*. 2012;18(2):264–71.
  36. Kantola K, Hedman L, Tanner L, Simell V, Mäkinen M, Partanen J, et al. B-cell responses to human bocaviruses 1-4: New insights from a childhood follow-up study. *PLoS One*. 2015;10(9):e0139096.
  37. Proenca-Modena JL, Pereira Valera FC, Jacob MG, Buzatto GP, Saturno TH, Lopes L, et al. High rates of detection of respiratory viruses in tonsillar tissues from children with chronic adenotonsillar disease. *PLoS One*. 2012;7(8).
  38. Abdel-Moneim AS, Kamel MM, Al-Ghamdi AS, Al-Malky MIR. Detection of Bocavirus in Children Suffering from Acute Respiratory Tract Infections in Saudi Arabia. *PLoS One*. 2013;8(1):e55500.
  39. Longtin J, Bastien M, Gilca R, Leblanc E, De Serres G, Bergeron MG, et al. Human bocavirus infections in hospitalized children and adults. *Emerg Infect Dis*. 2008;14(2):217–21.
  40. Martin ET, Taylor J, Kuypers J, Magaret A, Wald A, Zerr D, et al. Detection of bocavirus in saliva of children with and without respiratory illness. *J Clin Microbiol*. 2009;47(12):4131–2.
  41. Deng Y, Gu X, Zhao X, Luo J, Luo Z, Wang L, et al. High viral load of human bocavirus correlates with duration of wheezing in children with severe lower respiratory tract infection. *PLoS One*. 2012;7(3):e34353.
  42. Zhou L, Zheng S, Xiao Q, Ren L, Xie X, Luo J, et al. Single detection of human bocavirus 1 with a high viral load in severe respiratory tract infections in previously healthy children. *BMC Infect Dis [Internet]*. 2014;14:424. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=4125703&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
  43. Martin ET, Kuypers J, McRoberts JP, Englund JA, Zerr DM. Human Bocavirus 1 Primary Infection and Shedding in Infants. *J Infect Dis*. 2015;212(4):516–24.
  44. Wagner JC, Pyles R, Miller A, Nokso-Koivisto J, Loeffelholz M, Chonmaitree T. Determining Persistence of Bocavirus DNA in the Respiratory Tract of Children by Pyrosequencing. *Pediatr Infect Dis J*. 2016;35(5):471–6.
  45. Xiaoyan L, Jinying C, Mei K, Xu S, Ming Z, Liru G. Development of high-throughput liquid chips for respiratory virus detection. *Clin Lab*. 2014;60(3):347–61.
  46. Sadeghi M, Kantola K, Finnegan DPJ, McCaughey C, Hedman L, Söderlund-Venermo M, et al. Possible involvement of human bocavirus 1 in the



- death of a middle-aged immunosuppressed patient. *J Clin Microbiol.* 2013;51(10):3461–3.
47. T Ursic, Krivec U, Kalan G, Petrovec M. Fatal human bocavirus infection in an 18-month-old child with chronic lung disease of prematurity. *Pediatr Infect Dis J.* 2015;34(1):111–2.
48. Ziyade N, Sirin G, Elgormus N, Das T. Detection of human bocavirus DNA by multiplex PCR analysis: Postmortem case report. *Balkan Med J [Internet].* 2015;32(2):226–9. Available from: <http://www.balkanmedicaljournal.org/sayilar/81/buyuk/226-229.pdf><http://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&PAGE=reference&D=emed13&NEWS=N&AN=2015016654>
49. Krakau M, Gerbershagen K, Frost U, Hinzke M, Brockmann M, Schildgen V, et al. Case Report: Human Bocavirus Associated Pneumonia as Cause of Acute Injury, Cologne, Germany. *Med [Internet].* 2015;94(42):e1587. Available from: <http://content.wkhealth.com/linkback/openurl?sid=WKPTLP:landingpage&an=00005792-201510030-00011>
50. Schildgen O. Human Bocavirus: Lessons Learned to Date. *Pathogens [Internet].* 2013;2(1):1–12. Available from: [www.mdpi.com/journal/pathogens](http://www.mdpi.com/journal/pathogens)
51. Proenca-Modena JL, Paula FE, Buzatto GP, Carenzi LR, Saturno TH, Prates MC, et al. Hypertrophic adenoid is a major infection site of human bocavirus 1. *J Clin Microbiol.* 2014;52(8):3030–7.
52. H Li H, He M, Zeng P, Gao Z, Bian G, C CY, et al. The genomic and seroprevalence of human bocavirus in healthy Chinese plasma donors and plasma derivatives. *Transfusion.* 2015;55(1):154–63.
53. Abdel-Moneim AS, El-Fol HA, Kamel MM, Soliman AS, Mahdi EA E-GA, TZ. M. Screening of human bocavirus in surgically excised cancer specimens. *Arch Virol.* 2016;161(8):2095–102.
54. Kim S. Prevalence of human bocavirus 1 among people without gastroenteritis symptoms in South Korea between 2008 and 2010. *Arch Virol.* 2014;159(10):2741–4.
55. Deng ZH, Hao YX, Yao LH, Xie ZP, Gao HC, Xie LY, et al. Immunogenicity of recombinant human bocavirus-1,2 VP2 gene virus-like particles in mice. *Immunology.* 2014;142(1):58–66.
56. Zhou Z, Gao X, Wang Y, Zhou H, Wu C, Paranhos-Baccal?? G, et al. Conserved B-cell epitopes among human bocavirus species indicate potential diagnostic targets. *PLoS One.* 2014;9(1):e86960.
57. Dijkman R, Koekkoek SM, Molenkamp R, Schildgen O, van der Hoek L. Human bocavirus can be cultured in differentiated human airway epithelial cells. *J Virol.* 2009;83(15):7739–48.
58. Chen AY, Cheng F, Lou S, Luo Y, Liu Z, Delwart E, et al. Characterization of the gene expression profile of human bocavirus. *Virology.* 2010;403(2):145–54.
59. Huang Q, Deng X, Yan Z, Cheng F, Luo Y, Shen W, et al. Establishment of a Reverse Genetics System for Studying Human Bocavirus in Human Airway Epithelia. *PLoS Pathog.* 2012;8(8).
60. Sun B, Cai Y, Li Y, Li J, Liu K, Li Y, et al. The nonstructural protein NP1 of human bocavirus 1 induces cell cycle arrest and apoptosis in Hela cells. *Virology.* 2013;440:75–83.
61. Deng XF, Yan ZY, Luo Y, Xu J, Cheng F, Li Y, et al. In Vitro Modeling of Human Bocavirus 1 Infection of Polarized Primary Human Airway Epithelia. *J Virol [Internet].* 2013;87(7):4097–102. Available from: <Go to ISI>://000315957100046
62. Deng X, Li Y, Qiu J. Human bocavirus 1 infects commercially available primary human airway epithelium cultures productively. *J Virol Methods.* 2014;195:112–9.
63. Zhang Z, Zheng Z, Luo H, Meng J, Li H, Li Q, et al. Human Bocavirus NP1 Inhibits IFN- Production by Blocking Association of IFN Regulatory Factor 3 with IFNB Promoter. *J Immunol [Internet].* 2012;189:1144–53. Available from: <http://www.jimmunol.org/cgi/doi/10.4049/jimmunol.1200096>
64. Zhang X, Li Q, Liu Y, Bai B. Human Bocavirus VP2 Upregulates IFN-  $\beta$  Pathway by Inhibiting Ring Finger Protein 125 – Mediated Ubiquitination of Retinoic Acid – Inducible Gene-1. *J Immunol [Internet].* 2013;191:660–9. Available from: <http://www.jimmunol.org/content/191/2/660>
65. Khalfaoui S, Eichhorn V, Karagiannidis C, Bayh I, Brockmann M, Pieper M, et al. Lung Infection by Human Bocavirus Induces the Release of Profibrotic Mediator Cytokines In Vivo and In Vitro. *PLoS One [Internet].* 2016;11(1):e0147010. Available from: <http://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0147010>
66. Liu Q, Zhang Z, Zheng Z, Zheng C, Liu Y, Hu Q, et al. Human Bocavirus NS1 and NS1-70 Proteins Inhibit TNF- $\alpha$ -Mediated Activation of NF- $\kappa$ B by targeting p65. *Nat Publ Gr [Internet].* 2016;6(April):1–12. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/srep28481>
67. Clément N, Battaglioli G, Jensen RL, Schnepf BC, Johnson PR, George K St., et al. Prevalence of Human Bocavirus in Human Tonsils and Adenoids. *Emerg Infect Dis.* 2009;15(7):1149–50.
68. Schildgen V, Malecki M, Tillmann RL, Brockmann M, Schildgen O. The Human Bocavirus Is Associated with Some Lung and Colorectal Cancers and Persists in Solid Tumors. *PLoS One.* 2013;8(6):1–7.
69. Norja P, Hedman L, Kantola K, Kempainen K, Suvilehto J PA, Aaltonen LM, Seppänen M, Hedman K S-VM. Occurrence of human bocaviruses and parvovirus 4 in solid tissues. *J Med Virol.* 2012;84(8):1267–73.

70. Viale F, D'Angelo AT, Velazquez M, Bracciaforte R, Ghietto L, Adamo M. Aislamiento de Bocavirus Humano 1 en cultivo celular. *Rev Fac Cien Med Univ Nac Cordoba*. 2015;72(Supl.):142–3.
71. Maffey AF, Carolina D, Venialgo M, Paola D, Barrero R, Valentina B, et al. Artículo original. *Arch Argent Pediatr*. 2008;106.
72. Salmon-Mulanovich G, Sovero M, Laguna-Torres VA, Kochel TJ, Lescano AG, Chauca G, et al. Frequency of human bocavirus (HBoV) infection among children with febrile respiratory symptoms in Argentina, Nicaragua and Peru. *Influenza Other Respi Viruses*. 2011;5(1):1–5.
73. Vera-garate MV, Rudi JM, Gómez A, Molina F, Viotti MF, Ortellao L, et al. Detección de bocavirus humano en la población infantil de Tucumán y Santa Fe, Argentina. *Rev Chil Infectol*. 2016;33(2):135–40.
74. Deluca GD, Urquijo MC, Passarella C, Picón C, Picón D, Acosta M, et al. Bocavirus en niños menores de 5 años con infección respiratoria aguda. *Med (Buenos Aires)*. 2016;76:135–8.
75. Ghietto LM, Cámara A, Cámara J, Adamo MP. High frequency of human bocavirus 1 DNA in infants and adults with lower acute respiratory infection. *J Med Microbiol*. 2012;61:548–51.
76. Ghietto LM, Majul D, Ferreyra Soaje P, Baumeister E, Avaro M, Insfrán C, et al. Comorbidity and high viral load linked to clinical presentation of respiratory human bocavirus infection. *Arch Virol*. 2015;160:117–27.
77. Marchesi A, Wasinger NS, Cardozo Tomás A, Ferreyra Soaje P, Eguizábal L, Ghietto LM, Quiroga D AM. Dinámica de Bocavirus Humano 1 En niños pre-escolares hospitalizados por infección respiratoria aguda baja en Córdoba, 2007-2013. *Rev Fac Cien Med Univ Nac Cordoba*. 2014;Supl:200–1.
78. Majul DG, Ghietto LM, Orellana J, Adamo MP. Human bocavirus frequency in pre-school and school-aged hospitalized wheezing children and association to epidemiological risk factors of wheezing. *Sci J Microbiol [Internet]*. 2014;3(33):32–7. Available from: <http://www.sjournals.com/index.php/SJMi/article/view/1139>
79. Vaca A, Ghietto LM AM. Screening de Bocavirus humanos 2, 3, 4 en pacientes pediátricos con infección respiratoria aguda baja. *Rev Fac Cien Med Univ Nac Cordoba*. 2014;Supl:251–2.
80. Cardozo Tomás A, Ghietto LM, Insfrán C, Wasinger N. Primer reporte de secuencia genómica completa y análisis filogenético de Bocavirus humano 1 aislado en Argentina. *Rev Fac Cien Med Univ Nac Cordoba*. 2015;72(3):161–9.
81. Insfrán C, Ghietto L, Adamo M. Analisis filogenético de la región única de la proteína de la cápside de bocavirus humano 1. *J Basic Appl Genet*. 2012;23(Supl 2):136–7.
82. Li K, Bai Z, Zhu H, Di B. Prospective Evaluation of Rapid Antigen Tests for Diagnosis of Respiratory Viral Pathogens. *Transplant Proc*. 2015;47(6):1790–5.
83. Hao Y, Gao J, Zhang X, Liu N, Li J, Zheng L, et al. Seroepidemiology of human bocaviruses 1 and 2 in China. *PLoS One*. 2015;10(4):1–10.
84. Kailasan S, Garrison J, Ilyas M, Chipman P, McKenna R KK, Söderlund-Venermo M, Kučinskaitė-Kodžė I, Žvirblienė A A-MM. Mapping Antigenic Epitopes on the Human Bocavirus Capsid. *J Virol*. 2016;90(9):4670–80.
85. Christensen A, Nordbø SA, Krokstad S, Rognlien AGW, Døllner H, Nordbø SA, et al. Human bocavirus in children: Mono-detection, high viral load and viraemia are associated with respiratory tract infection. *J Clin Virol [Internet]*. 2010 Nov 1 [cited 2016 Aug 10];49(3):158–62. Available from: <http://www.journalofclinicalvirology.com/article/S1386653210003057/fulltext>
86. Principi N, Piralla A, Zampiero A, Bianchini S, Umbrello G, Scala A, et al. Bocavirus infection in otherwise healthy children with respiratory disease. *PLoS One*. 2015;10(8):e0135640.