

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MADRID

FACULTAD DE MEDICINA

DEPARTAMENTO DE PEDIATRÍA



**INFECCIONES PEDIÁTRICAS POR
PARECHOVIRUS. ESTUDIO PROSPECTIVO Y
MULTICÉNTRICO DE ÁMBITO NACIONAL.
COMPARACIÓN CON INFECCIONES POR
ENTEROVIRUS**

TESIS DOCTORAL

FERNANDO MARTÍN DEL VALLE

Madrid, 2017

INFECCIONES PEDIÁTRICAS POR PARECHOVIRUS. ESTUDIO PROSPECTIVO Y MULTICÉNTRICO DE ÁMBITO NACIONAL. COMPARACIÓN CON INFECCIONES POR ENTEROVIRUS

Fernando Martín del Valle

LUGAR DE PRESENTACIÓN

Universidad Autónoma de Madrid, Facultad de Medicina, Departamento de
Pediatria

LUGAR DE INVESTIGACIÓN

Hospital Severo Ochoa, Leganés, Madrid
Instituto de Salud Carlos III, Majadahonda, Madrid

DIRECTORAS

Dra. Cristina Calvo Rey y Dra. María Cabrerizo Sanz

TUTORA

Dra. Ana Méndez Echeverría

TÍTULO AL QUE OPTA

Doctor en Pediatría

FECHA DE PRESENTACIÓN

Curso 2016/17

© Fernando Martín del Valle, 2017

Correo electrónico: fernandomartindelvalle@yahoo.es

A mis padres, por ayudarme a llegar hasta aquí.

A Silvia por acompañarme en el camino.

A mis hijas, por ser mi estímulo para seguir adelante.

AGRADECIMIENTOS

A Cristina, mi directora de tesis, por todo su tiempo, y porque sin su estímulo y apoyo constante esta tesis no habría podido salir adelante.

A María, también mi directora de tesis, por ayudarme a dar mis primeros pasos en el mundo de la virología, y por todo el esfuerzo que ha dedicado para ayudarme a finalizar este trabajo.

A la Dra. Ana Méndez, mi tutora, por su colaboración desinteresada.

A M^a Luz, por confiar en mi para volver al lugar en el que empezó todo.

A Sonia y Sergio, por su sincera amistad y apoyo durante tantos años, y especialmente en los últimos meses, durante la realización de esta tesis.

A Llanos y Nuria, y a todos los que me han acompañado en el camino de la neuropediatría. Y a mis compañeros del Hospital Severo Ochoa, especialmente a todos con los que he compartido el objetivo del doctorado.

Y a Silvia, por darme parte de su tiempo cuando el mio no era suficiente.

RESUMEN

Introducción. Los parechovirus humanos (HPeV) son virus de la familia *Picornaviridae* y la mayoría de ellos han sido descritos en los últimos 10 años. La infección por HPeV se ha asociado a cuadros respiratorios o de gastroenteritis leves, pero también a fiebre sin foco (FSF), sepsis clínica, meningitis o encefalitis, estas últimas patologías fundamentalmente en lactantes pequeños y neonatos. La mayoría de los estudios sobre HPeV son muy recientes siendo, en general, retrospectivos y bastante heterogéneos, además de realizados con diferentes metodologías y sin búsqueda sistemática de dichas infecciones. El conocimiento de cuáles son las características epidemiológicas de las infecciones por HPeV, así como a qué cuadros clínicos se asocian es primordial para que puedan ser sospechadas, reconocidas, diagnosticadas y adecuadamente tratadas. El objetivo de esta tesis doctoral es la investigación de las infecciones por HPeV en población pediátrica en España, comparándolas con las de las infecciones por enterovirus (EV) en el mismo grupo de pacientes.

Objetivos. **1)** Estudiar la prevalencia de las infecciones por HPeV en niños menores de 3 años que requieren hospitalización. **2)** Determinar las características epidemiológicas y clínicas de las infecciones por HPeV. **3)** Comparar dichas características con las de las infecciones por EV en los mismos grupos de pacientes. **4)** Analizar la evolución neurológica a medio plazo de los niños que han sufrido una infección por HPeV.

Pacientes y métodos. Entre 2013 y 2015, se realizó un estudio multicéntrico prospectivo en 12 hospitales a nivel nacional, incluyendo niños menores de 3 años con sospecha de infección vírica: FSF, meningitis aséptica,

encefalitis o sepsis clínica. Se definió FSF como temperatura axilar superior a 37,9 °C sin aparente causa tras una completa exploración física y análisis de laboratorio. Se consideró el diagnóstico de meningitis aséptica cuando existía pleocitosis mayor de 30 células/mm³ en neonatos o mayor de 5 células/mm³ en niños mayores de un mes, con cultivo de líquido cefalorraquídeo (LCR) negativo para bacterias. El diagnóstico de encefalitis fue realizado sobre la base de la presentación clínica de disminución del nivel de consciencia, con otros síntomas de afectación neurológica. Se definió la sepsis clínica como la presencia de datos clínicos y marcadores biológicos de síndrome de respuesta inflamatoria sistémica, sin confirmación bacteriológica en los cultivos.

Se recogió muestra de LCR, suero, exudado faríngeo o heces. Las muestras fueron remitidas a los servicios de microbiología de los hospitales participantes, donde se realizó la determinación de EV utilizando métodos moleculares. Las muestras positivas para EV fueron enviadas a la Unidad de Enterovirus (UE) del Centro Nacional de Microbiología (CNM), donde se caracterizó el serotipo de EV mediante amplificación genómica y posterior secuenciación. Parte de las muestras que fueron negativas para EV fueron testadas para HPeV en el CNM, y en los casos positivos se caracterizó el genotipo. Los datos clínicos se recogieron en los hospitales de origen mediante una ficha clínica estructurada y se analizaron usando el programa SPSS 21.0.

Resultados. Se incluyeron un total de 849 muestras pertenecientes a 843 pacientes, de las cuales 574 fueron de LCR, 141 de suero, 89 de exudado faríngeo, 13 de heces, y 4 biopsias. Se identificaron 43 casos de infección por HPeV (5,1%) y 403 casos de infección por EV (47,5%). El 88,6% de las infecciones por HPeV fueron causadas por el tipo 3, mientras que en las

infecciones por EV, se caracterizaron hasta 26 serotipos diferentes. Tanto para EV como para HPeV, mayo y julio fueron los meses en los que se detectaron más casos observándose, además, un patrón bienal en las infecciones por HPeV-3, con mayor frecuencia en los años 2013 y 2015 que no se aprecia en las causadas por EV.

La edad de los niños infectados por HPeV fue significativamente menor que los infectados por EV (mediana 23 días (RIQ 12-42) vs. 36 días (RIQ 18,5-91); $p=,016$). En cuanto a las manifestaciones clínicas, en el grupo de pacientes EV-positivos fue más frecuente el meningismo (28,3% vs. 4,7%; $p=,004$), y los síntomas catarrales (23% vs. 4,7%; $p=,007$), y en el grupo de pacientes HPeV-positivos fue más frecuente la clínica de sepsis (24,4% vs. 4,8%; $p<,001$). En las pruebas analíticas se observó un valor de leucocitos en sangre más elevado en el grupo de EV-positivos (10265 vs. 8106 células/mm³; $p=,001$), presentando con mayor frecuencia pleocitosis (51,4% vs. 6,1%; $p<,001$), mientras que en los HPeV-positivos la elevación de transaminasas era más frecuente (11,9% vs. 2,95%; $p=,007$).

No existieron diferencias estadísticamente significativas en el uso de antibióticos en ambos grupos de pacientes, pero los niños infectados con HPeV precisaron con más frecuencia ingreso en UCIP (34,5% vs. 10,6%; $p=,004$).

La evolución a corto plazo fue favorable en los dos grupos de pacientes. En el grupo de las infecciones por HPeV, sólo un paciente presentó secuelas en el momento del alta, frente a dos en el grupo de los EV-positivos. No falleció ningún paciente. Se pudo valorar la evolución neurológica de 15 pacientes con infección por HPeV, observándose en 3 de ellos alteraciones en las escalas de

motricidad, uno de los cuales presentó una hemiparesia. Además, otro paciente tuvo hipotonía leve.

Conclusiones. El HPeV-3 circula por todas las comunidades autónomas incluídas en nuestro estudio, y se detecta en un 5% de los pacientes menores de tres años con cuadros de fiebre sin foco, sepsis clínica, meningitis o meningoencefalitis. Parece que tiene una distribución bienal, con predominio en primavera y verano. Afecta especialmente a neonatos y lactantes, presentando características clínicas diferentes a las de las infecciones por EV. El pronóstico a corto plazo es bueno pero el pronóstico neurológico a largo plazo es incierto y no se puede descartar que existan alteraciones del desarrollo psicomotor en los pacientes con afectación del sistema nervioso central.

DESCRIPTORES

Parechovirus. Enterovirus. Picornaviridae. Sepsis. Meningitis. Encefalitis. Fiebre sin foco. Desarrollo psicomotor. ASQ. Neonatos. LCR.

SUMMARY

Background. Human parechoviruses (HPeV) are viruses of the *Picornaviridae* family described in the last 10 years. HPeV infections have been associated with mild respiratory or gastroenteritis disease but also with fever without source (FWS), sepsis-like illness, meningitis or encephalitis, these last pathologies mainly in young infants and neonates. Most studies about HPeV have been published recently and they use to be retrospective and quite heterogeneous, performed with different methodologies and without a systematic search for these infections. The knowledge of the epidemiological and clinical characteristics associated with HPeV infections is essential in order to be suspected, recognized, diagnosed and adequately treated. The aim of this doctoral thesis is to investigate HPeV infections in pediatric population in Spain, comparing with those of enterovirus (EV) infections detected in the same group of patients.

Aims. **1)** To study the prevalence of HPeV infections in infants under 3 years of age requiring hospitalization. **2)** To determine the epidemiology and clinical characteristics of HPeV infections. **3)** To compare these characteristics with those of EV infections in the same age groups. **4)** To analyze the medium-term neurologic outcome of the children who had suffered an HPeV infection.

Patients and methods. A prospective multicenter study was conducted between 2013 and 2015, in 12 hospitals nationwide. Children under 3 years-old with suspected viral infection (FWS, aseptic meningitis, encephalitis or sepsis) were included. FSF was defined as axillary temperature above 37.9 °C with no apparent cause after complete physical examination and laboratory analysis. The diagnosis of aseptic meningitis was considered when there was pleocytosis

greater than 30 cells/mm³ in neonates or greater than 5 cells/mm³ in children older than one month, with cultures of cerebrospinal fluid (CSF) being negative for bacteria. The diagnosis of encephalitis was made on the basis of clinical presentation of decreased level of consciousness, with other symptoms of neurological involvement. Clinical sepsis was defined as the presence of clinical data and biological markers of systemic inflammatory response syndrome, without bacteriological confirmation in the cultures.

Samples of CSF, serum, pharyngeal exudate or faeces were collected. The samples were sent to the microbiology departments of the participating hospitals, where EV determination was performed using molecular methods. EV-positive samples were sent to the Enterovirus Unit (UE) of the National Center for Microbiology (CNM), where the type of EV was characterized by genomic amplification and subsequent sequencing. Some of the samples that were negative for EV were tested for HPeV in the CNM, and the genotype was characterized in positive cases. Clinical data were collected by the origin hospitals using a structured clinical record and they were analyzed using the SPSS 21.0 program.

Results. A total of 849 samples from 843 patients were included, 574 of which were CSF, 141 serum, 89 pharyngeal swabs, 13 feces, and 4 biopsies. 43 cases of HPV infection (5.1%) and 403 cases of EV infection (47.5%) were identified. 88.6% of HPeV infections were caused by type 3, whereas in EV infections, up to 26 different serotypes were identified. For both EV and HPeV infections, May and July were the months in which more positive cases were detected. Furthermore, a biennial pattern was observed in HPeV-3 infections, being more frequently in years 2013 and 2015.

The age of the HPeV-infected children was significantly lower than those infected with EV (median 23 days (IQR 12-42) vs. 36 days (IQR 18.5 to 91); $p=,016$). In the EV-positive patient group, meningism (28.3% vs. 4.7%, $p=.004$) and catarrhal symptoms (23% vs. 4.7%; $p=.007$) were more frequent, while clinical sepsis was more frequent in HPeV-positive patients (24.4% vs. 4.8%; $p<.001$). In EV-positive patients, a higher value of leukocytes in blood was observed (10,265 vs. 8,106 cells/mm³; $p=.001$), and CSF pleocytosis was also more frequent (51.4% vs. 6.1%; $p<.001$), while elevated transaminases were most common in the HPeV-positive group (11.9% vs. 2.95%; $p=.007$).

There were no statistically significant differences in use of antibiotics in both groups of patients, but admission to PICU was more frequent in HPeV-infected children (34.5% vs. 10.6%; $p=.004$).

Short-term outcome was favorable in both groups of patients. In HPeV infections group, only one patient had sequelae at discharge, compared to two in the EV-positive group. No patient died. It was possible to evaluate the neurological outcome of 15 patients with HPV infection, with 3 of them being altered in the motor scales, one of which presented hemiparesis. In addition, another patient had mild hypotonia.

Conclusions. HPeV-3 is circulating in all regions included in this study, and is detected in 5% of patients under 3 years presenting with fever without source, sepsis-like illness, meningitis or meningoencephalitis. It seems to have a biennial distribution with predominance in spring and summer. HPeV-3 especially affects neonates and infants, presenting with different clinical characteristics of EV infections. Short-term prognosis is good but the long-term

neurological outcome is uncertain, and psychomotor development involvement cannot be ruled out in patients with central nervous system disease.

KEYWORDS

Parechovirus. Enterovirus. Picornaviridae. Sepsis. Meningitis. Encephalitis.

Fever without source. Psychomotor development. ASQ. Neonates. CSF.

INDICE GENERAL

LISTA DE TABLAS.....	pág. 23
LISTA DE FIGURAS.....	pág. 25
ABREVIATURAS.....	pág. 29
1. Introducción.....	pág. 31
2. Objetivos.....	pág. 85
3. Pacientes y métodos.....	pág. 89
4. Resultados.....	pág. 101
5. Discusión.....	pág. 149
6. Conclusiones.....	pág. 173
7. Bibliografía.....	pág. 177
ANEXOS.....	pág. 195

ÍNDICE DETALLADO

LISTA DE TABLAS.....	23
LISTA DE FIGURAS.....	25
ABREVIATURAS.....	29
I. INTRODUCCIÓN.....	31
1. PATOLOGÍA NEUROLÓGICA Y SISTÉMICA.....	35
1.1 Meningitis y encefalitis.....	35
Definición.....	35
Etiología.....	36
Clínica.....	39
Diagnóstico.....	42
Tratamiento.....	44
1.2 Sepsis.....	45
Definición.....	45
Etiología.....	46
Clínica.....	47
Diagnóstico.....	48
Tratamiento.....	49
1.3 Fiebre sin foco.....	50
Definición.....	50
Etiología.....	51
Clínica.....	52
Diagnóstico.....	53
Tratamiento.....	55
2. PICORNAVIRUS.....	58
2.1 Enterovirus.....	59
Historia y clasificación taxonómica.....	59
Estructura vírica y ciclo replicativo.....	61
Patogenia.....	64
Epidemiología.....	66
Patología clínica.....	67

Enterovirus emergentes.....	70
Diagnóstico microbiológico.....	71
Pronóstico.....	73
2.2 Parechovirus humanos.....	75
Historia y clasificación taxonómica.....	75
Estructura vírica y ciclo replicativo.....	76
Patogenia.....	77
Epidemiología.....	78
Patología clínica.....	80
Diagnóstico microbiológico.....	81
3.JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO.....	83
II. OBJETIVOS.....	85
1. OBJETIVO PRINCIPAL.....	87
2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	87
III. PACIENTES Y MÉTODOS.....	89
1. DISEÑO DEL ESTUDIO.....	91
1.1 Ámbito del estudio (centros y hospitales participantes).....	91
1.2 Criterios de inclusión.....	92
1.3 Criterios de exclusión.....	93
1.4 Recogida de muestras.....	93
1.5 Recogida de datos clínicos.....	94
1.6 Estudios microbiológicos.....	96
Detección y caracterización de EV y HPeV en muestras clínicas.....	96
1.7 Análisis estadístico.....	97
1.8 Evaluación del desarrollo psicomotor.....	98
2. ASPECTOS ÉTICOS.....	99
IV. RESULTADOS.....	101
1. CARACTERÍSTICAS DE LOS PACIENTES.....	103
1.1 Pacientes incluidos.....	103
1.2 Antecedentes personales.....	105
1.3 Manifestaciones clínicas.....	108
1.4 Diagnóstico clínico.....	109
1.5 Determinaciones analíticas.....	110

1.6 Tratamiento.....	111
1.7 Evolución.....	114
2. DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO.....	115
2.1 Muestras estudiadas.....	115
2.2 Resultados virológicos: Detección de EV y HPeV.....	116
2.3 Distribución anual de las infecciones.....	118
2.4 Caracterización de los serotipos de EV y HPeV.....	118
2.5 Otros estudios microbiológicos.....	120
3. INFECCIONES POR PARECHOVIRUS.....	122
3.1 Pacientes HPeV-positivos.....	122
3.2 Antecedentes personales.....	123
3.3 Manifestaciones clínicas.....	124
3.4 Diagnóstico clínico.....	125
3.5 Determinaciones analíticas.....	125
3.6 Tratamiento.....	126
3.7 Evolución a corto plazo.....	128
3.8 Evaluación del desarrollo psicomotor.....	128
4. INFECCIONES POR ENTEROVIRUS.....	130
4.1 Pacientes EV-positivos.....	130
4.2 Antecedentes personales.....	131
4.3 Manifestaciones clínicas.....	133
4.4 Diagnóstico clínico.....	133
4.5 Determinaciones analíticas.....	135
4.6 Tratamiento.....	136
4.7 Evolución a corto plazo.....	138
5. COMPARACIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS EPIDEMIOLOGICAS Y CLÍNICAS DE LAS INFECCIONES POR ENTEROVIRUS Y PARECHOVIRUS.....	139
5.1 Características epidemiológicas.....	139
5.2 Manifestaciones clínicas.....	140
5.3 Diagnóstico clínico.....	143
5.4 Determinaciones analíticas.....	144
5.5 Tratamiento y evolución.....	147
V. DISCUSIÓN.....	149

1. INFECCIONES POR PARECHOVIRUS.....	152
2. EVOLUCIÓN NEUROLÓGICA DE LOS PACIENTES CON INFECCIÓN POR HPeV.....	161
3. COMPARATIVA ENTRE LAS INFECCIONES POR EV Y HPeV.....	164
4. LIMITACIONES Y FORTALEZAS.....	170
V. CONCLUSIONES.....	173
VI. BIBLIOGRAFÍA.....	177
VII. ANEXOS.....	195
ANEXO I. Hoja de recogida de datos.....	197
ANEXO II. Informe del Comité de ética.....	199
ANEXO III. Consentimiento informado.....	201
ANEXO IV. Modelo de hoja de recogida de datos del cuestionario ASQ-3 para 18 meses.....	203
ANEXO V. Publicación	205

LISTA DE TABLAS

Tabla 1	Causas de meningitis bacteriana.....	pág. 37
Tabla 2	Criterios de encefalitis.....	pág. 41
Tabla 3	Características del LCR.....	pág. 43
Tabla 4	Score de Boyer.....	pág. 44
Tabla 5	Exploraciones complementarias de utilidad en el shock séptico.....	pág. 49
Tabla 6	Escala de observación para los lactantes pequeños (YIOS).....	pág. 52
Tabla 7	Escala de Yale.....	pág. 53
Tabla 8	Criterios de Rochester.....	pág. 54
Tabla 9	Géneros de la familia <i>Picornaviridae</i> con virus que infectan humanos.....	pág. 59
Tabla 10	Antecedentes patológicos (Número de casos y % de los patológicos).....	pág. 106
Tabla 11	Manifestaciones clínicas de los pacientes de la serie completa.....	pág. 108
Tabla 12	Secuelas en el momento del alta, serie completa.....	pág. 114
Tabla 13	Resultado de coinfecciones bacterianas o con virus respiratorios en pacientes infectados por EV o HPeV..	pág. 121
Tabla 14	Patología de base en pacientes con infección por HPeV (Número de casos y %)......	pág. 123
Tabla 15	Manifestaciones clínicas y complicaciones en los pacientes con infección por HPeV.....	pág. 124
Tabla 16	Resumen de resultados del test ASQ-3.....	pág. 129
Tabla 17	Patología de base en niños con infección por EV (Número de casos y %)......	pág. 131
Tabla 18	Comparación de los datos de laboratorio en los grupos de HPeV y EV.....	pág. 146

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Anatomía de las meninges.....	pág. 35
Figura 2	Signos de Kerning y Brudzinski.....	pág. 40
Figura 3	Ejemplo de árbol de decisión para lactantes menores de 3 meses.....	pág. 56
Figura 4	Árbol de decisión para lactantes de 3 meses a 3 años.....	pág. 57
Figura 5	Árbol filogenético de la familia Picornaviridae. con 15 de los 35 géneros que la forman, incluidos los que contiene virus que infectan humanos.....	pág. 58
Figura 6	Clasificación actual del género Enterovirus.....	pág. 61
Figura 7	Estructura de la partícula vírica de los EV.....	pág. 62
Figura 8	Organización del genoma de los EV y procesamiento de la poliproteína por parte de las proteasas víricas para dar las diferentes proteínas que forman el virus..	pág. 63
Figura 9	Ciclo replicativo de los EV.....	pág. 64
Figura 10	Patogénesis de las infecciones por EV.....	pág. 66
Figura 11	Imagen de la estructura 3D del HPeV-1.....	pág. 76
Figura 12	Estructura del genoma de los HPeV.....	pág. 77
Figura 13	Rash maculopapuloso en las piernas y eritema plantar en un caso de infección por HPeV-3.....	pág. 81
Figura 14	Procedencia de las pacientes por provincias.....	pág. 103
Figura 15	Distribución de los pacientes por mes y año (valores totales).....	pág. 104
Figura 16	Edad de los pacientes de la muestra completa.....	pág. 104
Figura 17	Porcentaje de varones y mujeres en la serie completa.....	pág. 105
Figura 18	Patologías de base de los pacientes estudiados indicando el número de pacientes.....	pág. 106

Figura 19	Antecedentes personales en la serie completa.....	pág. 108
Figura 20	Diagnóstico final de los pacientes de la serie completa.....	pág. 109
Figura 21	Pacientes con proteína C reactiva elevada (>7 mg/dL)	pág. 110
Figura 22	Nº de pacientes (y porcentaje) con procalcitonina (PCT) elevada (>2 ng/mL).....	pág. 111
Figura 23	Diagnóstico de los pacientes que recibieron tratamiento antibiótico en la serie completa (nº de pacientes y porcentaje).....	pág. 112
Figura 24	Utilización de antibióticos en la serie completa según el diagnóstico (nº de pacientes).....	pág. 112
Figura 25	Diagnóstico de los pacientes de la serie completa que ingresaron en UCI (nº de pacientes y porcentaje).....	pág. 113
Figura 26	Ingreso en UCI de la serie completa según diagnósticos (valores absolutos).....	pág. 113
Figura 27	Diagnósticos de los pacientes que precisaron ventilación mecánica en la serie completa.....	pág. 114
Figura 28	Tipos y porcentajes de muestras clínicas incluidas en el estudio.....	pág. 115
Figura 29	Distribución de los casos según el diagnóstico virológico (nº de muestras y porcentaje).....	pág. 116
Figura 30	Tipo de muestra positiva para EV o HPeV.....	pág. 117
Figura 31	Distribución de los pacientes por provincias y por diagnóstico virológico.....	pág. 117
Figura 32	Distribución mensual de las infecciones de EV y HPeV. (nº de pacientes).....	pág. 118
Figura 33	Tipos de HPeV identificados (número de episodios y porcentaje).....	pág. 119
Figura 34	Serotipos de EV identificados (número de infecciones y porcentaje respecto al total).....	pág. 120
Figura 35	Edad (días) de los pacientes con infección por HPeV.	pág. 122
Figura 36	Distribución por sexo en los pacientes con infección por HPeV (nº de pacientes y porcentaje).....	pág. 123

Figura 37	Antecedentes personales en pacientes con infección por HPeV.....	pág. 124
Figura 38	Diagnóstico clínico en las infecciones por parechovirus (porcentaje y valores absolutos).....	pág. 125
Figura 39	Nº (y porcentaje) de pacientes HPeV-positivos que recibieron tratamiento antibiótico.....	pág. 126
Figura 40	Nº (y porcentaje) de pacientes HPeV-positivos que ingresaron en UCI.....	pág. 127
Figura 41	Tratamientos recibidos según el diagnóstico (Diagrama de barras: antibiótico si/no; Línea: ingreso en UCI).....	pág. 127
Figura 42	Edad (días) de los pacientes con infección por EV.....	pág. 130
Figura 43	Distribución por sexo de los pacientes con infección por EV (nº y porcentaje).....	pág. 131
Figura 44	Antecedentes personales en pacientes con infección por EV.....	pág. 132
Figura 45	Manifestaciones clínicas de los pacientes con infección por EV (se indica el nº de pacientes).....	pág. 133
Figura 46	Diagnóstico clínico en los pacientes con infección por EV (nº de pacientes y porcentaje).....	pág. 134
Figura 47	Frecuencia de los diferentes tipos de EV por especie según los diagnósticos más frecuentes (% del grupo de virus en Eje Y, número de casos sobre la columna).....	pág. 135
Figura 48	Utilización de antibiótico en pacientes EV-positivos (nº de pacientes y porcentaje).....	pág. 136
Figura 49	Ingreso en UCI en pacientes con EV (nº de pacientes y porcentaje).....	pág. 137
Figura 50	Tratamientos recibidos según el diagnóstico clínico en las infecciones por EV (Diagrama de barras: antibiótico si/no; Línea: ingreso en UCI).....	pág. 137
Figura 51	Edad (en días) de los pacientes en las infecciones por HPeV y por EV.....	pág. 139

Figura 52	Frecuencia (%) de los diferentes antecedentes personales en los dos tipos de infección, por HPeV y por EV.....	pág. 140
Figura 53	Frecuencia (%)de meningismo y síntomas catarrales en los pacientes HPeV y EV-positivos.....	pág. 141
Figura 54	Frecuencia (%) de diferentes manifestaciones clínicas en los grupos HPeV y EV-positivos.....	pág. 141
Figura 55	Frecuencia de la elevación de transaminasas y de clínica de sepsis en el grupo HPeV y EV (%).....	pág. 142
Figura 56	Frecuencia (%) de diferentes complicaciones en los pacientes HPeV y EV-positivos.....	pág. 143
Figura 57	Frecuencia (%) de los diferentes diagnósticos clínicos en los pacientes con infección por HPeV y EV.....	pág. 144
Figura 58	Valores de leucocitos (células/mm ³) en las infecciones por HPeV y por EV.....	pág. 145
Figura 59	Valores de plaquetas (células/mm ³) en las infecciones por EV y HPeV.....	pág. 145
Figura 60	Presencia de pleocitosis en los pacientes HPeV y EV-positivos (porcentaje)	pág. 146
Figura 61	Frecuencia (%) en los diferentes tratamientos recibidos en los pacientes HPeV y EV-positivos.....	pág. 147

ABREVIATURAS

ARN	Ácido ribonucleico
ASQ	Age and Stage Questionnaire
CNM	Centro Nacional de Microbiología
CNE	Centro Nacional de Epidemiología
DE	Desviación estándar
FSF	Fiebre sin foco
EMPB	Enfermedad mano-pie-boca
EV	Enterovirus
dL	Decilitro
IGIV	Inmunoglobulina intravenosa
HPeV	Parvovirus humano
LCR	Líquido cefalorraquídeo
mg	Miligramo
mm³	Milímetro cúbico
nm	Nanómetros
OD	Orientación diagnóstica
PCR	Reacción en cadena de la polimerasa
PCT	Procalcitonina
PtCR	Proteína C reactiva
RFA	Reactantes de fase aguda
RIQ	Rango intercuartílico
RT-PCR	Retrotranscripción-Reacción en Cadena de la Polimerasa
SNC	Sistema Nervioso Central

SRIS	Síndrome de Respuesta Inflamatoria Sistémica
UE	Unidad de Enterovirus
VRS	Virus respiratorio sincitial

I. INTRODUCCIÓN

El pediatra se enfrenta diariamente al reto del diagnóstico, es decir, decidir si el paciente que tiene en su consulta o en las urgencias del hospital padece o no una infección u otro tipo de enfermedad, más o menos grave y de cuál debe ser la actitud y los pasos a seguir. Especialmente en los niños más pequeños, sobre todo en los primeros tres meses de vida, la sintomatología de múltiples cuadros es anodina e inespecífica y es complejo saber en un primer momento si nos enfrentamos a un proceso infeccioso o no, de etiología vírica o bacteriana, si el paciente va a requerir la realización de pruebas complementarias, invasivas o no, y si va a precisar hospitalización y tratamiento inmediato.

Aunque el tema no está resuelto, importantes esfuerzos se han llevado a cabo para diseñar estrategias diagnósticas que nos permitan descartar razonablemente aquellas entidades que requieren instaurar un rápido tratamiento. La mejora de las técnicas microbiológicas ha contribuido enormemente a obtener en un corto espacio de tiempo una confirmación del diagnóstico etiológico de muchos de estos cuadros, cambiando nuestra actitud terapéutica y nuestro manejo del paciente. En los últimos años, gracias a la implementación en los laboratorios de métodos moleculares para la detección de patógenos, se ha podido determinar el agente etiológico responsable de infecciones que antes se quedaban sin diagnosticar. Además, estas técnicas, cada vez más sensibles, permiten describir nuevos patógenos o reconocer la relevancia clínica de otros ya conocidos. Esto es lo que ha ocurrido con los virus respiratorios y también con los picornavirus, algunos de los cuales se han

identificado recientemente como agentes causales de patología grave neurológica y sistémica, especialmente en los niños pequeños.

En este contexto, se enmarca la presente tesis doctoral, que pretende profundizar en el conocimiento de la patología clínica causada por los parechovirus humanos (HPeV), un grupo de virus perteneciente a la familia *Picornaviridae*, algunos de los cuales se han identificado muy recientemente, y cuyo papel etiológico en las infecciones de neonatos y lactantes está empezando a ser reconocido.

1. PATOLOGÍA NEUROLÓGICA Y SISTÉMICA

1.1 Meningitis y encefalitis

Definición

La meningitis es un proceso inflamatorio que afecta a las meninges, que son las membranas que recubren al sistema nervioso central (SNC), y al tejido neural subyacente. Existen 3 meninges dispuestas en capas que son, de fuera hacia dentro, duramadre, aracnoides y piamadre. Entre ellas se encuentra el líquido cefalorraquídeo (LCR), en el cual podemos objetivar dicha inflamación (Figura 1).

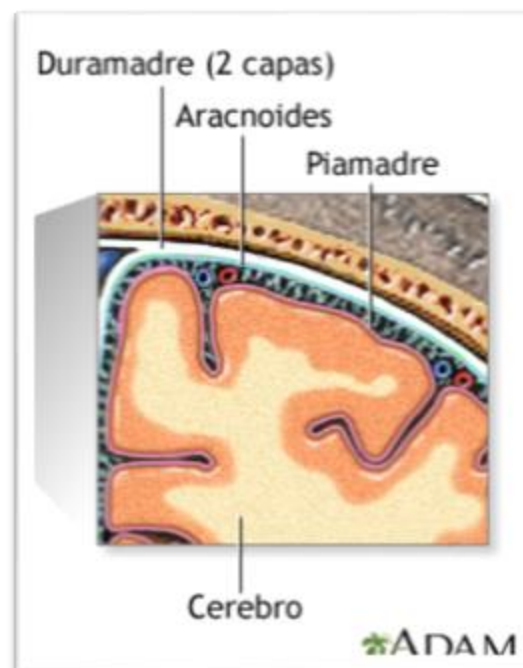


Figura 1. Anatomía de las meninges. Tomado de www.medlineplus.gov

La encefalitis es un proceso inflamatorio que afecta al cerebro¹. Según la localización podríamos hablar de la encefalitis propiamente dicha y de la

encefalitis de tronco o rombencefalitis, en la cual la principal afectación se encuentra en el tronco cerebral, con manifestaciones propias de las estructuras afectadas².

A pesar de ser dos cuadros distintos y con manifestaciones, pronóstico y tratamiento diferentes, es frecuente que nos encontremos ante cuadros de meningoencefalitis, con manifestaciones clínicas y analíticas propias de las dos entidades a la vez.

Etiología

La etiología de las meningitis en los niños es fundamentalmente infecciosa, predominando un patógeno u otro según la edad del paciente. Las meningitis pueden ser debidas a infecciones bacterianas (meningitis bacterianas), a infecciones por virus, parásitos o también por otros agentes no infecciosos. Clásicamente, se habla de meningitis asépticas cuando no se identifica un agente bacteriano.

Dentro de las meningitis bacterianas, en los neonatos (niños menores de 1 mes) la principal causa es la infección por *Streptococcus agalactiae*, seguido de *Listeria monocytogenes* y *Escherichia coli*. En niños entre 1 y 3 meses el *S. agalactiae* sigue siendo el patógeno más frecuente, aunque empiezan a aparecer infecciones por *Streptococcus pneumoniae* y *Neisseria meningitidis*. Estos dos últimos patógenos pasan a ser los más frecuentes en niños mayores de 3 meses.

Existen algunos factores que pueden favorecer la aparición de otros patógenos bacterianos. Entre ellos la patología neuroquirúrgica, que favorece

la aparición de infecciones por *Staphylococcus aureus*, bacilos gram-negativos y *Pseudomonas aeruginosa*, y las inmunodeficiencias, en las que suelen aparecer infecciones por *S. pneumoniae* y *N. meningitidis*, pero que también pueden favorecer la infección por *Haemophilus influenzae* y *Listeria monocytogenes* (Tabla 1).

Otras causas poco frecuentes de meningitis bacteriana son las infecciones por *Bartonella* o *Mycoplasma*. Las encefalitis bacterianas no son muy comunes, pero pueden ser producidas por *Treponema*, *Leptospira*, *Brucella*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Listeria*, o *Rickettsia*. Las meningitis también puede ser manifestación de otras infecciones como criptococosis, histoplasmosis, blastomycosis o coccidioidomycosis.

Tabla 1: Causas de meningitis bacteriana.

Edad	
< 1 mes	<i>S. agalactiae</i> , <i>E. coli</i> , <i>L. monocytogenes</i> .
1-3 meses	<i>S. agalactiae</i> , <i>S. pneumoniae</i> , <i>N. meningitidis</i>
> 3 meses	<i>N. meningitidis</i> , <i>S. pneumoniae</i>
Patología de base	
VDVP	<i>S. aureus</i> , <i>S. epidermidis</i> , <i>S. pneumoniae</i> , <i>P. aeruginosa</i> , BGN
Fístulas de LCR, implantes cocleares	<i>S. pneumoniae</i>
Mielomeningocele	<i>S. aureus</i> , <i>S. pneumoniae</i> , BGN
Déficit de linfocitos T,	<i>S. pneumoniae</i> , <i>N. meningitidis</i> , Hib L. monocytogenes, BGN
Transplante	<i>S. pneumoniae</i> , <i>N. meningitidis</i> , Hib, órgano sólido L. monocytogenes BGN
Déficit de inmunoglobulinas, VIH	<i>S. pneumoniae</i> , <i>N. meningitidis</i> , Hib
Déficit de complemento	<i>S. pneumoniae</i> , <i>N. meningitidis</i>
Asplenia	<i>S. pneumoniae</i> , <i>N. meningitidis</i> , <i>Salmonella</i> sp

VDVP: Válvula de derivación ventrículo-peritoneal Hib: *Haemophilus influenzae* tipo B. LCR: líquido cefalorraquídeo.

BGN: Bacilos gramnegativos.

La mayoría de las meningitis asépticas y las encefalitis están causadas por virus, considerándose a los enterovirus (EV) como los principales patógenos causantes de meningitis en todo el mundo³.

Los parechovirus humanos, a pesar de que algunos de ellos fueron descritos en 1945, han empezado a cobrar importancia en los últimos años, identificándose como responsables de meningitis víricas y de sepsis especialmente en lactantes pequeños y neonatos^{4,5} y su estudio va a constituir el objetivo principal de esta tesis doctoral como se verá a continuación.

Otros virus importantes en patología neurológica son los herpesvirus humanos, por su frecuencia y gravedad. Entre ellos, los virus herpes simple tipo 1 y 2 (VHS-1 y VHS-2), los virus herpes tipos 6 y 8 (VHH-6, VHH-8) y el Virus Epstein-Barr (VEB). Aunque también pueden ocasionar meningitis víricas, el cuadro más frecuente es el de encefalitis o meningoencefalitis. Son menos prevalentes que los EV pero su reconocimiento y tratamiento es de vital importancia, porque ocasionan cuadros graves que sin tratamiento tienen un pronóstico ominoso. Otros virus que pueden producir encefalitis en menor frecuencia son el de la parotiditis, de la rubéola, el virus respiratorio sincitial (VRS), parainfluenza, influenza, adenovirus (ADV), hepatitis A y B, virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) y virus de la rabia⁶⁻⁸.

Aunque España no es endémica para la mayoría de los virus transmitidos por artrópodos y roedores (arbovirus), muchos de ellos causan meningitis y encefalitis en otras regiones del mundo (virus de la encefalitis de St. Louis, encefalitis japonesa, virus chikungunya, virus Nipah)^{9,10}. Además, algunos de los vectores que utilizan estos virus para su transmisión están presentes en

nuestro territorio, lo que ha provocado que en los últimos años se hayan descrito casos autóctonos para virus West Nile, virus Toscana, y virus de la coriomeningitis linfocítica¹¹. Por lo tanto y, según los antecedentes epidémicos de los pacientes, siempre hay que tenerlos en cuenta en el diagnóstico diferencial de estas patologías.

Clínica

Las manifestaciones clínicas de las meningitis son similares independientemente de la etiología, pero son de mayor intensidad y gravedad cuando la infección es bacteriana. En niños, las meningitis suelen presentarse como un cuadro febril acompañado de náuseas, vómitos, y cefalea, siendo característico en la exploración la presencia de rigidez de nuca y de signos de Kernig (dificultad para estirar las piernas en decúbito supino, con la cadera flexionada) y Brudzisnki (flexión de las piernas al flexionar el cuello en decúbito supino) positivos (Figura 2). En niños con afectación más severa puede acompañarse de letargia e irritabilidad. En lactantes pequeños, así como en neonatos, el cuadro suele ser más inespecífico, con escasa reactividad, distrés respiratorio, rechazo de las tomas e irritabilidad, apreciándose en la exploración física un abombamiento de la fontanela.



Figura 2. Signos de Kernig y Brudzinski. Tomado de www.medlineplus.gov

Como complicación pueden aparecer crisis convulsivas, que pueden ser generalizadas o focales, y que se suelen presentar al inicio del cuadro, siendo en ocasiones la primera manifestación. Cuando se presentan más tardíamente suelen ser manifestación de lesiones focales abscesos, isquemia, etc. En las meningitis por EV, algunos autores establecen la posibilidad de desarrollar secuelas neurocognitivas, pero en general el pronóstico es favorable¹².

En 2013 se publicó el documento de consenso del International Encephalitis Consortium², aplicable tanto a adultos como a niños, donde se establecían los criterios clínicos y analíticos para establecer el diagnóstico de encefalitis de probable origen infeccioso o autoinmune (Tabla 2). La manifestación fundamental es la alteración del estado mental, definido como alteración del nivel de conciencia o cambios de personalidad, y como criterios menores se incluyen la fiebre, alteraciones neurológicas focales, crisis convulsivas, y alteraciones en las pruebas complementarias (LCR, resonancia magnética nuclear (RMN) y electroencefalograma (EEG)). En los casos de afectación del tronco del encéfalo se puede manifestar como alteración del nivel de conciencia, afectación de pares craneales, mioclonías, temblor, ataxia, dificultad respiratoria y coma, y si hay afectación medular puede aparecer debilidad muscular en miembros, disfunción vesical, alteración sensitiva y dolor neuropático^{13,14}.

Tabla 2. Criterios de encefalitis

Criterio mayor (Requerido)
Alteración del estado mental (Definido como disminución o alteración del nivel de conciencia letargia o cambios de la personalidad) que duren más de 24 horas sin identificarse otra causa
Criterios menores (2 para posible encefalitis, ≥3 encefalitis probable o confirmada ^a)
Fiebre documentada ≥38° C en las 72 horas previas o posteriores a la presentación
Crisis epilépticas generalizadas o parciales no completamente atribuibles a un trastorno epiléptico previo
Hallazgos neurológicos focales de instauración reciente
Leucocitos en LCR ≥ 5/mm ³
Anormalidad en el parénquima cerebral en la neuroimagen sugestivo de encefalitis de nueva aparición
Anormalidad en el electroencefalograma consistente con encefalitis y no atribuible a otra causa
^a Encefalitis confirmada requiere uno de los siguientes (1) confirmación de la inflamación del parénquima cerebral mediante anatomía patológica (2) Hallazgos microbiológicos o serológicos compatible con infección aguda por un microorganismo fuertemente asociado con encefalitis en una muestra apropiada (3) Evidencia de laboratorio de una condición autoinmune fuertemente relacionada con encefalitis.

En los recién nacidos, tanto las meningitis como las encefalitis suelen tener unas manifestaciones muy inespecíficas, por lo que es importante tener un alto nivel de sospecha. Los síntomas más frecuentes son fiebre, rechazo del alimento, irritabilidad, convulsiones, letargo o sepsis¹⁵.

Diagnóstico

El diagnóstico de las meningitis y encefalitis se basa en la sospecha clínica, hallazgos de la exploración y resultados de las pruebas complementarias.

La analítica de sangre muestra alteraciones propias de la infección causal, ya sea bacteriana o vírica. En las meningitis bacterianas suele observarse una leucocitosis con neutrofilia y una elevación significativa de los reactantes de fase aguda (RFA) (proteína C reactiva (PtCR), y procalcitonina (PCT)). En las meningitis y encefalitis víricas la leucocitosis es menor, con predominio de linfocitos, y menor elevación RFA.

Ante la sospecha clínica de meningitis es necesaria la realización de una punción lumbar, que nos va a ayudar a orientar la etiología, y posteriormente confirmará el diagnóstico microbiológico mediante la identificación del agente causal por cultivo o mediante detección directa del genoma utilizando técnicas de PCR (reacción en cadena de la polimerasa). La inflamación meníngea producirá una pleocitosis en el LCR con características diferentes según el patógeno. Los valores de normalidad varían según la edad, considerándose en neonatos un punto de corte de 30 células/mm³, mientras que en niños mayores un valor superior a 5 células/mm³ sería considerado patológico. En cuanto a la

celularidad, las meningitis bacterianas se caracterizan por el predominio de neutrófilos, mientras que en las víricas y las tuberculosas hay un aumento de los linfocitos. Desde el punto de vista bioquímico también existen diferencias, existiendo hipoglucorraquia e hiperproteíorraquia en las infecciones bacterianas, mientras que las víricas la glucorraquia es normal y la proteíorraquia presenta un ascenso menos marcado (Tabla 3)^{16,17}.

Tabla 3: Características del LCR

	LCR normal	LCR normal neonatos	Meningitis bacteriana	Meningitis vírica	Meningitis tuberculosa
Células	<5	0-30	>1000	<300	<1000
Tipo células	Mononucleares	>20% PMN PT 40-60%	PMN	MN	MN
Glucosa (mg/dL)	35-100	40-80	Muy baja	Normal.	Baja
Proteínas (mg/dL)	<45	15-100 PT 45-200	Muy altas	normal/altas	Muy altas

LCR: líquido ceforraquídeo PMN: polimorfonucleares MN: mononucleares PT: pretérmino

Se han descrito diversas escalas de valoración de los datos clínicos y analíticos para clasificar una meningitis como bacteriana o vírica. La más empleada en nuestro medio es el Score de Boyer, descrito en 1980 por Thomé y Boyer¹⁵, el cual relaciona dichas variables y da un valor que se correlaciona con el riesgo de tener una meningitis bacteriana (Tabla 4). En el año 1996 Ramos et al.¹⁸ publicaron un score modificado en el cual se añadían la variable de la edad y el valor de la PtCR, aumentando la sensibilidad de la prueba hasta un 99%, con una mínima disminución de la especificidad¹⁹.

Tabla 4. Score de Boyer

	0	1	2
Fiebre	<39,5°C	≥39,5°C	-
Púrpura	No	-	Sí
Complicaciones neurológicas	No	Sí	-
Células en LCR	<1000	1000-4000	>4000
% PMN en LCR			-
Edad > 2 años	<60%	≥60%	
Edad < 2 años	<60%		≥60%
Proteínas LCR	<90	90-140	>140
Glucosa LCR	>35	20-35	<20
Leucocitos en sangre	<15000	≥15000	-

LCR: líquido cefalorraquídeo PMN: polimorfonucleares
Score ≥ 5: antibióticos inmediatamente. Score 3 ó 4: antibióticos inmediatamente o, si el estado general es bueno, observación y repetir punción lumbar en 6-12 horas. Score 1 ó 2: no antibióticos.

El documento de consenso del International Encephalitis Consortium establece un algoritmo diagnóstico para las encefalitis, en el cual se indican las pruebas necesarias tanto para confirmar el diagnóstico clínico como el etiológico². Se recomienda realizar en todos los pacientes una analítica de sangre, punción lumbar, resonancia magnética (al menos en los casos graves), y electroencefalograma, salvo que estén contraindicadas en algún paciente concreto. En caso de que con los estudios básicos no se llegue al diagnóstico etiológico, se recomiendan otros estudios complementarios según las características del paciente y el contexto epidemiológico. Entre estas pruebas complementarias se incluye el análisis de virus neurotrofos en el LCR a todos los niños menores de 3 años.

Tratamiento

El tratamiento de la meningitis depende fundamentalmente de la etiología y de la edad de los pacientes, que condiciona el uso de antibioterapia empírica

en los casos de sospecha de meningitis bacterianas. Además del tratamiento antibiótico, se suelen emplear medidas de soporte, como hidratación y analgesia.

En el caso de meningitis y encefalitis de origen vírico, si existe sospecha de etiología herpética se debe administrar aciclovir, tan pronto como sea posible. Las infecciones por EV normalmente no precisan ningún tratamiento aparte del de soporte (analgésicos, hidratación...), pero en casos esporádicos de encefalitis graves sí se ha utilizado el tratamiento empírico con inmunoglobulina intravenosa (IGIV) o con corticoides a dosis altas^{2,21}. Actualmente se está investigando la aplicación de otros fármacos como el pleconaril un inhibidor de la replicación vírica. En un reciente ensayo clínico en Estados Unidos se observó un mejor pronóstico en neonatos con sepsis que habían recibido pleconaril respecto al grupo placebo²². Además, actualmente se están investigando otros fármacos a nivel de laboratorio, pero sin aplicación todavía en la práctica clínica²³.

1.2 SEPSIS

Definición

Según el documento de consenso de la Sociedad Española de Cuidados Intensivos Pediátricos (SECIP) y la Sociedad española de Urgencias Pediátricas (SEUP), se define la sepsis como un Síndrome de Respuesta Inflamatoria Sistémica (SRIS) en presencia, o como resultado, de una infección sospechada o confirmada ²⁴. El espectro clínico de la sepsis comienza cuando una infección sistémica (bacteriemia, viremia, fungemia) o una infección

localizada (meningitis, neumonía, pielonefritis, etc.) producen una afectación sistémica, y pueden progresar desde una sepsis a sepsis grave, shock séptico y por último a la muerte.

A su vez, el SRIS se define como la presencia de al menos dos de los siguientes cuatro criterios, uno de los cuales debe ser alteración de la temperatura o recuento leucocitario ²⁵:

1. Temperatura corporal central $> 38,5^{\circ}\text{C}$ o $< 36^{\circ}\text{C}$ (rectal, vesical, oral o sonda central)

2. Taquicardia, definida como una elevación >2 desviaciones estándar (DE) de la media para su edad en ausencia de estímulos externos, medicación o estímulo doloroso; o elevación persistente inexplicable durante 0,5-4 horas; o por debajo del año de edad, bradicardia $<$ percentil 10 para su edad en ausencia de estímulo vagal, medicación beta-bloqueante o cardiopatía congénita o disminución de la frecuencia inexplicable durante más de 0,5 horas.

3. Taquipnea: frecuencia respiratoria > 2 DE sobre la media para la edad, o ventilación mecánica para un proceso agudo no relacionado con enfermedad neuromuscular o anestesia general.

4. Recuento leucocitario elevado o disminuido para su edad (no secundario a quimioterapia) o $>10\%$ de neutrófilos inmaduros.

Etiología

Los patógenos implicados en las sepsis son los mismos que pueden producir meningitis y encefalitis. En neonatos las bacterias más frecuentes son

el *Streptococcus* del grupo B y los bacilos gram negativos, y en grupos de mayor edad, la *Neisseria meningitidis* y el *Streptococcus pneumoniae*.

Dentro de los virus, el más importante causante de sepsis, especialmente en neonatos, son los VHS junto con los EV y los HPeV. Otros virus que pueden producir un cuadro de sepsis son los virus respiratorios (VRS, influenza, parainfluenza, adenovirus, y metapneumovirus), el citomegalovirus y el EBV, estos 2 últimos especialmente en pacientes inmunodeprimidos²⁶.

Clínica

Las manifestaciones clínicas de las sepsis van a depender de la edad y estado inmunológico del paciente, del agente causal, y del tiempo de evolución del cuadro.

La fiebre casi siempre está presente en los niños mayores, pero puede no aparecer en lactantes pequeños y neonatos, así como en pacientes inmunodeprimidos. En neonatos los signos pueden ser inespecíficos, manifestándose como hiporexia, distrés respiratorio o hiporreactividad²⁷.

De manera general, el niño séptico se puede presentar postrado, quejoso, hipotónico, obnubilado, irritable o ansioso. Presentará alteraciones en la perfusión periférica y puede que dificultad respiratoria. El signo cardiocirculatorio más precoz suele ser la taquicardia y taquipnea, mientras que la hipotensión normalmente aparece en estadios avanzados de la sepsis²⁵. Puede existir oliguria como signo de hipoperfusión renal.

El exantema con lesiones petequiales y purpúricas es frecuente en la sepsis por *Neisseria meningitidis* pero también puede aparecer con otros

patógenos, y como manifestación de una coagulación intravascular diseminada. Las infecciones por EV y HPeV también pueden asociarse a un exantema característico, no siempre evidente al inicio del cuadro.

Diagnóstico

El diagnóstico de la sepsis se basa en los criterios clínicos y analíticos de SRIS (fiebre, taquicardia, taquipnea y leucocitosis o leucopenia), y la demostración del origen infeccioso. Entre las pruebas complementarias hay que distinguir las que se emplean para confirmar el diagnóstico de sepsis, las que ayudan a localizar y determinar el origen y etiología de la infección, y las que ayudan a valorar la repercusión sistémica, gravedad y pronóstico (Tabla 5)²⁴.

Las pruebas destinadas a apoyar el diagnóstico de sepsis son el hemograma, la PtCR y la PCT.

Las pruebas que ayudan a localizar el origen de la infección son, además del hemograma, la analítica de orina, de LCR y las pruebas de imagen.

Para conocer la etiología de la sepsis son necesarios los cultivos bacterianos, tanto de sangre, como de orina y LCR. Para identificar virus, el procedimiento más usado es la detección de genoma vírico mediante PCR. Para establecer la gravedad del cuadro es necesario realizar un estudio del equilibrio ácido-base, lactato, coagulación, glucosa, ionograma, urea, creatinina, transaminasas, troponina y ecocardiografía.

Tabla 5: Exploraciones complementarias de utilidad en el shock séptico.

OBJETIVO	EXPLORACIONES
Apoyar el diagnóstico clínico de sepsis	Hemograma * Proteína C reactiva * Procalcitonina * Otros marcadores de infección bacteriana
Valorar la repercusión sistémica, la gravedad y el pronóstico	Equilibrio ácido-base * Lactato * Coagulación * Glucosa * Ionograma * Urea * Creatinina * Transaminasas * Troponina Calcio iónico * Ecocardiografía
Establecer el foco origen de la infección	Examen de orina * Examen de LCR Estudios de imagen
Averiguar el agente etiológico (diagnóstico microbiológico)	Hemocultivo * Urocultivo * Cultivo LCR Otros cultivos Técnicas de diagnóstico rápido (PCR)
LCR: líquido cefalorraquídeo * Pruebas indicadas en el abordaje inicial. El resto se realizarán según la etiología infecciosa sospechada o los hallazgos clínicos	

Tratamiento

El tratamiento de la sepsis debe abarcar tanto el de las alteraciones clínicas (distrés respiratorio, hipotensión...) como el de la causa subyacente.

Dentro del abordaje inicial del niño con sepsis, especialmente si se encuentra en estado de shock séptico, debe incluir la corrección de las alteraciones hemodinámicas como la hipotensión, e hipoperfusión periférica, con control de la diuresis, y del estado mental.

El tratamiento inicial debe incluir la administración de fluidos, mediante la administración de líquidos isotónicos (suero salino fisiológico o Ringer Lactato). En los casos en los que se presente hipotensión está indicada la administración de drogas vasoactivas, como dopamina o dobutamina. Se deben corregir

además las alteraciones metabólicas que pudiesen existir, especialmente la hipoglucemia o hipocalcemia. Los estados refractarios o con importante afectación neurológica pueden precisar intubación para ventilación mecánica. Además, en estos casos está indicada la administración de corticoides, e incluso la aplicación de oxigenación a través de membrana extracorpórea (ECMO)²⁸. La administración de IGIV puede ser beneficiosa en adultos con sepsis, pero no ha demostrado reducir la mortalidad en neonatos con sepsis, por lo que todavía se debe considerar como una medicación en fase experimental²⁹.

Desde el punto de vista etiológico, se debe iniciar el tratamiento antibiótico lo antes posible mediante una antibioterapia de amplio espectro que cubra los agentes más frecuentes. Si se sospecha etiología herpética se debe añadir aciclovir.

1.3 Fiebre sin foco

Definición

La fiebre sin foco (FSF) se define como temperatura rectal superior a 38°C con una evolución inferior a 72 horas, de la que no se conoce la causa, tras una historia clínica y un examen físico cuidadoso³⁰.

La fiebre es un motivo de consulta frecuente en pediatría, ocupando, según el estudio publicado por Mintegui et al.³¹, hasta un tercio de las urgencias en niños menores de 14 años. Aunque la mayoría de los cuadros son de etiología viral y de poca gravedad, es importante detectar a los pacientes que

pueden estar sufriendo una bacteriemia oculta, ya que son susceptibles de presentar infecciones graves.

Etiología

La principal causa de FSF en niños son las infecciones por virus, especialmente por virus respiratorios (VRS, rinovirus (RV), influenza, parainfluenza, adenovirus (ADV)), EV, y VHH-6. Muy recientemente se ha incluido también los HPeV^{32,33}.

Con el desarrollo de las vacunas frente a *Haemophilus influenzae* y *Streptococcus pneumoniae* ha bajado considerablemente la frecuencia de enfermedad invasiva por estas bacterias, disminuyendo así mismo la prevalencia de bacteriemia oculta en niños febriles con buen estado general, del 5 al 1%³⁴⁻³⁶.

Otra causa recuente de FSF es la infección del tracto urinario, especialmente en menores de 2 años. El diagnóstico en este caso se haría con una analítica de orina, y tras obtenerse los resultados se seguirían los protocolos de dicha infección, por lo que no se comentará más a lo largo de esta tesis.

En el manejo de la FSF, se suelen realizar planteamientos diferentes según la edad. Las mayores diferencias se establecen para los niños menores de 3 meses y por encima de 3 meses, debido al diferente grado de desarrollo del sistema inmunológico y a la distinta etiología presentada generalmente. Se estima que la prevalencia de infección bacteriana en lactantes menores de 3 meses es del 2-3%, llegando incluso al 12,5% en niños menores de 28 días.

En el periodo neonatal, las bacterias que producen infección con más frecuencia son el estreptococo del grupo B, los bacilos gram-negativos, y con menos frecuencia la *Listeria monocytogenes*, *S. pneumoniae* y enterococos. En niños de mayor edad va cobrando mayor importancia el *S. pneumoniae* y la *N. meningitidis*.

Clínica

Por definición, los niños con FSF no tienen ninguna manifestación aparte de la fiebre. Una hiperemia faríngea o timpánica aislada y una rinorrea acuosa no se consideran suficientes para determinar la existencia de un foco.

Para tratar de graduar la gravedad de los pacientes se han diseñado varias escalas, como la escala YIOS para lactantes pequeños (Tabla 6), o la escala YALE para niños entre 3 y 36 meses (Tabla 7)³⁷.

Tabla 6. Escala de observación para los lactantes pequeños (YIOS)

Parámetro clínico	1 punto Normal	2 puntos Alteración moderada	3 puntos Afectación grave
Perfusión periférica	Sonrosado Extremidades calientes	Extremidades frías, moteadas	Pálido, shock
Estado/esfuerzo respiratorio	No deterioro/vigoroso	Compromiso respiratorio leve-moderado (taquipnea >60 rpm), retracciones o quejoso	Dificultad respiratoria grave, esfuerzo respiratorio inadecuado, apnea, fallo respiratorio
Respuesta social	Sonríe o no irritable	Irritable, consolable	Irritable, inconsolable

Puntuación $\leq 7 \Rightarrow$ Sensibilidad: 76%, especificidad: 75%, valor predictivo negativo: 96% 96% para detectar IBG.

Tabla 7. Escala de Yale

Parámetro clínico	1 punto Normal	2 puntos Alteración moderada	3 puntos Afectación grave
Coloración	Sonrosada	Palidez de extremidades o acrocianosis	Palidez o cianosis o color grisáceo
Respuesta social	Sonríe o está alerta	Sonríe brevemente o está alerta brevemente	No sonríe o facies ansiosa, inexpresiva o no está alerta
Reacción al estímulo de los padres	Llora brevemente y se calma o está contento	Llanto intermitente	Llanto continuo o responde con dificultad
Calidad del llanto	Fuerte con tono normal, o contento y sin llorar	Lloriqueando o sollozando	Débil o con tono alto
Hidratación	Piel y ojos normales y mucosas húmedas	Piel y ojos normales y boca ligeramente seca	Piel pastosa con pliegue y mucosas secas y/u ojos hundidos
Nivel de conciencia	Si está despierto, permanece despierto. Si está dormido al estimularlo se despierta fácilmente	Cierra los ojos brevemente o se despierta con estimulación prolongada	Tendencia al sueño, no se despierta

Puntuación ≤ 10 → Bajo riesgo de IBG; 11-16 → Riesgo intermedio de IBG; ≥ 16 → Alto riesgo de IBG

Diagnóstico

El abordaje del lactante con FSF es controvertido, no existiendo guías unificadas sobre las indicaciones de pruebas complementarias para el diagnóstico etiológico.

Se han elaborado diferentes escalas de riesgo de infección bacteriana invasiva, siendo una de las más empleadas, la escala de Rochester³⁸, que combina datos de la historia clínica, exploración física y analítica y que se aplica en los lactantes menores de 3 meses. Los criterios catalogan a los niños de bajo riesgo de padecer una enfermedad bacteriana, lo cual ayuda a tomar una decisión en cuanto al tratamiento (tabla 8). Existen además otros criterios

como los criterios de Boston y de Philadelphia^{39,40}, con similar sensibilidad y especificidad que los de Rochester, o el Lab-score, que utiliza únicamente datos de laboratorio, pudiéndose aplicar este último a niños hasta los 36 meses⁴¹.

En 2016 un grupo europeo de pediatras validó un sistema denominado “step-by-step” de abordaje del niño con fiebre, que mejora los valores de sensibilidad y especificidad de los criterios de Rochester (Tabla 8)³⁰.

Tabla 8. Criterios de Rochester

-
- Buen estado general
 - Ausencia de enfermedad previa
 - Edad gestacional mayor de 37 semanas
 - No recibió antibióticos perinatalmente
 - No fue tratado por hiperbilirrubinemia de causa desconocida
 - No está recibiendo actualmente antibióticos
 - No ha sido hospitalizado previamente
 - No padece una enfermedad crónica
 - No permaneció hospitalizado tras el nacimiento más tiempo que su madre
 - No evidencia de infección focal (piel, tejido subcutáneo, hueso, articulaciones u oídos)
 - Valores de laboratorio:
 - Leucocitos en sangre periférica: 5000-15 000/mm³
 - Cayados en sangre periférica: < 1500/mm³
 - Sedimento urinario: menos de 10 leucocitos por campo
 - Razón cayados/neutrófilos totales <0,2
-

Una de las mayores dificultades en el manejo del niño con FSF es decidir qué pruebas son necesarias. En general, la mayoría de las guías recomiendan una valoración completa en todos los neonatos con fiebre, incluyendo analítica de sangre, de orina y punción lumbar⁴², mientras que en los niños mayores de 30 días puede ser suficiente con la realización de las dos primeras pruebas⁴³. Otras guías como la NICE del Reino Unido sí recomiendan la punción lumbar en lactantes entre 1 y 3 meses en el caso de existir alteración en el recuento

leucocitario (menos de 5000/mL o más de 15000/mL)⁴⁴, mientras que otros siguen recomendando la realización de punción lumbar en lactantes entre 1 y 2 meses, ya que en estos pacientes ni la exploración ni la analítica de sangre son suficientemente fiables para descartar meningitis⁴⁵. No obstante, se recomienda individualizar el abordaje de estos pacientes, siendo la impresión clínica muy importante para la orientación diagnóstica.

Tratamiento

El tratamiento del niño con FSF depende de la edad del paciente y de la existencia o no de indicadores de infección bacteriana. Además de la observación y las medidas de soporte como los antitérmicos o la hidratación, la piedra angular del tratamiento es la decisión de iniciar o no antibioterapia sistémica en función de todo lo anteriormente mencionado. Es igualmente importante decidir si el lactante puede realizar el seguimiento y la observación de manera ambulatoria o si debe ser hospitalizado^{34,39,42,44,46}.

Es habitual la utilización de algoritmos de decisión que incluyan hallazgos clínicos y analíticos que permitan asistir al facultativo en estas decisiones. En general se recomienda el ingreso y tratamiento antibiótico de todos los pacientes menores de un mes, así como los que no cumplan criterios de bajo riesgo de infección bacteriana invasiva^{3,40}. Algunos autores se han planteado aumentar la edad de ingreso a los menores de dos o tres meses^{47,48}, aunque actualmente no existen suficientes evidencias que apoyen el cambio del punto de corte⁴⁹ (Figura 3).

**INFECCIONES PEDIÁTRICAS POR PARECHOVIRUS.
ESTUDIO PROSPECTIVO Y MULTICÉNTRICO DE ÁMBITO NACIONAL.
COMPARACIÓN CON INFECCIONES POR ENTEROVIRUS**

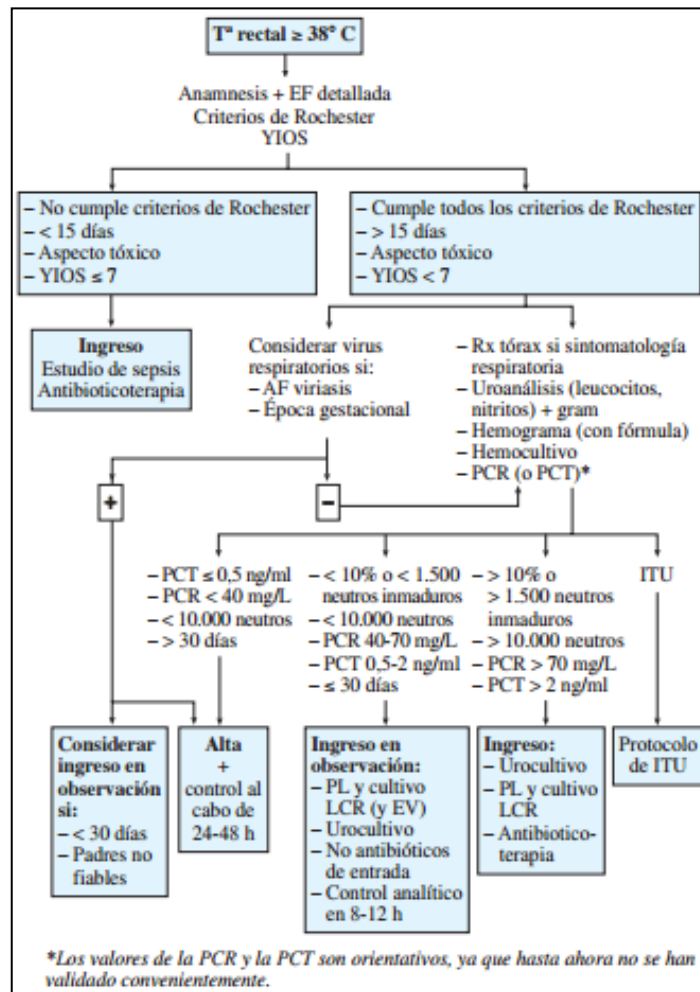


Figura 3. Ejemplo de árbol de decisión para lactantes menores de 3 meses. Tomado de Protocolos diagnóstico-terapéuticos de la AEP: Infectología pediátrica. Fiebre sin foco.

Los algoritmos para mayores de 3 meses permiten un manejo más conservador, con menos indicaciones de ingreso y de antibioterapia que en los menores de 3 meses (Figura 4).

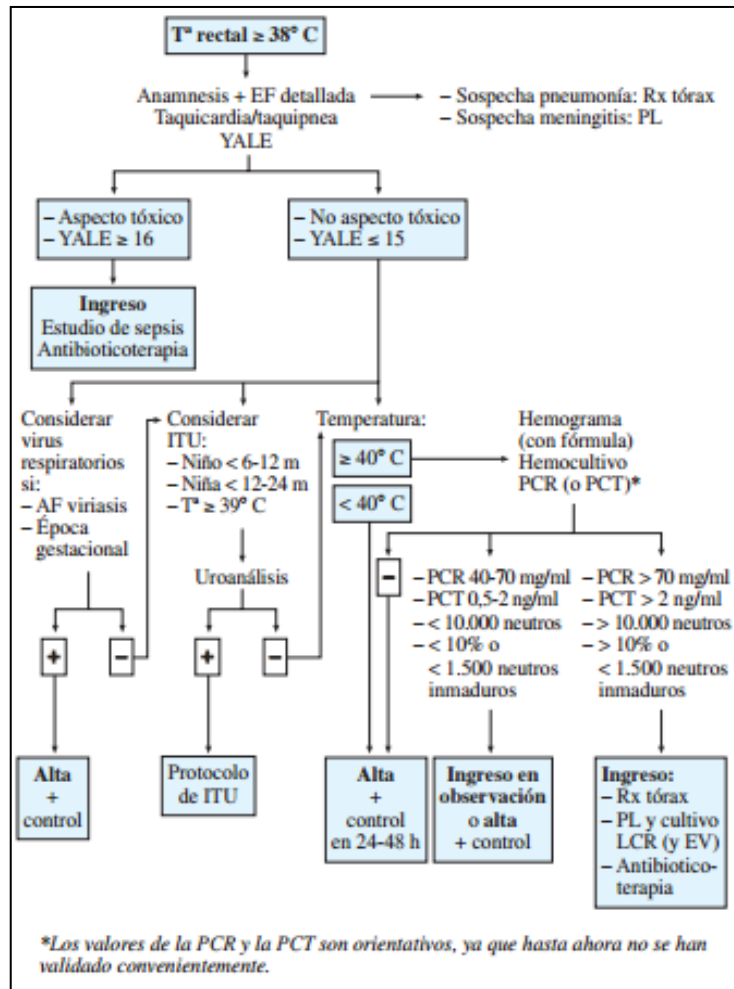


Figura 4: Árbol de decisión para lactantes de 3 meses a 3 años. Tomado de Protocolos diagnóstico-terapéuticos de la AEP: Infectología pediátrica. Fiebre sin foco.

2. PICORNAVIRUS

La familia *Picornaviridae* pertenece al orden de los *Picornavirales*, que incluye además a las familias *Dicistroviridae*, *Flaviridae*, *Marnaviridae* y *Secoviridae*^{5,51}. Es una amplia y muy variada familia de virus que actualmente comprende 80 especies agrupadas en 35 géneros (Figura 5)⁵².

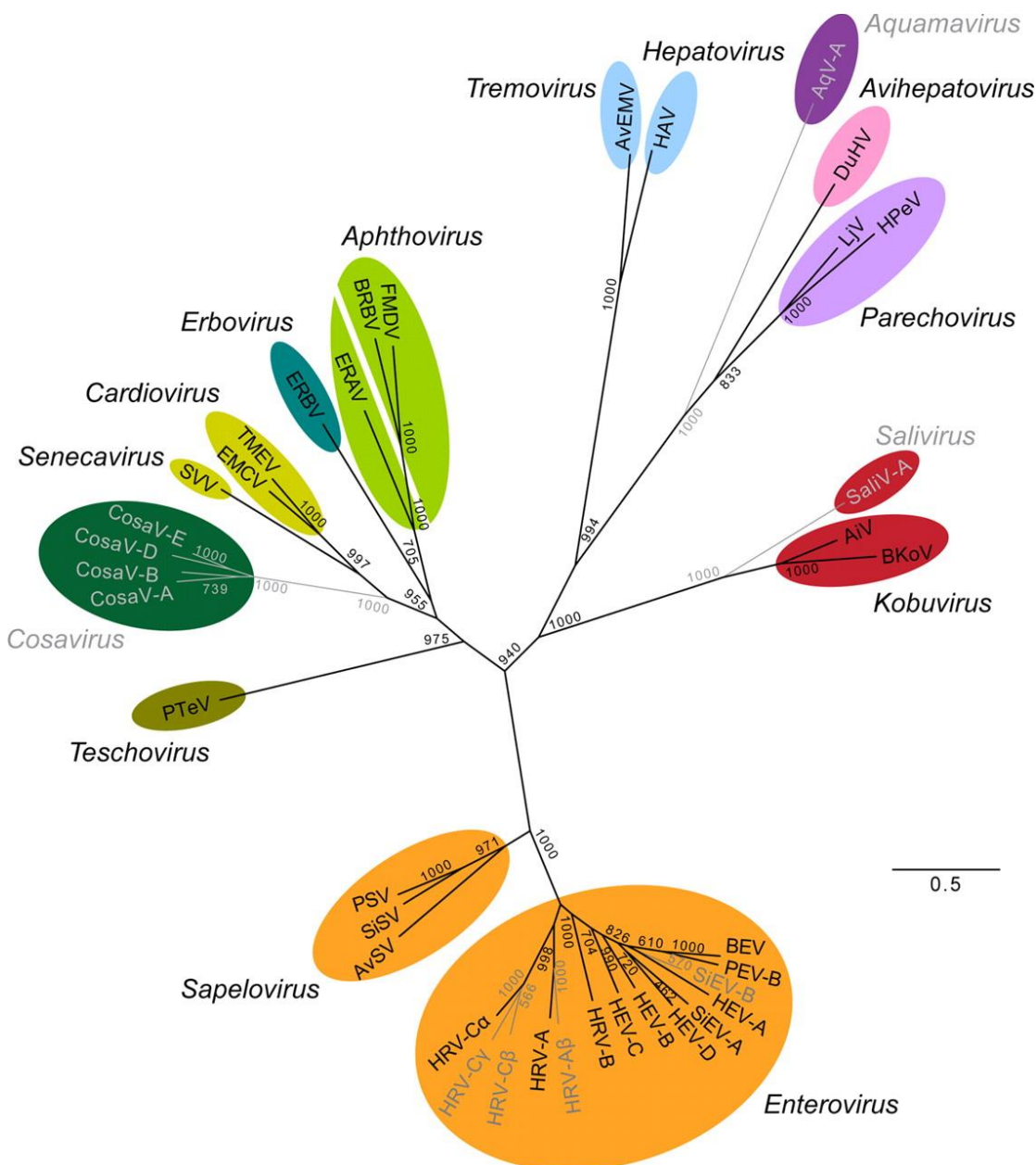


Figura 5. Árbol filogenético de la familia *Picornaviridae*, con 15 de los 35 géneros que la forman, incluidos los que contiene virus que infectan humanos

Pueden infectar tanto a mamíferos como a aves, peces y anfibios. Sólo 8 géneros contienen virus que afectan a humanos (Tabla 9).

Los diversos picornavirus tienen diferentes receptores celulares, lo cual determina el tropismo tisular. Las manifestaciones clínicas son muy variadas, dependiendo del género, de la especie de virus, pero también del hospedador y del tipo de células que infecten.

Tabla 9. Géneros de la familia *Picornaviridae* con virus que infectan humanos

Género	Especies
<i>Cardiovirus</i>	<i>Cardiovirus A y B</i>
<i>Cosavirus</i>	<i>Cosavirus A</i> "Cosavirus B, D, E y F"
<i>Enterovirus</i>	<i>Enterovirus A, B, C y D</i> <i>Rhinovirus A, B y C</i>
<i>Hepatovirus</i>	<i>Hepatovirus A</i>
<i>Kobuvirus</i>	<i>Aichivirus A</i>
<i>Parechovirus</i>	<i>Parechovirus A</i>
<i>Rosavirus</i>	<i>Rosavirus A</i>
<i>Salivirus</i>	<i>Salivirus A</i>

2.1 Enterovirus

Historia y clasificación taxonómica

La poliomielitis es una de las enfermedades más antiguas que se conocen, pero la primera descripción de dicha enfermedad fue realizada en el año 1789 por el físico inglés Michel Underwood. Posteriormente varias publicaciones contribuyeron a describir el cuadro clínico, y en 1908 se identificó un virus (poliovirus) como el agente causal de la poliomielitis⁵³. Años más tarde fueron apareciendo otros virus entéricos de características similares a los

poliovirus que se denominaron “Enterovirus”. En 1948 se identificó en la ciudad de Coxsackie (USA), durante una epidemia de poliomiélitis, un virus que era antigénicamente diferente de los poliovirus, y que se llamó virus coxsackie (CV). Poco después se detectó un nuevo virus, coxsackie B (CV-B), mientras que los primeros pasaron a denominarse coxsackie A (CV-A). Otros EV identificados a partir de 1951 y antigénicamente diferentes fueron denominados virus echo (E) (siglas de Enteric Cytopathogenic Human Orphan). A partir de 1979, todos los enterovirus identificados son designados como enterovirus (EV) con una numeración correlativa.

Esta clasificación, basada en las características antigénicas y clínicas se mantuvo hasta el desarrollo de las técnicas moleculares en los años 90’s. La clasificación actual se basa en la organización del genoma, homología de la secuencia genómica y propiedades biológicas. El International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV) y el Picornaviridae Study Group divide el género *Enterovirus* en 12 especies (EV A-J y Rinovirus (RV) A-C)^{5,52}. En los EV-A, B, C y D (y en RV A-C) se encuentran los serotipos que infectan los humanos mientras que en el resto se agrupan sólo los detectados en animales (E y F en ganado, G en cerdos y H y J en monos). EV-A contiene 25 serotipos; EV-B, 63 serotipos; EV-C, 23 serotipos (incluidos los poliovirus) y EV-D, 5 serotipos (Figura 6).

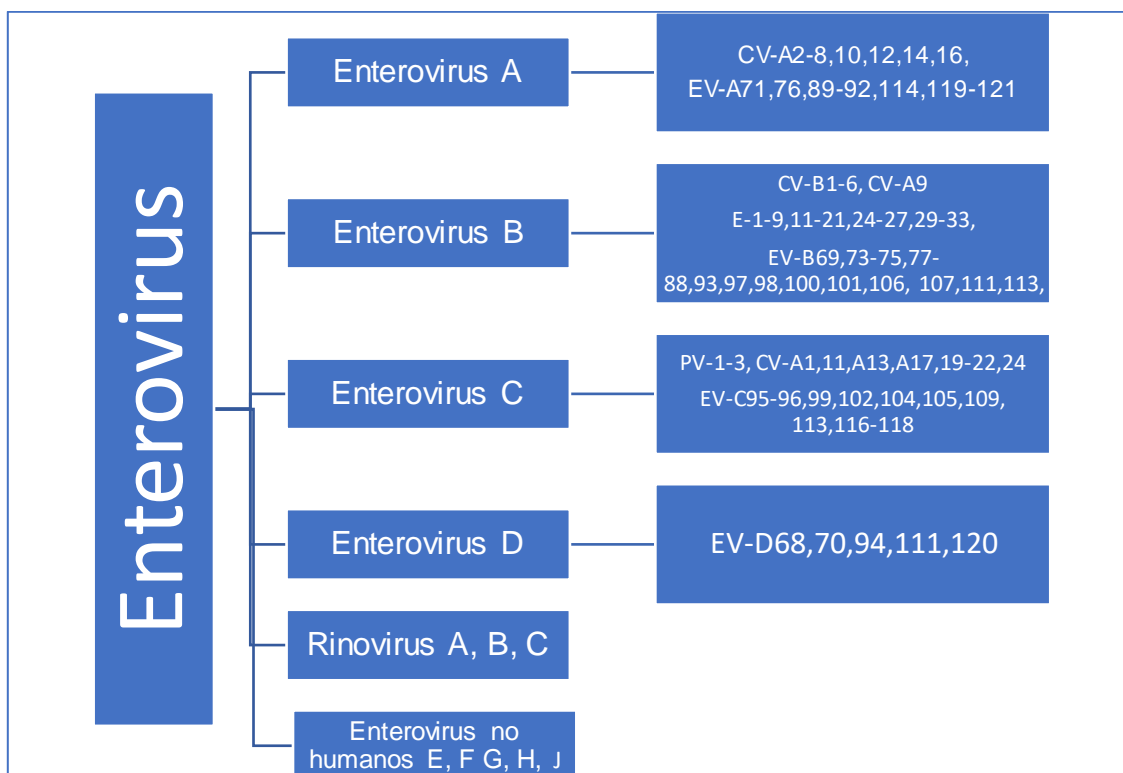


Figura 6: Clasificación actual del género *Enterovirus* ^{5.52}

EV: Enterovirus. CV: coxsackievirus PV: poliovirus

Existen más de 100 serotipos distintos de EV que pueden infectar humanos y, en general, no existe una asociación directa entre serotipo y patología clínica, pero históricamente, los EV de la especie B (que incluye todos los echovirus y los coxsackievirus B) son los más frecuentemente detectados en las meningitis de origen vírico⁵⁴. Los EV son también detectados con frecuencia en las encefalitis, y actualmente, el enterovirus A71 (EV-A71) se considera uno de los principales virus neuropatológico causantes de encefalitis.

Estructura vírica y ciclo replicativo

Los EV, como el resto de picornavirus, son virus pequeños (30nm) sin envuelta, cuyo genoma es un ARN de cadena sencilla y polaridad positiva, incluido en una cápside icosaédrica compuesta por 60 subunidades idénticas

que contienen 5 protómeros. Cada protómero está compuesto por 4 proteínas denominadas VP1, VP2, VP3 y VP4 (Figura 7).

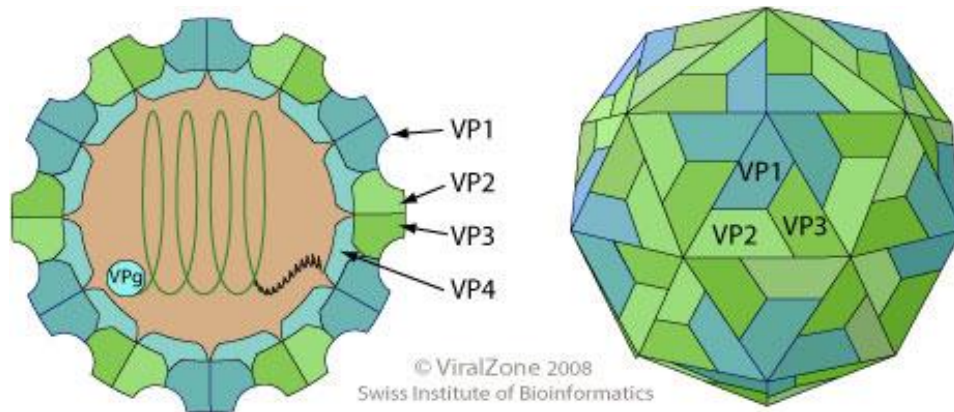


Figura 7. Estructura de la partícula vírica de los EV. Tomado de <http://viralzone.expasy.org/>

El ARN genómico tiene un tamaño de entre 7209 y 8450 nucleótidos de longitud y está dividido en tres regiones: la región 5' región no traducida (NCR), un marco de lectura abierta (ORF) y la 3' NCR. La ORF codifica una única poliproteína de aproximadamente 2200 aminoácidos. El genoma contiene regiones con actividad proteolítica específica que procesan dicha poliproteína dando lugar a 3 proteínas precursoras de donde van a resultar todas las proteínas víricas, incluidas las que forman la nucleocápside (estructurales) y la ARN polimerasa vírica encargada de la replicación del genoma⁵⁵. Las proteínas de la nucleocápside VP1 y VP3 contienen sitios fundamentales para la fijación de los anticuerpos neutralizantes y para la unión al receptor celular, mientras que la proteína VP4 es interna y se asocia al ARN genómico en la partícula vírica. (Figura 8).

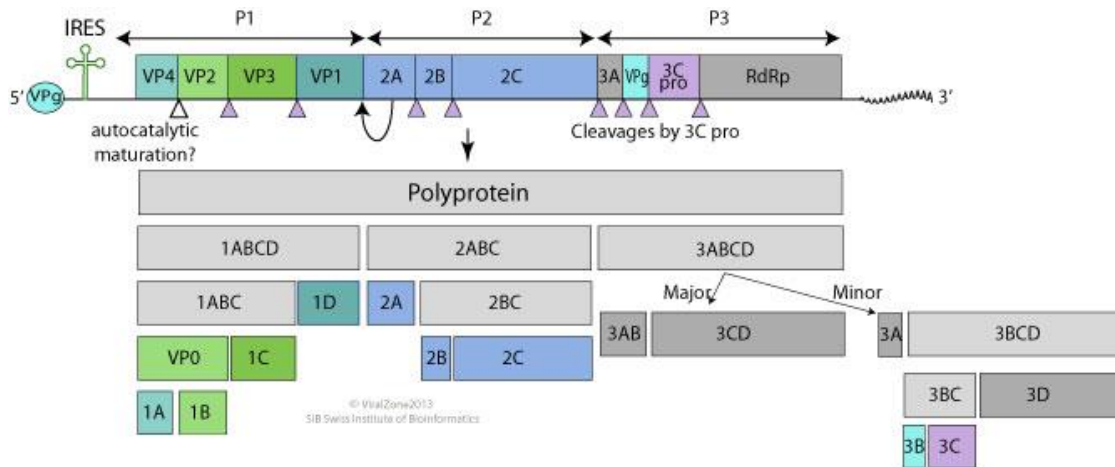


Figura 8. Organización del genoma de los EV y procesamiento de la poliproteína por parte de las proteasas víricas para dar las diferentes proteínas que forman el virus. Tomado de <http://viralzone.expasy.org/>

Tras la unión al receptor celular del virión, se producen cambios en la estructura de la cápside que facilitan la entrada del ARN genómico. En el citoplasma, éste se traduce a la poliproteína utilizando la maquinaria celular. Al mismo tiempo, tiene lugar la replicación, dando nuevos ARN genómicos que se incorporarán a las partículas víricas recién formadas. Los picornavirus son citopáticos, produciéndose la lisis celular a las 8 horas de la infección, con la liberación de los nuevos viriones (Figura 9)⁵⁶.

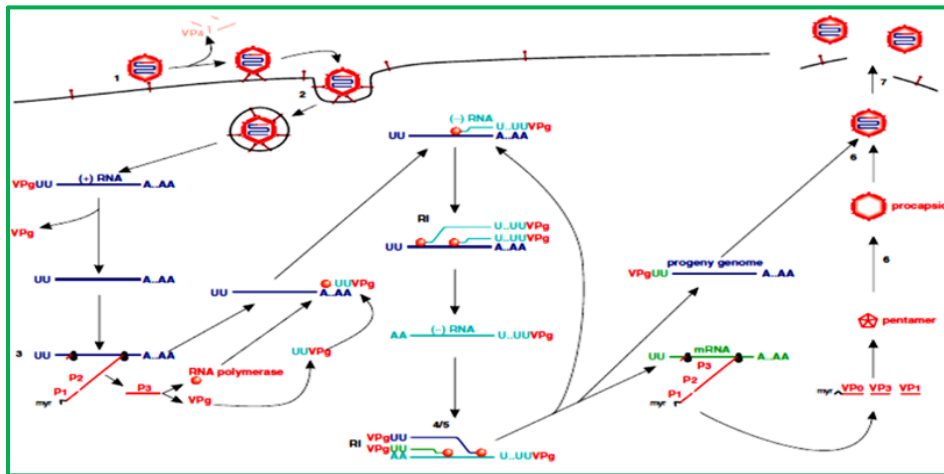


Figura 9. Ciclo replicativo de los EV. El virus se une a la superficie de célula huésped a través de su receptor y entra por endocitosis. La acidificación del endosoma genera cambios conformacionales en el virión, la fusión de la membrana viral con la célula y el desensamblaje de la partícula viral. El ARN es liberado en el citoplasma y es traducido en una sola poliproteína que es procesada por las proteasas virales para dar lugar a las distintas proteínas virales. El ensamblaje de las proteínas estructurales y el ARN sintetizado por la ARN polimerasa se realiza en la superficie de retículo endoplásmico. El resultado es una partícula no infecciosa la cual es transportada al aparato de Golgi, donde es procesada para dar lugar a una partícula madura e infecciosa. Los virus maduros son liberados por exocitosis. Adaptado de Carter y Saunders, 2007⁵⁷.

Como otros virus sin envuelta, los EV son bastante estables fuera del hospedador. Son resistentes al éter, cloroformo y alcohol, y sólo se inactivan con fenol, formaldehído o por irradiación. Además, aguantan temperaturas por encima de los 50°C.

Patogenia

Las infecciones por EV se transmiten fundamentalmente vía fecal-oral, aunque en algunos casos se pueden producir vía respiratoria (ej. el EV-D68), y

por contacto con otras secreciones (ej. el EV-70 o el CV-A24, que producen conjuntivitis hemorrágica aguda, se contagian por contacto con las secreciones oculares). También se ha descrito que los EV se pueden transmitir a través de la leche materna o de aguas contaminadas⁵⁸. Una vez que entran en el hospedador vía oral, tiene lugar una primo-infección en la mucosa orofaríngea y en el tejido linfóide de las amígdalas. Posteriormente pasa al tracto gastrointestinal, donde se replica, no sólo en los enterocitos sino que, frecuentemente, también en el tejido linfóide (placas de Peyer). En la mayoría de las infecciones los virus se eliminan por las heces sin causar sintomatología. Sin embargo, en un pequeño porcentaje, los EV pueden pasar desde el tejido linfóide y a través de la sangre, al sistema reticuloendotelial y/o muscular produciendo una primera viremia. A partir de aquí, los virus alcanzan los órganos diana como el SNC (meninges, cerebro o neuronas motoras de la médula espinal), los músculos o la piel¹. El inicio de la enfermedad sintomática coincide con esta segunda replicación, incluyendo tanto manifestaciones generales (fiebre, malestar general...) como órgano-específicas (parálisis, meningitis, encefalitis, miocarditis, herpangina,...)⁵⁹ (Figura 10). Los EV son virus citopáticos y por tanto, en la mayoría de los casos, la patología que causan es consecuencia de la destrucción de las células que infectan, aunque otras veces, la sintomatología tiene relación con la respuesta inmunológica (ej. los exantemas o las miocarditis). Las partículas víricas se pueden detectar en las heces (y en la orofaríngea) durante varias semanas después de la infección inicial, siendo mayor el periodo de excreción cuando la vía de entrada es gastrointestinal que cuando es por vía respiratoria.

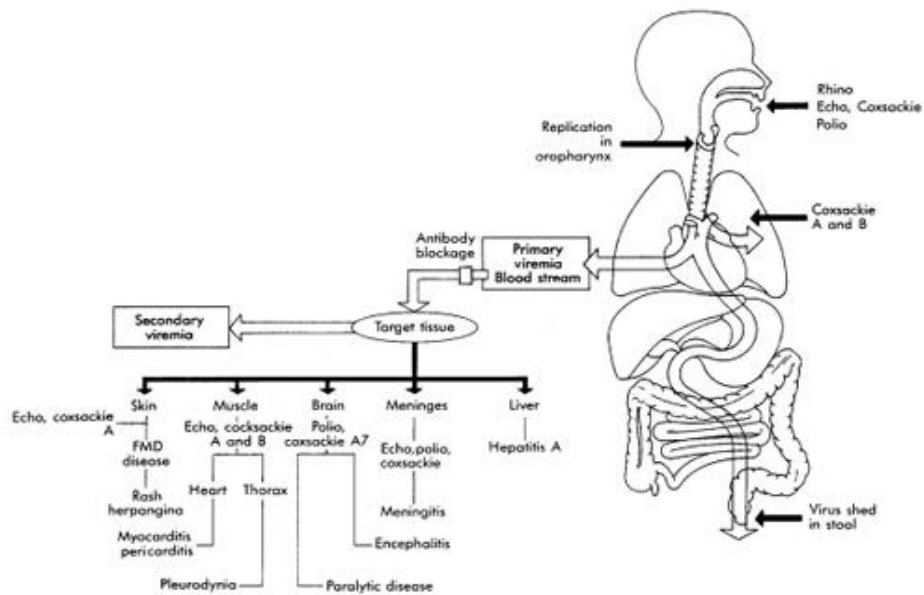


Figura 10. patogénesis de las infecciones por EV⁶⁰

Epidemiología

Las infecciones por EV pueden producirse a cualquier edad, siendo más frecuentes en niños menores de 15 años, con predominio en varones dentro de este grupo de edad. Ocurren durante todo el año, pero en los países templados presentan estacionalidad, con una mayor incidencia en los meses de primavera-verano y/o otoño⁶¹.

Algunos EV tiene un patrón endémico, pudiendo aislarse de manera constante todos los años aunque con diferente incidencia (por ejemplo, CV-B3 o CV-A9), mientras que otros presentan un patrón epidémico (E-9, E-13, E-30)⁶²⁻⁶⁴, con brotes tras 3-5 años de muy baja o ninguna actividad⁶⁵.

La incidencia exacta de las infecciones por EV es desconocida aunque el CDC estima que en EEUU los EV infectan a 50 millones de personas anualmente (causando de 30.000 a 50.000 hospitalizaciones)⁶⁶ y posiblemente un billón o más en todo el mundo. En un estudio realizado en Holanda por Verboon et al., encontraron una incidencia de 26 casos de infección por EV por cada 100.000 recién nacidos (menores de 30 días)⁶⁷. En otro estudio realizado en Noruega se pudo comprobar que hasta el 40% de los niños de 1 año, y el 90% a los 2 años habían pasado una infección por EV⁶⁸.

Sí que existen datos de incidencia en el caso de las infecciones por PV, por ser la poliomielitis una enfermedad de declaración obligatoria en todo el mundo. Cuando en 1988 comenzó el Plan Global de Erradicación de la Poliomielitis (GPEI, en sus siglas en inglés), se estimaba que había 125 países endémicos para PV, con más de 350.000 casos declarados. Actualmente, 3 países se consideran endémicos, Nigeria, Afganistán y Pakistán, con sólo 37 casos notificados en 2016⁶⁹.

Patología clínica

Como ya se ha mencionado, la patología que causan los EV depende del tejido que infecten. Pueden producir desde una fiebre inespecífica, cuadros respiratorios, conjuntivitis hemorrágica aguda (CHA), exantemas, herpangina, la enfermedad mano-pie-boca (EMPB), hasta enfermedades neurológicas, incluyendo meningitis, encefalitis y parálisis flácida aguda (PFA), miocarditis o pericarditis, infección crónica o diseminada en pacientes inmunocomprometidos y sepsis neonatal⁷⁰. También se ha descrito una asociación entre la infección

por EV y el desarrollo de diabetes⁷¹. En general, no hay una relación directa entre clínica y serotipo; el mismo serotipo puede producir diferentes síndromes y una misma sintomatología puede estar causada por distintos serotipos de EV. Sin embargo, sí que algunos serotipos se detectan con mayor frecuencia que otros en patologías específicas.

Los PV (tipos 1, 2 y 3) son los virus más conocidos y estudiados a lo largo de la historia, sirviendo así como guía para el estudio de todos los demás tipos de EV. Aun así, todavía no se conocen con exactitud los mecanismos patogénicos por los cuales llegan e infectan los diferentes órganos, incluido el SNC. Tras el periodo de incubación de 7-14 días, la infección por PV puede ser asintomática (90-95% de los casos), infección abortiva o menor (4-8%), poliomielitis no paralítica (1-2%), o poliomielitis paralítica (<1% de los casos). Actualmente el riesgo de sufrir una infección por PV en los países desarrollados es muy bajo debido a que las coberturas vacunales superan el 95% en la mayoría de ellos⁷².

Ya se ha mencionado que los EV son los principales causantes de meningitis asépticas o meningitis de origen vírico. Se estima que hasta el 90% de las meningitis en la infancia son producidas por estos virus. Aunque casi cualquier EV puede producir meningitis, los serotipos de la especie B (EV-B) son los que con más frecuencia se detectan en el LCR de los pacientes con esta patología.

Las encefalitis por EV son menos frecuentes que las meningitis, y sus manifestaciones clínicas son similares a las de otras encefalitis víricas, pudiéndose presentar como encefalitis aislada, como meningoencefalitis, o

como encefalomiелitis aguda diseminada. La evolución es generalmente benigna, y el diagnóstico se hace fundamentalmente por la clínica, con el apoyo de los hallazgos neurorradiológicos, y se confirma con la detección virológica.

Los EV también producen herpangina, la EMPB y exantemas atípicos. Los EV de la especie A (EV-A), especialmente CV-A16, CV-A6, CV-A10 y también el EV-A71, son los que se identifican con mayor frecuencia en este tipo de patologías aunque se han descrito casos asociados a otros EV⁷³⁻⁷⁵. La herpangina afecta fundamentalmente a niños entre 3 y 10 años, produciendo un cuadro clínico consistente en fiebre elevada, odinofagia, cefalea y vómitos ocasionales, acompañado de pequeñas vesículas en el paladar blando, pilares anteriores y úvula. La duración del cuadro es entre 5 y 8 días. El diagnóstico es clínico y el tratamiento sintomático⁷⁶. La EMPB se manifiesta como un exantema formado por escasas vesículas sobre base eritematosa que se localizan fundamentalmente en las palmas de las manos y las plantas de los pies, aunque a veces se pueden extender hasta rodillas y codos. Las vesículas desaparecen en unos pocos días sin formar costra ni dejar cicatriz. Se transmite por vía oral, y afecta principalmente a niños menores de 10 años. En general tiene un pronóstico benigno, resolviéndose en pocos días sin secuelas⁷⁷.

Los CV-B son responsables del 25-40% de las miocarditis y pericarditis especialmente el CV-B3⁷⁸. Su incidencia es mayor en adolescentes y adultos jóvenes del sexo masculino, pero también pueden afectar a neonatos, produciendo entonces un cuadro febril seguido de fallo cardiaco agudo⁷⁹. En

niños mayores se manifiesta como un cuadro febril con afectación leve o moderada del estado general, taquicardia, disnea, cianosis, dolor precordial y asociación ocasional con pericarditis o pleurodinia. La intensidad del cuadro es variable, pudiendo ser desde asintomática hasta producir cuadros de extrema gravedad, especialmente en lactantes y recién nacidos. En las pruebas complementarias se puede observar una alteración electrocardiográfica derivada de la lesión miocárdica o pericárdica, siendo necesaria la realización de cultivo para confirmar la etiología⁸⁰.

Enterovirus emergentes

Como consecuencia de la variabilidad en el patrón de circulación, algunos serotipos de EV se les considera “emergentes”, porque se asocian a la aparición de nuevas o específicas enfermedades o porque causan grandes brotes epidémicos de importancia en salud pública. Por ejemplo, la CHA es una enfermedad que se describió por primera vez en los años 70's asociada a la emergencia de EV-D70 y una variante de CV-A24⁸¹. Por otro lado, aunque la EMPB suele cursar de forma benigna, en los últimos 15 años en la mayoría de los países del sureste asiático y Pacífico (Taiwan, Australia, Corea, China, Camboya) se producen grandes epidemias, afectando a un gran número de individuos y con una importante incidencia de casos con complicaciones pulmonares y neurológicas, a veces muy graves e incluso mortales, que afectan principalmente a niños menores de 5 años^{73,82}. La mayoría de las complicaciones están asociadas a la infección por EV-A71 y no a otros serotipos EV-A.

Otro EV considerado emergente actualmente es el enterovirus D68 (EV-D68) que ha sido descrito como responsable de brotes de enfermedad respiratoria grave desde el año 2014, con algunos casos en los que los niños desarrollan complicaciones neurológicas en forma de parálisis flácida. El cuadro clínico típico es una mielitis flácida aguda “polio-like”, que suele aparecer tras una infección respiratoria previa. Clínicamente se observa una debilidad y parálisis progresiva con hiporreflexia, con afectación de la segunda motoneurona⁸³.

Diagnóstico microbiológico

Para realizar un correcto diagnóstico microbiológico de las infecciones por EV se debe elegir la muestra más adecuada según la patología que presente el paciente: heces (para infección por PV), exudado faríngeo (para infecciones respiratorias), LCR (para las meningitis y otras infecciones neurológicas), líquido vesicular (para EMPB o herpangina), líquido conjuntival (para CHA), o suero/plasma (para miocarditis o infecciones sistémicas y sepsis neonatales). Como los EV se replican en la orofaringe y son secretados a través de las heces, la detección positiva en estos tipos de muestras no siempre se puede asociar al cuadro clínico presentado, pudiendo representar un estado de portador, aunque en algunas ocasiones puede confirmar un diagnóstico de sospecha si no se dispone de la muestra adecuada.

Clásicamente, para la detección de EV se han utilizado métodos de aislamiento en cultivo celular y posterior serotipado. En los últimos 10 años, sin embargo, se han ido incorporando las técnicas de diagnóstico molecular, lo

cual ha supuesto un aumento de la sensibilidad y especificidad del diagnóstico virológico, permitiendo además identificar nuevos EV u otros que no crecían bien en cultivo⁸⁴. Estos métodos de detección directa del genoma vírico permiten también la caracterización y el genotipado del EV y están sustituyendo progresivamente a los métodos tradicionales.

El aislamiento en cultivo celular se basa en la capacidad de los EV para producir un efecto citopático (ECP) cuando infectan líneas celulares susceptibles como las RD (rabdomyosarcoma humano), L20B (línea celular de ratón modificada genéticamente para contener el receptor celular de los PV), HEF (fibroblastos embrionarios humanos), HEP-2 (carcinoma de epitelio humano) o BGM (de riñón de mono verde). Este método sigue siendo el recomendado por la OMS para la detección de los PV, siendo obligado el cultivo de 2 muestras de heces (separadas 24-72h) en las líneas celulares RD y L20B⁸⁵. La identificación del serotipo aislado se realiza mediante ensayos de neutralización en microplaca utilizando combinados de antisueros específicos, como el desarrollado por Lim y Benyesh-Melnick⁸⁶, que se utiliza para identificar 42 serotipos comunes de EV.

La serología no es la técnica adecuada para el diagnóstico de las infecciones por EV porque es poco específica y no es rentable desarrollar anticuerpos monoclonales para los más de 100 tipos conocidos de EV, aunque si se han desarrollado para algunos tipos específicos de EV, especialmente frente a los PV, y otros como el EV-A71²¹.

Las técnicas serológicas y de cultivo celular requieren bastantes recursos y la especialización del personal del laboratorio. Por otro lado, no todos los EV

crecen en cultivo celular. La introducción de las técnicas moleculares en los laboratorios de microbiología de los hospitales ha mejorado la sensibilidad y rapidez a la hora de investigar las infecciones por EV, permitiendo, además, el diagnóstico diferencial con otros patógenos que causan cuadros clínicos similares.

La detección directa del genoma de los EV se realiza mediante PCR con una RT (retro-transcripción) previa ya que son virus ARN. La mayoría de los ensayos (sean RT-PCR “in house” o comerciales, convencionales o en tiempo real) utilizan la región no codificante 5' (5'-NCR) porque está muy conservada entre todos los serotipos de EV⁸⁷. Sin embargo, para poder caracterizar el virus es necesario amplificar otra región del genoma cuya secuencia de nucleótidos correlacione con el sero/genotipo⁸⁸. La más ampliamente usada en la región VP1, bien completa o parcial, que codifica para la proteína de la nucleocápside VP1^{88,89}. La secuenciación del producto de PCR así obtenido y el posterior análisis de la secuencia (mediante BLAST⁹⁰ o análisis filogenético), permitirá identificar el serotipo de EV con un alto grado de acierto (score).

Pronóstico

En las infecciones por EV la mayoría de los autores describen un pronóstico a corto plazo favorable en los pacientes que han sufrido una meningitis aséptica, con peor evolución y mayor frecuencia de secuelas si lo que habían presentado era una encefalitis. En el año 1975 Sell et al.⁹¹ realizaron un seguimiento a 19 niños que habían sido hospitalizados por infección del SNC por EV (nueve con meningitis, nueve con encefalitis y uno

con ataxia cerebelosa), observando en tres casos secuelas establecidas y en otros cinco casos una posible afectación neurológica. Además, observaron una mayor afectación en los pacientes que habían sufrido la infección en el primer año de vida, con menor perímetro craneal, menor cociente de inteligencia y peor lenguaje. Poco después Wilfert et al.⁹² estudiaron a 9 niños con meningitis por EV durante los primeros 3 meses de vida, observando diferencias significativas en el lenguaje comprensivo respecto al grupo control.

Más recientemente, en 2014 Wu et al.⁹³ realizaron un seguimiento durante 18 meses a 12 neonatos con infección del SNC observando alteraciones en la RMN en todos ellos, y parálisis cerebral en 2 de los pacientes. Posteriormente Balasubramanian et al.⁹⁴ estudiaron a 33 neonatos con edad gestacional mayor de 32 semanas que habían sufrido una meningitis por EV, observando un desarrollo psicomotor normal al año de vida en todos los pacientes excepto uno, que presentaba parálisis cerebral, hidrocefalia y epilepsia.

Con el aumento de de casos de encefalitis de tronco asociados a la infección por EV-A71 en los países asiáticos, también ha crecido el número de trabajos publicados que estudian la evolución neurológica tras dicha infección, especialmente en cuanto a las lesiones presentes en la neuroimagen y las secuelas motoras⁹⁵⁻⁹⁷. En 2007, Chang et al.⁹⁵ realizaron un seguimiento neurológico a 142 pacientes que habían sufrido una infección del SNC por EV-A71, observando una evolución favorable en el 95% de los pacientes que no habían sufrido fallo cardiaco (19/20) y retraso en el desarrollo psicomotor en el 75% si habían sufrido un fallo cardiaco secundario a la infección del SNC.

2.2 Parechovirus humanos

Historia y clasificación taxonómica

Los parechovirus humanos tipos 1 y 2 (HPeV-1 y 2) fueron descritos por primera vez en 1956 en niños con diarrea, siendo clasificados inicialmente dentro del género *Enterovirus* como echovirus 22 y 23 (E-22 y E-23)⁹⁸. Posteriormente se observaron diferencias respecto a otros serotipos de EV, tanto en el ECP que producen, como en el genoma y la replicación. En el año 1999 se aprobó la creación del género *Parechovirus* dentro de la misma familia *Picornaviridae*, basándose en sus características biológicas y genómicas, y los E-22 y E-23 pasaron a llamarse HPeV-1 y HPeV-2⁹⁹. Sin embargo, no fue hasta la aplicación de los métodos moleculares en la detección y caracterización de estos virus cuando se empezaron a describir los demás tipos. En 2004, Ito et al.¹⁰⁰ identificaron el HPeV-3 en una niña de un año con parálisis transitoria, fiebre y diarrea. En 2006, Benschop et al.¹⁰¹ identificaron el HPeV-4 en un neonato con fiebre. El HPeV-5, a pesar de haber sido detectado previamente por Oberste et al.⁹⁹, no fue adecuadamente identificado como un serotipo diferente hasta 2007 por Al-Sunaidi et al.^{102,103}. En 2007 Watanabe et al.¹⁰⁴ describen el HPeV-6 en una niña de un año con síndrome de Reye (encefalopatía aguda con disfunción hepática). El HPeV-7 fue descrito por Li et al.¹⁰⁵ en 2009, en las heces de un niño de dos años que había estado en contacto con un paciente con parálisis flácida aguda. En 2009, Drexler et al.¹⁰⁶ describen el HPeV-8 en muestras de heces de niños brasileños ingresados por GEA. El HPeV-14 fue identificado por Benschop et al.¹⁰⁷ en un estudio

retrospectivo realizado en 2008 sobre 1824 muestras de heces de 1379 niños menores de cinco años. El más reciente ha sido el HPeV-17, que fue identificado por Cristianziano et al.¹⁰⁸ en 2015, en muestras de heces de pacientes sanos en Costa de Marfil. El resto de tipos (HPeV-9-13, 15 y 16) han sido identificados por Oberste et al.⁵², pero sus hallazgos no se encuentran publicados actualmente.

En el año 2014 se renombraron las especies *Parechovirus humanos* y *Ljungan virus* como *Parechovirus A* y *Parechovirus B*. Actualmente, los *Parechovirus A* incluyen 17 tipos, HPeV del 1 al 17, y los *Parechovirus B* contienen 4 tipos, denominados Ljungan virus 1 al 4. Sólo los *Parechovirus A* pueden infectar a humanos.

Estructura vírica y ciclo replicativo

La estructura cristalográfica del HPeV-1 se ha determinado muy recientemente, indicando, como cabía esperar, una simetría icosaédrica similar a la de otros picornavirus (Figura 11)¹⁰⁹.

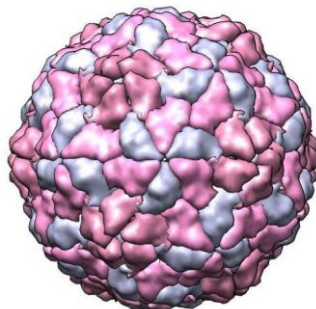


Figura 11. Imagen de la estructura 3D del HPeV-1

El genoma tiene una longitud de aproximadamente 7300 nucleótidos, es decir, un poco más corto que el de los EV. Otra diferencia importante con ellos, es que durante el procesamiento de la poliproteína, VP0 no se escinde en VP2 y VP4, lo cual hace que haya diferencias estructurales de la nucleocápside de los HPeV con respecto a los EV y otros picornavirus¹⁰⁹ (Figura 12).

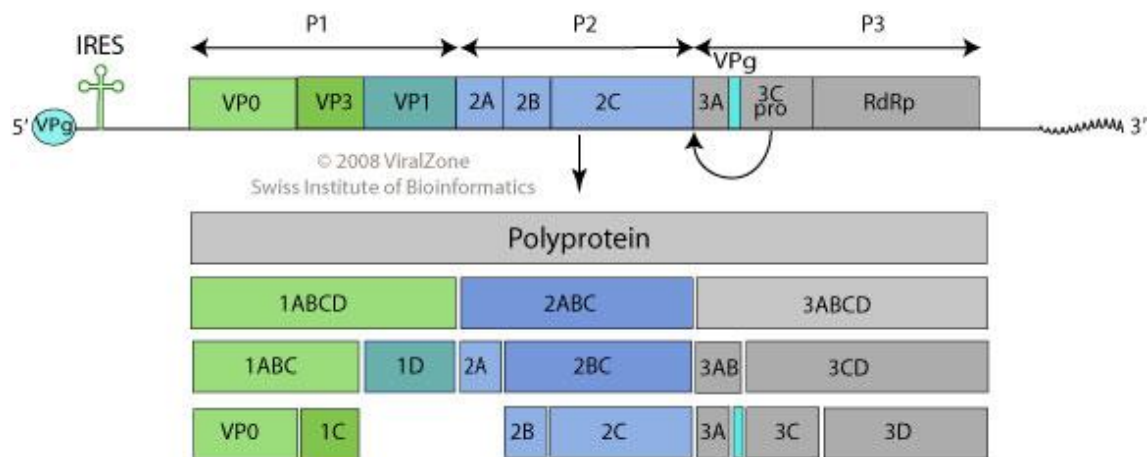


Figura 12: Estructura del genoma de los HPeV (Tomado de http://viralzone.expasy.org/all_by_species/657.html)

Otra diferencia respecto a otros picornavirus es que los HPeV no suprimen la síntesis proteica de la célula hospedadora. Además, la proteína 2A en HPeV no parece tener actividad proteasa, sino que se une al extremo 3' del genoma de HPeV actuando de alguna manera aún desconocida en la replicación viral¹¹⁰.

Patogenia

La mayoría de los estudios de patogenia de los HPeV se han realizado sobre los tipos HPeV-1 y HPeV-3, y sugieren que las diferentes

manifestaciones clínicas entre unos tipos y otros vienen derivadas de las diferentes características biológicas de cada uno de ellos¹¹¹. Por ejemplo, HPeV-3 no contiene el motivo arginina-glicina-ácido aspártico (RGD) en la región C-terminal de la proteína VP1 que si poseen otros HPeV y que se une a las integrinas de la célula huésped que actúan como receptores del virus. La no presencia de este motivo, ausente también en los tipos HPeV-7 y HPeV-8, sugiere que HPeV-3 debe tener otro receptor celular, condicionando su tropismo. En un *estudio in vitro* realizado por Westerhuis et al.¹¹² se comprobó que el nivel de replicación en una línea celular neuronal era significativamente más alto para HPeV-3 que para HPeV-1, lo que puede explicar la mayor neuropatogenicidad del tipo 3. Además, observaron una baja afinidad de HPeV-3 por sus anticuerpos neutralizantes específicos y por inmunoglobulinas intravenosas, al contrario que con el HPeV-1, lo cual explicaría la diferente gravedad de las manifestaciones de uno y otro tipo.

Epidemiología

La vía de transmisión de los HPeV es la misma que la de los EV, fecal-oral o por contacto con secreciones respiratorias, por lo que la primera replicación suele ocurrir en el tracto respiratorio y después en el digestivo.

La infección por HPeV parece que afecta principalmente a niños pequeños. En EEUU, entre el 60-70% de las infecciones por HPeV-1 y 2 ocurren en niños menores de un año⁶¹. En otros estudios de prevalencia realizados en muestras de heces se ha observado que hasta el 90% de las infecciones se dan en menores de dos años^{68,113}. Sin embargo los estudios de

incidencia en adultos son infrecuentes¹¹⁴. En el caso de las infecciones por HPeV-3, la edad se restringe bastante más. En un estudio realizado en Escocia por Harvala et al.¹¹⁵, sólo detectaron la presencia de HPeV en niños menores de tres meses. Resultados similares han sido descritos también en otro estudio realizado en Australia, donde el 75% de 118 niños con infección por HPeV-3 eran menores de dos meses¹¹⁶. En un estudio retrospectivo realizado en Holanda con 89 pacientes diagnosticados de sepsis clínica se observó una frecuencia similar de infecciones por EV (13,5%) que por HPeV (11,6%)¹¹⁷.

Hasta el momento actual, los estudios realizados que tratan de determinar la prevalencia de las infecciones por HPeV son muy heterogéneos, con diferencias tanto en el tipo de muestras utilizadas como en el rango de edad de los pacientes incluidos y en los periodos de recogida de muestras, lo cual produce diferencias notables tanto en la prevalencia observada como en el tipo de HPeV detectado. En los estudios realizados en muestras de LCR la prevalencia varía entre el 2,3 y el 8,3%^{115,118}, detectándose fundamentalmente el HPeV-3, mientras que los estudios que han utilizado muestras de heces han obtenido una prevalencia de alrededor del 6%^{119,120}, observándose en estos casos un predominio del HPeV-1. En pacientes con sepsis tardía ingresados en UCIN la prevalencia de infección por HPeV es aún mayor, llegando al 13%⁴.

Desde el punto de vista estacional, las infecciones por HPeV parece que tienen la misma distribución anual que las producidas por los EV, con predominio en verano y otoño en los países templados^{121,122}. Además, el HPeV-3 parece tener una circulación bienal, como se ha observado en el estudio

publicado por van der Sanden realizado en Holanda¹²³, aunque son necesarios estudios con mayor número de muestras para confirmar este patrón.

Patología clínica

Los primeros HPeV descritos, los tipos 1 y 2, considerados inicialmente como EV, se habían asociado más a cuadros gastrointestinales y respiratorios leves que a infecciones del SNC. Sin embargo, los tipos 3-16, identificados en los últimos 10-12 años, parece que si son capaces de producir infecciones neurológicas y sistémicas más o menos graves. Los estudios publicados en los últimos años otorgan a los HPeV, pero sobre todo al tipo 3, un importante papel en las infecciones graves de neonatos y lactantes¹¹³. Parece que el HPeV-3 puede producir cuadros de sepsis o encefalitis en este tipo de pacientes^{4,5}. Las infecciones también pueden manifestarse en forma de síndrome febril y exantema^{124,125}. Actualmente, se considera que los HPeV son junto con los EV, los principales agentes causales de meningitis aséptica y síndromes febriles en niños pequeños^{126,127}.

La gastroenteritis aguda es una manifestación frecuente de la infección por HPeV, aunque habitualmente sus síntomas son leves¹²⁸, siendo el serotipo más frecuente el HPeV-1¹²⁹. Otros HPeV (4, 5 y 6) también se han detectado en diarreas pero con una menor incidencia¹³⁰. En diferentes estudios realizados en Europa, los HPeV fueron los responsables de entre el 11 y el 16% de los cuadros de gastroenteritis aguda diagnosticados^{106,131}.

Los HPeV también se detectan en cuadros de bronquitis, bronquiolitis o neumonía, habitualmente de carácter leve, pero que en ocasiones pueden

complicarse llegando incluso a ser fatales¹³². Sin embargo, en la mayoría de las ocasiones se detectan en coinfección con otros virus respiratorios, por lo que no está del todo claro su papel patogénico en estos casos^{133,134}.

Una de las características de la infección por el HPeV-3 es la frecuente asociación con exantema cutáneo. Shoji et al.^{125,135} realizaron un estudio retrospectivo de 15 neonatos con infección por HPeV-3, observando en todos ellos la aparición de un exantema cutáneo, una media de 3 días después del ingreso, siendo característico que en el 80% de los casos se presentó como un eritema palmoplantar que desaparecía entre 2 y 7 días después (Figura 13).



Figura 13: Rash maculopapuloso en las piernas y eritema plantar en un caso de infección por HPeV-3¹²⁴

En 2017, Yeom et al.¹³⁶ publicaron otros 2 casos de neonatos con infección por HPeV-3 que se manifestaron como sepsis clínica, y que presentaban también un eritema palmoplantar e hiperferritinemia.

Diagnóstico microbiológico

Los HPeV al igual que en los EV, son citopáticos por lo que, en principio, el diagnóstico microbiológico de la infección se podría realizar mediante cultivo

celular. Sin embargo, el ECP que inducen algunos serotipos (HPeV-1 al 6) es bastante menor que el de los EV^{137,138}. Otros, HPeV-7 al 16, ni siquiera crecen en las líneas celulares habitualmente usadas. Por esta razón, la identificación de los tipos 3 al 17 fue gracias al uso de técnicas moleculares de amplificación genómica. En los últimos años, diferentes ensayos para la detección y caracterización de los diferentes tipos de HPeV (diseñadas en las mismas regiones del genoma que se usan para los EV) han sido desarrolladas y validadas por diferentes grupos de investigación¹³⁹⁻¹⁴¹. Estas nuevas RT-PCR, ya suelen ser en tiempo real e incluyen la detección múltiple de EV y HPeV para hacer un diagnóstico diferencial de los mismos cuadros clínicos. Las muestras clínicas adecuadas son las mismas que para las infecciones por EV, es decir, heces, LCR o sangre, según la patología.

3. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO

Los estudios realizados hasta la fecha sobre las infecciones por HPeV son recientes y heterogéneos, con distinta metodología y generalmente no realizan una búsqueda sistemática de dichas infecciones. Muchos de ellos incluso son retrospectivos. El verdadero papel de los HPeV en los cuadros neurológicos y sistémicos de los lactantes y niños pequeños está aún por determinar. Además, las técnicas de diagnóstico microbiológico no están implantadas de forma rutinaria en los servicios de microbiología de nuestros hospitales, por lo que habitualmente no se identifican.

El conocimiento por parte de los pediatras de los cuadros clínicos asociados a las infecciones por HPeV es primordial, para que estas infecciones sean sospechadas, reconocidas, diagnosticadas y adecuadamente tratadas. Además, el contar con el diagnóstico etiológico de las infecciones víricas en general, puede dar lugar sin duda a una disminución del uso innecesario de antibióticos en estos pacientes, que por la edad a la que se ven afectados, van a ser subsidiarios de su empleo empírico rutinario. Las técnicas de detección virológica, si se implementan en todos los hospitales del sistema nacional de salud (SNS), pueden permitir que en pocas horas se obtenga un diagnóstico diferencial, evitando así tanto la antibioterapia inadecuada como las prolongadas hospitalizaciones que suelen acompañar a estos cuadros.

Hasta el momento de iniciar esta tesis, en España no existían datos sobre la incidencia, la epidemiología y las características clínicas de las infecciones por HPeV. El único trabajo publicado era el de Piñeiro et al.¹⁴², que

describía una muestra de 9 niños con infección por HPeV en el País Vasco. En este contexto, se plantea la realización de este estudio prospectivo multicéntrico de ámbito nacional, para investigar el papel de las infecciones por HPeV en niños menores de 3 años. Además, y dado que los HPeV causan patologías similares a las que producen los EV, se pretende comparar la epidemiología y las características clínicas de ambas infecciones en el mismo grupo de pacientes.

II. OBJETIVOS

1. OBJETIVO PRINCIPAL

Estudiar la prevalencia y las características epidemiológicas y clínicas de las infecciones por HPeV en niños menores de 3 años que requieren hospitalización.

2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Detección y caracterización de los (sero)tipos de EV y HPeV en infecciones neurológicas, fiebre sin foco, miocarditis, neumonía o sepsis clínica en niños menores de 3 años (incluidos neonatos) hospitalizados.

2. Describir las características epidemiológicas y clínicas de las infecciones por HPeV en la población pediátrica estudiada.

3. Comparar las características clínicas de las infecciones por EV y HPeV en los mismos grupos de pacientes.

4. Analizar la evolución neurológica a medio plazo de los niños que han sufrido una infección por HPeV.

III. PACIENTES Y MÉTODOS

**INFECCIONES PEDIÁTRICAS POR PARECHOVIRUS.
ESTUDIO PROSPECTIVO Y MULTICÉNTRICO DE ÁMBITO NACIONAL.
COMPARACIÓN CON INFECCIONES POR ENTEROVIRUS**

1. DISEÑO DEL ESTUDIO

1.1 Ámbito del estudio (centros y hospitales participantes)

Se ha realizado un estudio observacional prospectivo de las infecciones por EV y HPeV en el que han participado la Unidad de Enterovirus (UE) y el Área de Orientación Diagnóstica (OD) del Centro Nacional de Microbiología (CNM), el Servicio de Vigilancia Epidemiológica del Centro Nacional de Epidemiología (CNE) , y los departamentos de Pediatría, Neuropediatría, Neonatología y/o Microbiología/Virología de los siguientes hospitales españoles:

- Complejo Asistencial de Burgos,
- Hospital La Paz y Hospital Severo Ochoa de Madrid,
- Hospital San Joan de Déu y Hospital de la Santa Creu i Sant Pau de Barcelona,
- Hospital de Cruces de Bilbao,
- Hospital Virgen de la Arrixaca de Murcia,
- Complejo Hospitalario de Orense,
- Hospital Virgen de las Nieves de Granada,
- Hospital Dr. Negrín y Complejo Hospitalario Materno-Infantil de Las Palmas de Gran Canaria,
- Hospital Miguel Servet de Zaragoza.

1.2 Criterios de inclusión

Se incluyeron en el estudio los casos con sospecha de infección vírica diagnosticados clínicamente como fiebre sin foco (FSF), meningitis aséptica (MA), encefalitis/meningoencefalitis (ENC/ME), miocarditis, o sepsis generalizada, en los servicios de pediatría, neurología pediátrica o neonatología de dichos hospitales, en niños de hasta 3 años de edad, incluidos los neonatos (menores de 28 días).

Se definió *fiebre sin foco* (FSF) como temperatura axilar superior a 37,9°C sin aparente causa tras una completa exploración física y análisis de laboratorio (según los protocolos habituales de diagnóstico de FSF aplicados en cada centro). Se consideró el diagnóstico de *meningitis aséptica* (MA) cuando existía pleocitosis mayor de 30 células/mm³ en neonatos o mayor de 5 células/mm³ en niños mayores de un mes, con cultivo de LCR) negativo para bacterias. El diagnóstico de *encefalitis* (ENC) fue realizado sobre la base de la presentación clínica de disminución del nivel de consciencia, con otros síntomas de afectación neurológica, sin precisar necesariamente la presencia de pleocitosis en el LCR, o alteración en la resonancia magnética o el electroencefalograma, a pesar de que estos estudios complementarios sirvieron para apoyar el diagnóstico. La *meningoencefalitis* (ME) comparte datos clínicos de meningitis y encefalitis. Se definió la *sepsis clínica* como la presencia de datos clínicos y marcadores biológicos de síndrome de respuesta inflamatoria sistémica, sin confirmación bacteriológica en los cultivos.

1.3 Criterios de exclusión

- 1) Negativa de los padres o tutores a participar en el estudio;
- 2) Insuficiente cantidad de muestra clínica para realizar las determinaciones planteadas.
- 3) Cuadros con sospecha o confirmación de etiología bacteriana, así como las infecciones por virus herpes.

1.4 Recogida de muestras

Dependiendo de la manifestación clínica presentada por el paciente, se recogió la muestra más adecuada: LCR (fiebre, MA, E/ME), suero/plasma (sepsis generalizada, miocarditis) y exudado/frotis nasofaríngeo o heces cuando no se dispusiera de la muestra idónea.

Las muestras clínicas fueron recibidas en los Servicios de Microbiología de los hospitales participantes y en aquellos que disponían de técnicas de diagnóstico de rutina (métodos clásicos de aislamiento en cultivo celular y/o métodos moleculares) se realizó la determinación de EV. En todos los casos positivos para EV, los aislados, los extractos de RNA obtenidos o/y la muestra clínica original, se conservó a -80°C hasta su envío a la UE del CNM. En la UE se realizó la detección de EV (en los casos sin resultado previo) y el tipado de los EV detectados. Las muestras que resultaron negativas para EV en los laboratorios de los hospitales participantes (o en la UE del CNM), en las que se hubiese descartado previamente la presencia de otros posibles agentes infecciosos, se conservaron a -80°C hasta su envío al CNM dónde fueron

testadas para HPeV y, en el caso de resultar positivas, también se caracterizó el tipo.

1.5 Recogida de datos clínicos

Los datos microbiológicos fueron registrados en el sistema informático del Centro Nacional de Microbiología (CNM), en su web GIPI, que permite hacer on-line las peticiones analíticas correspondientes y consultar los resultados finales.

De cada paciente se cumplimentó una ficha con los datos clínicos y epidemiológicos (Anexo I). Los datos clínicos para el estudio se incluyeron en una base de datos diseñada al efecto, anonimizada que cumple con los requisitos de confidencialidad de la Ley Orgánica 15/1999, de 13 de diciembre de protección de datos de carácter personal. Las variables analizadas fueron las siguientes:

1. Variables cuantitativas:

- Edad (meses)
- Temperatura axilar máxima (°C)
- Días de fiebre previos al ingreso
- Duración total de la fiebre (días);
- Duración total del ingreso (días)
- Duración del ingreso en la Unidad de Cuidados Intesivos Pediátricos (UCIP) o Neonatal (UCIN)(días)
- Si se ha realizado analítica de sangre:
 - Hemoglobina: mg/dL
 - Plaquetas/mm³
 - Leucocitos en sangre periférica: células/mm³
 - Porcentaje de neutrófilos
 - Proteína C reactiva sérica: mg/dL

Procalcitonina (ng/mL)

-Si se ha obtenido LCR:

Proteínas (g/dL),

Glucosa (mg/dL),

Células (clas/mm³)

Polimorfonucleares (%).

2. Variables cualitativas nominales:

-Hospital de procedencia

-Lugar de residencia

-País de nacimiento

-Antecedentes viaje previo SI/NO

-Brote epidémico SI/NO

-Escolarización SI/NO

-Género: hombre/ mujer

-Estacionalidad: mes del año en el que ocurre la hospitalización

-Tipo de muestra: LCR/suero/aspirado nasofaríngeo/biopsia/heces

-Diagnóstico clínico: Fiebre sin foco/Meningitis/Encefalitis/Meningo-encefalitis/Sepsis/Miocarditis/Otros cuadros

-Tratamiento antibiótico durante el ingreso: SI/NO

-Antecedente de prematuridad: SI/NO

-Antecedente de enfermedad subyacente: SI/NO

-Necesidad de tratamiento en unidad cuidados intensivos: SI/NO

-Necesidad de ventilación mecánica: SI/NO

-Aparición de complicaciones:

Coma SI/NO,

Convulsiones SI/NO,

Distrés respiratorio SI/NO,

Alteración de la función hepática sin insuficiencia SI/NO,

Fallo hepático SI/NO,

Fallo cardíaco SI/NO.

-Síntomas acompañantes:

Irritabilidad: SI/NO

Otitis: SI/NO;

Conjuntivitis: SI/NO;

Gastroenteritis: SI/NO;

- Exantema: SI/NO,
Broncoespasmo SI/NO,
Infección respiratoria de vías altas SI/NO
- Hemocultivo: Positivo (agente bacteriano identificado)/ negativo/No
-Evolución final: alta, secuelas (especificar), muerte.

1.6 Estudios microbiológicos

Detección y caracterización de EV y HPeV en muestras clínicas

Se realizó mediante métodos clásicos de aislamiento en cultivos celulares y/o métodos moleculares de extracción del RNA viral, amplificación genómica, secuenciación y análisis de la secuencia (utilizando distintos programas informáticos como DNASTAR, BLAST y bases de datos como NCBI).

1. La **detección de EV** se realizó:

1.1. En los laboratorios de microbiología de los hospitales participantes mediante cultivo celular y/o métodos moleculares como GeneXpert (Cepheid) o “in house” RT-PCR¹⁴⁰.

1.2. En la UE del CNM (en los casos sin resultado previo), mediante una RT-nestedPCR en la región 5'-NC del genoma de los EV según el método descrito por Casas I, et al ⁸⁷. Esta PCR puede ser múltiple para la amplificación y detección de los herpesvirus HHV1-2, VZV, CMV, HHV6 y EBV.

2. La **caracterización del serotipo de EV** se realizó en la UE del CNM mediante tipificación molecular usando una RT-nestedPCR en la región 3'-VP1 (cápside) específica de especies EV-A, B y C¹⁴³, posterior secuenciación y análisis de secuencia (BLAST).

3. La **detección de HPeV** se realizó en la UE del CNM mediante una RT-PCR a tiempo real que amplifica parte de la región 5'-NC del genoma vírico, diseñada y validada en la UE del CNM¹³⁹.

4. La **caracterización del tipo de HPeV** se realizó en la UE del CNM mediante una RT-nestedPCR en la región VP3/VP1 del genoma vírico¹³³, posterior secuenciación y análisis de secuencia (BLAST).

1.7 Análisis estadístico

Para la realización del análisis estadístico todos los datos fueron incluidos en una base de datos anonimizada que cumplía los criterios de la LOPD 15/1999. Para el análisis estadístico se ha empleado el programa SPSS 21.0 (SPSS Inc., Chicago, Estados Unidos). La representación gráfica de los resultados se ha realizado mediante los paquetes gráficos de Word y SPSS.

Inicialmente se realizó un análisis estadístico descriptivo de las variables recogidas, tanto en la serie completa como de manera independiente en los dos grupos de pacientes, infectados por EV y por HPeV. Se analizó la normalidad de las variables continuas mediante la prueba de Kolmogorov-Smirnof. En los casos en los que las variables presentaban una distribución

normal, se describieron los resultados mediante la media y desviación estándar (DE), y en caso contrario se utilizó la mediana y rango intercuartílico (RIQ). Las variables categóricas se han descrito utilizando proporciones y porcentajes.

Posteriormente se compararon ambos grupos de pacientes, EV-positivos y HPeV-positivos, entre sí. Para ello se utilizó en las variables cualitativas el test de χ^2 , excepto en los casos con frecuencia esperada menor de 5 en al menos una casilla de las tablas de contingencia, en los que se empleó el test exacto de Fisher. En las variables cuantitativas, se compararon las medias utilizando la t de Student cuando las variables cumplían los criterios de normalidad, y la U de Mann-Whitney cuando no lo cumplían.

Dentro del grupo de los HPeV-positivos se dividió la muestra entre neonatos y no neonatos. Se compararon en este caso las variables cualitativas mediante el test exacto de Fisher, y las cuantitativas mediante la U de Mann-Whitney.

Se ha considerado estadísticamente significativo un valor de $p < 0.05$ tanto en variables cuantitativas como cualitativas.

1.8 Evaluación del desarrollo psicomotor

Se incluyeron en el estudio, los niños con infección confirmada del SNC por HPeV, cuyos padres o tutores aceptaron participar, siempre y cuando hubiera pasado al menos 1 año de la infección aguda.

El pediatra responsable de la atención de los niños contactó con la familia y les ofreció participar en el estudio. Tras el contacto, se concertó con la familia una cita para informar a los padres, donde se realizó el test de desarrollo

psicomotor. En caso de que los padres tuvieran problemas de acceso al hospital de referencia (domicilio en otra ciudad o provincia, etc.) y desearan participar sin asistir a la consulta, se contempló la posibilidad de enviar el cuestionario por correo ordinario o electrónico o de realizar la visita de manera telefónica.

Se aplicó el test Age and Stage Questionnaire (ASQ) adaptado a la edad de cada paciente una vez transcurrido al menos 1 año de la infección (Anexo 3). Los resultados de los test fueron interpretados en todos los casos por el mismo neurólogo pediatra, participante en el estudio, para evitar discrepancias entre evaluadores. Si en la interpretación de los test se detectó alguna alteración del desarrollo psicomotor, se ofertó a los padres la consulta con un neuropediatra.

2. ASPECTOS ÉTICOS

El estudio fue aprobado por el Comité de Ética del CNM (Anexo II). Se solicitó y recogió consentimiento informado (CI) del padre/madre/tutor de los pacientes (Anexo III). Se excluyeron los datos clínicos de los pacientes de los que no se disponía del CI.

IV. RESULTADOS

1. CARACTERÍSTICAS DE LOS PACIENTES

1.1 Pacientes incluidos

En el estudio se incluyeron 844 pacientes que habían ingresado en alguno de los hospitales participantes. Tres pacientes tuvieron 2 episodios independientes, y por tanto, sufrieron dos ingresos.

La distribución geográfica de los casos puede verse en la figura 14. La mayoría de los pacientes fueron reclutados en Madrid (202, 23,9%), en Barcelona (190, 22,5%), en Orense (124, 14,7%) y en Burgos (99, 11,7%).

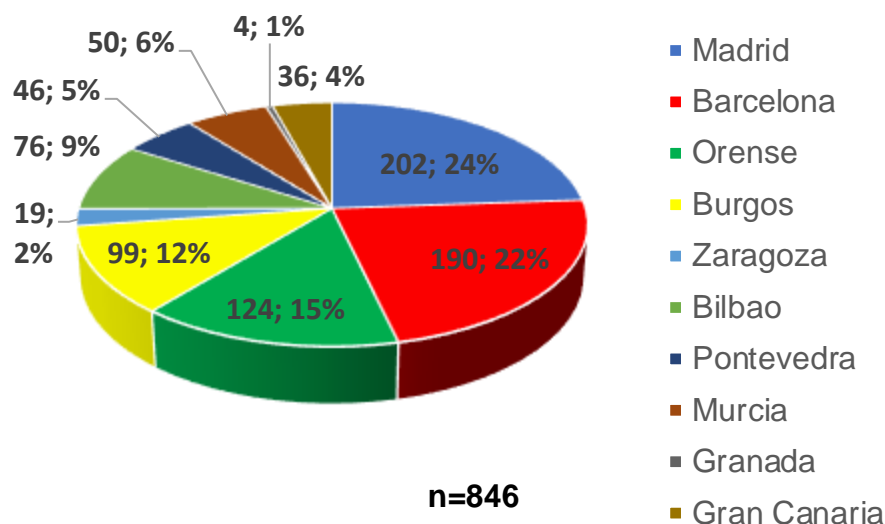


Figura 14. Procedencia de los pacientes por provincias. Se muestra el nº de pacientes seguido del porcentaje con respecto al total.

Los meses en los que más ingresos se produjeron fueron mayo, junio y julio (109, 12,9%; 103, 12,2%; y 110 13%, respectivamente) (Figura 15), con una distribución similar en los 3 años del estudio.

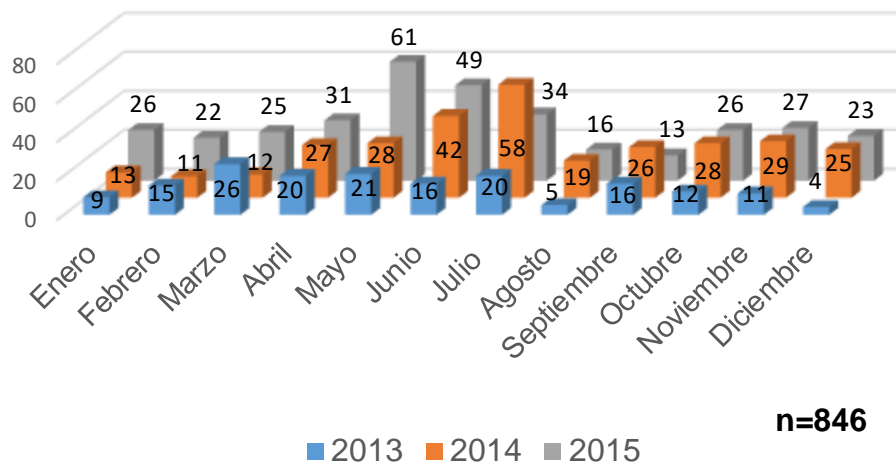


Figura 15: Distribución de los pacientes ingresados por mes y año.

La media de edad de los pacientes al ingreso fue de 135,5 días (DE 243), con una mediana de 34,5 días (RIQ 14-92,3), un mínimo de cero (al nacimiento) y un máximo de 1095 días. Del total de la muestra, 376 pacientes eran neonatos (44,4%), 632 (74,7%) menores de 3 meses y 107 pacientes eran mayores de un año (12,6%) (Figura 16).

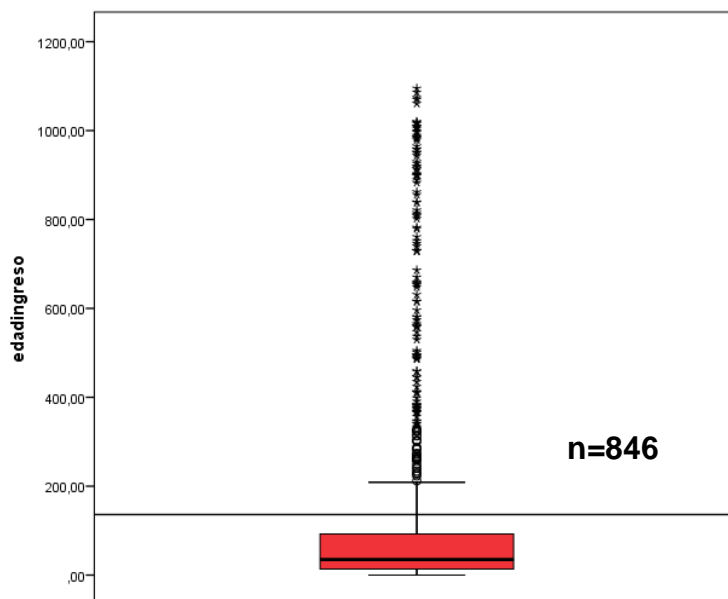


Figura 16. Edad de los pacientes de la serie completa (en días).

La distribución por sexo mostró un predominio de varones (61%) frente a mujeres (39%) (Figura 17).

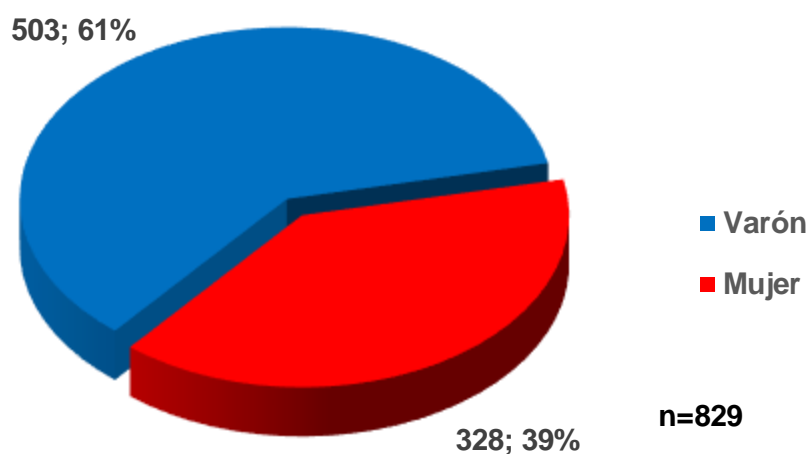


Figura 17. Nº y porcentaje de varones y mujeres en la serie completa.

1.2 Antecedentes personales

En 62 casos (7,3% del total) existía alguna patología de base, siendo las más frecuentes las neurológicas (15 casos; 24,2%) seguido de las respiratorias (8 casos; 12,9%), cardíacas y digestivas (5 casos; 8% cada una). Tres pacientes tenían patologías en 2 aparatos (respiratorio y digestivo o digestivo y hematológico). En la Figura 18 puede verse la distribución de las patologías de base, con una descripción detallada en la Tabla 10.

**INFECCIONES PEDIÁTRICAS POR PARECHOVIRUS.
ESTUDIO PROSPECTIVO Y MULTICÉNTRICO DE ÁMBITO NACIONAL.
COMPARACIÓN CON INFECCIONES POR ENTEROVIRUS**

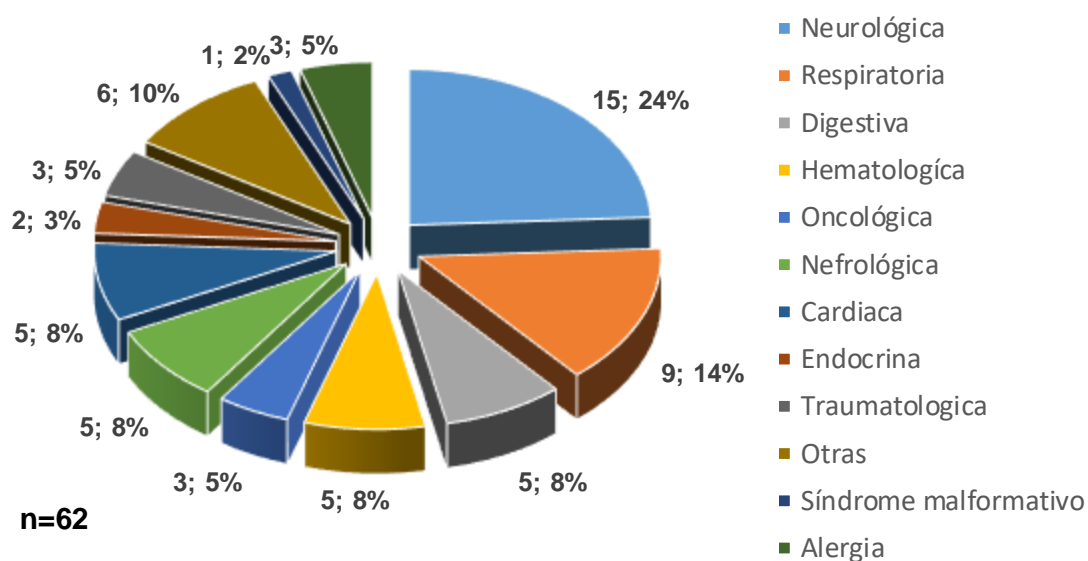


Figura 18. Patologías de base de los pacientes estudiados indicando el número de pacientes

Tabla 10. Antecedentes patológicos (Número de casos y % de los patológicos)

Tipo de patología	Total
Neurológica	15
ACV	1
Convulsiones/epilepsia	2
Encefalopatía neonatal	5
Enf. Neuromuscular	2
Otros	5
Respiratoria	9
Neumotórax	3
Apneas	2
DBP	1
Fibrosis quística	1
Asma	2
Digestiva	8
RGE	2
Trasplante hepático	2
Celiaquía	1
Estancamiento ponderal	1
Atresia esofágica	1
Colestasis	1
Cardíaca	5
CIV	2
CoAo	1

HTP	1
Otros	1
Nefrológica	5
Reflujo vesicoureteral	4
Riñón multiquístico	1
Hematológica	5
Alt. coagulación	2
Anemia	2
Neutropenia	1
Oncológica	1
Neuroblastoma	1
Trauma y ortopedia	3
Displasia de cadera	2
Talos valgus	1
Alergia	4
APLV	4
Endocrino	2
Hipotiroidismo	2
Síndrome dismórfico	1
Sd. Treacher-collins	1
Otras	6
Total	64

ACV: accidente cerebrovascular; DBP: displasia Bbroncopolmonar; RGE: reflujo gastroesofágico; CIV: comunicación interventricular; CoAo: coartación de Aorta; APLV: alergia a proteínas de leche de vaca

Cincuenta pacientes fueron prematuros (50/847; 5,9%, 24-36 semanas de edad gestacional), siendo nueve de ellos (18% de los prematuros) menores de 32 semanas de edad gestacional, y 41 (82%) de 32 o más semanas (prematuros tardíos).

De los 497 casos en que estaba registrado el tipo de alimentación que recibían en el momento del episodio, 351 estaban con lactancia materna (7.6%). Veinticuatro de 479 niños (5%) acudían a guardería. Sólo dos habían realizado un viaje reciente (Figura 19).

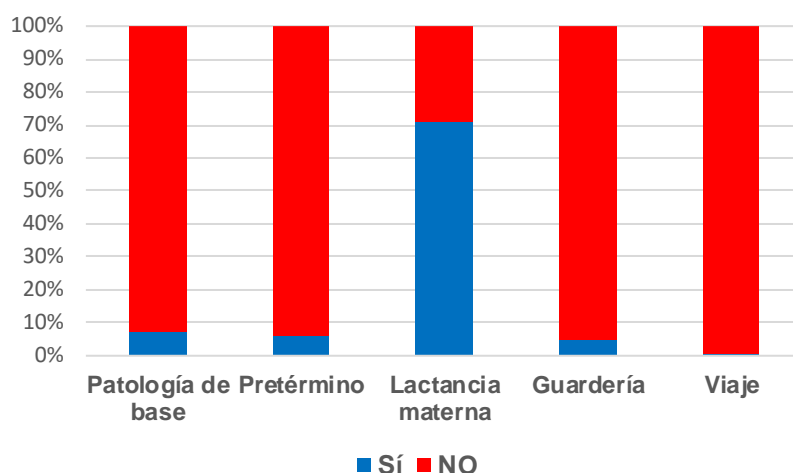


Figura 19: Antecedentes personales en la serie completa

1.3 Manifestaciones clínicas

Sólo se obtuvieron datos clínicos de 553 del total de pacientes estudiados. El síntoma más prevalente fue la fiebre, que se observó en 483 pacientes (87,3%), seguido de meningismo (91/553; 6,6%) e irritabilidad (118/40; 29,5%). Otras manifestaciones frecuentes fueron la infección respiratoria de vías altas (104/553; 18,8%), sepsis (67/553; 12,11%) y síntomas digestivos (63/553; 11,6%). El resto de manifestaciones clínicas pueden verse en la tabla 11. Las complicaciones más frecuentes fueron el distrés respiratorio (49/561; 8,7%) y las convulsiones (29/560; 5,2%).

Tabla 11. Manifestaciones clínicas de los pacientes de la serie completa

Manifestación clínica	Frecuencia	%
Fiebre	483/553	87,3
Meningismo	91/553	16,5
Irritabilidad	118/400	29,5
Otitis	7/555	1,3
Síntomas catarrales	104/553	18,8
Bronquitis	11/555	2,0
Síntomas digestivos	63/554	11,4

Encefalitis	22/555	4,0
Sepsis	67/55	12,1
Exantema	64/555	11,5
Enantema	12/553	2,2
Conjuntivitis	12/560	2,1
Miopericarditis	2/560	0,4
Coma	3/560	0,5
Convulsiones	29/560	5,2
Distrés respiratorio	49/561	8,7
Elevación transaminasas	22/560	3,9
Fallo hepático	3/559	0,5
Fallo cardíaco	4/560	0,7
Derrame pleural	1/559	0,2

1.4 Diagnóstico clínico

El diagnóstico final más frecuente fue el de FSF (361/846; 42,7%), seguido de MA (145/846; 17,1%), sepsis clínica (120/846; 14,2%) y ENC/ME (32/846; 3,8%) (Figura 20). No se disponía del diagnóstico de 26 pacientes.

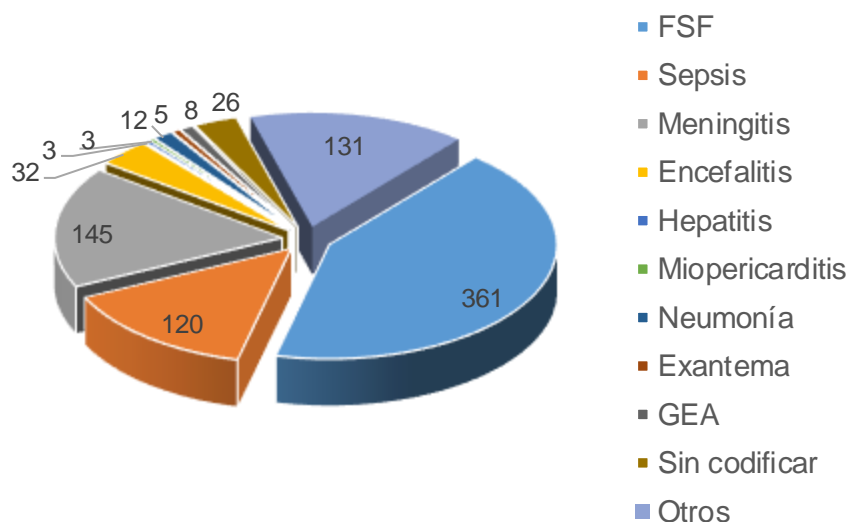


Figura 20: Diagnóstico clínico definitivo de los pacientes de la serie Completa. FSF: fiebre sin foco; GEA: gastroenteritis aguda

1.5 Determinaciones analíticas

Se dispuso de datos de hemograma de 519 pacientes, valores de RFA de 554 pacientes y y datos del LCR de 454. Se observó una leucocitosis mayor de 15.000 leucocitos/mm³ en 132/519 pacientes (25,4%), y neutrofilia superior al 60% en 146/499 (29,3%). La PtCR fue mayor de 7mg/dL en 89/559 pacientes (15,9%) (Figura 21), y la PCT fue mayor de 2 ng/mL en 47/411 pacientes (11,4%) (Figura 22).

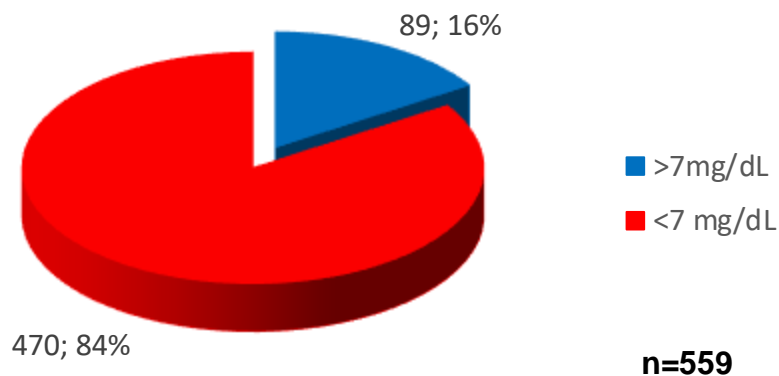


Figura 21. Nº de pacientes (y porcentaje) con proteína C reactiva elevada (>7 mg/dL).

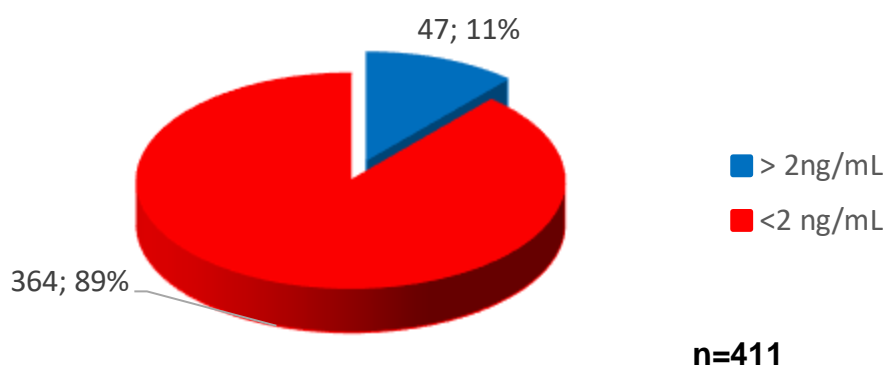


Figura 22. N° de pacientes (y porcentaje) con procalcitonina (PCT) elevada (>2 ng/mL)

1.6 Tratamiento

Del total de niños con datos clínicos, 441 niños (75,9%) recibieron tratamiento antibiótico, 121 (20,9%) precisaron ingreso en UCIP y 32 (5,8%) ventilación mecánica.

El diagnóstico más frecuente entre los que precisaron antibiótico fue FSF (143/441; 32,4%), seguido de sepsis clínica (98/441; 22,2%) y meningitis (94/441; 21,3%) (Figura 23). De los pacientes con FSF, sepsis y meningitis recibieron antibiótico el 65,6%, 94,9% y 77,3% respectivamente (Figura 24).

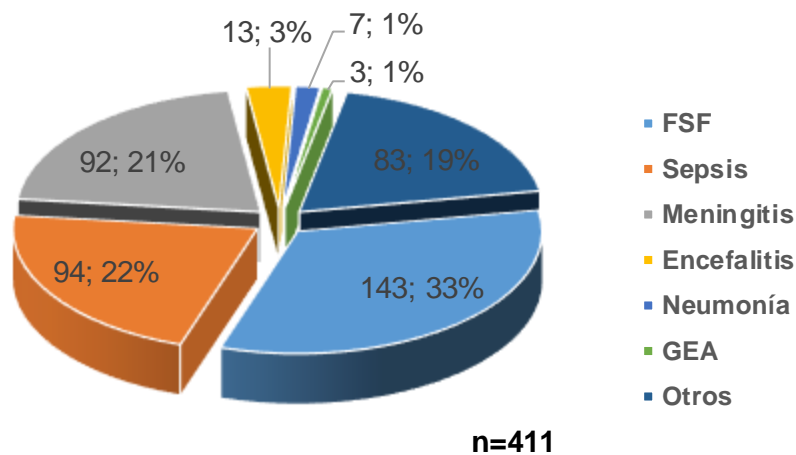


Figura 23. Diagnóstico de los pacientes que recibieron tratamiento antibiótico en la serie completa (nº de pacientes y porcentaje)
 FSF: fiebre sin foco; GEA: gastroenteritis aguda

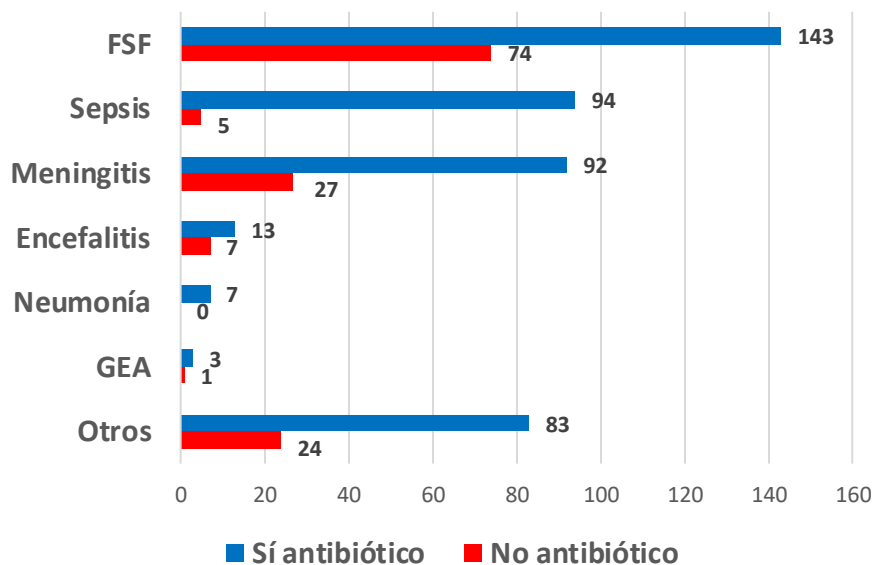


Figura 24. Utilización de antibióticos en la serie completa según el diagnóstico (nº de pacientes). FSF: fiebre sin foco; GEA: gastroenteritis aguda.

De los pacientes que precisaron ingreso en UCIP, 49 (40,5%) fueron diagnosticados de sepsis clínica, 19 de FSF (15,7%) y 9 (7,4%) de meningitis. El 48% de las sepsis (49/102) precisaron ingreso en UCI, el 57,1% de las

encefalitis (8/13), el 8,8% de las FSF (19/216) y el 7,6% de las meningitis (9/119) (Figuras 25 y 26).

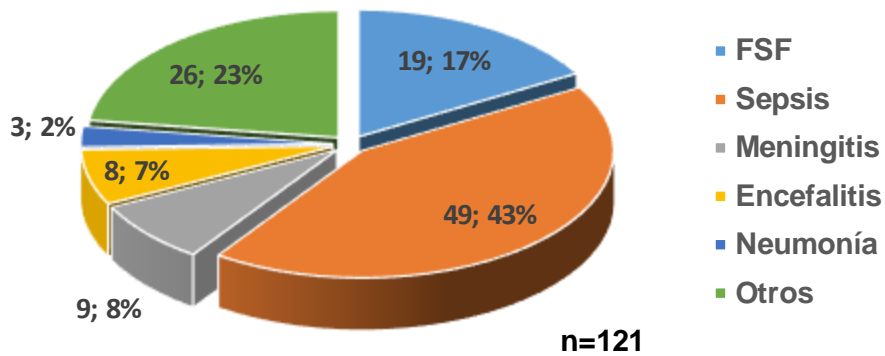


Figura 25. Diagnóstico de los pacientes de la serie completa que ingresaron en UCI (nº de pacientes y porcentaje)

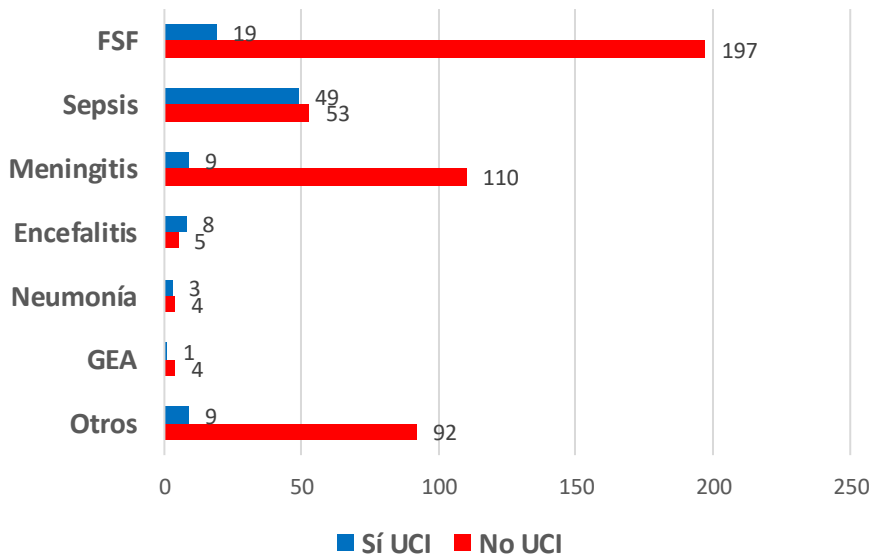


Figura 26. Ingreso en UCI de la serie completa según diagnósticos (se indica el nº de pacientes). FSF: fiebre sin foco; GEA: gastroenteritis aguda.

Precisaron ventilación mecánica 32 pacientes (5,8%), de los cuales 21 tenían el diagnóstico de sepsis clínica (65,6%), 1 de encefalitis (3,1%), 1 de

meningitis (3,1%), 1 perimiocarditis (3,1%) y 8 de otras patologías (25%) (Figura 27).

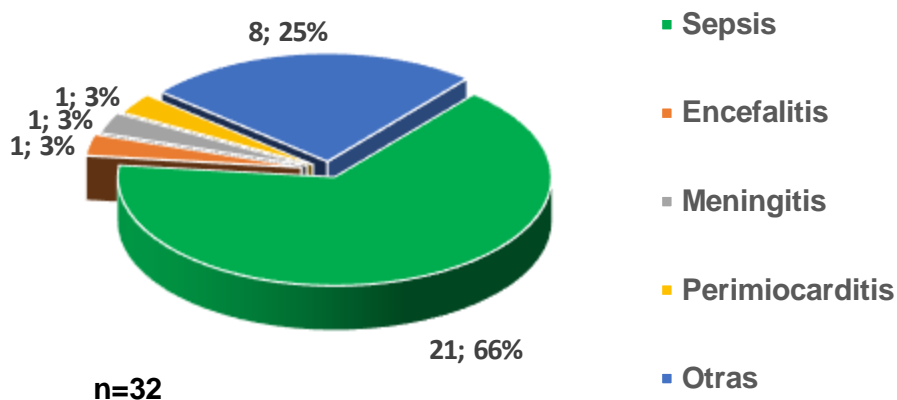


Figura 27. Diagnósticos de los pacientes que precisaron ventilación mecánica en la serie completa (nº de pacientes y porcentaje).

1.7 Evolución

La mediana de duración del ingreso fue 5 días (IQ 3-7), con un mínimo de 1 día y un máximo de 92 días. Fallecieron 2 pacientes, un niño de 18 días con una encefalopatía epiléptica mioclónica precoz y una niña de 29 meses que falleció por una sepsis tras un trasplante hepático, Nueve pacientes presentaron secuelas en el momento del alta, según se muestra en la tabla 12.

Tabla 12. Secuelas en el momento del alta.

Tipo de secuela	Nº de pacientes
Epilepsia	3
Aneurisma	1
Hemiplejia transitoria	1
Insuficiencia cardiaca	1
Encefalopatía	1
Preexcitación ventricular	1

2. DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO

2.1 Muestras estudiadas

Para el estudio microbiológico, se recogieron 849 muestras clínicas pertenecientes a los 843 pacientes (846 episodios). De tres pacientes se recogieron 2 muestras.

Del total de muestras analizadas, 579 fueron de LCR (68,2%), 146 de suero (17,2%), 89 de exudado faríngeo (10,5%), 13 de heces (1,5%), 4 biopsias (0,5%). En 18 casos (2,1%) el laboratorio regional no indicó el tipo de muestra analizada (Figura 28).

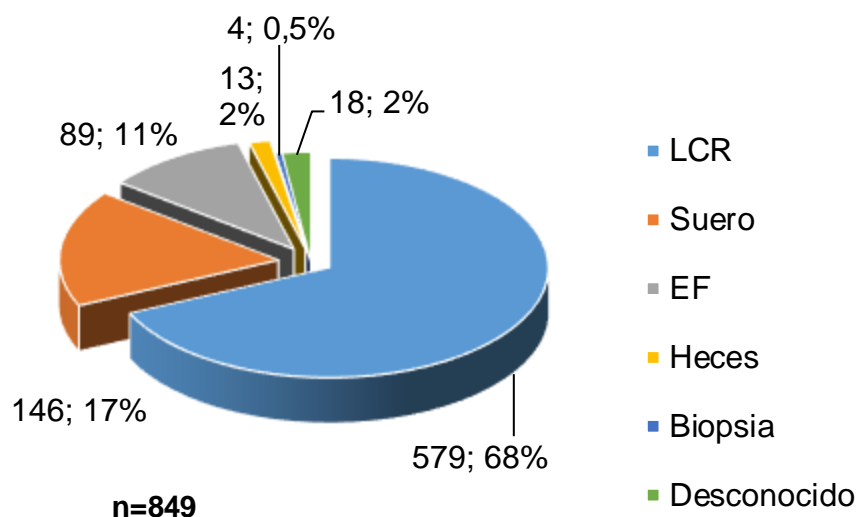


Figura 28. Tipos y porcentajes de muestras clínicas incluidas en el estudio. LCR: líquido cefalorraquídeo EF: exudado faríngeo

2.2 Resultados virológicos: detección de EV y HPeV

Del total de las muestras analizadas, 406 (47,8%) resultaron positivas para EV, 44 para HPeV (5,2%) y 399 fueron negativas (46,7%) (Figura 29).

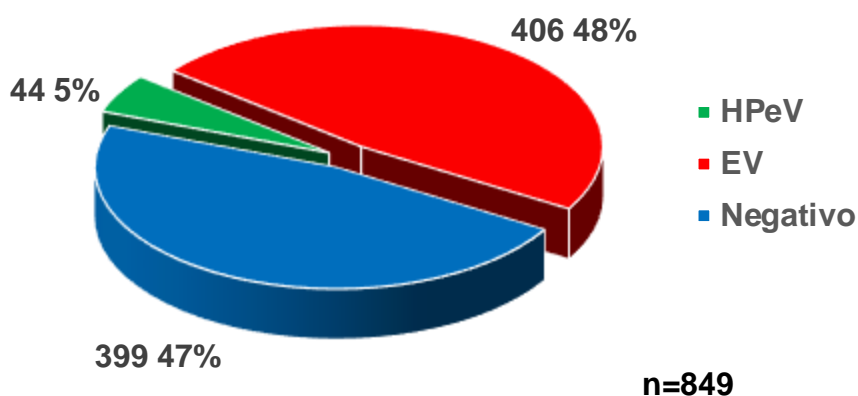


Figura 29. Distribución de los casos según el diagnóstico virológico (nº de muestras y porcentaje)

Globalmente, 223 muestras de LCR (38,5%) fueron positivas para EV o HPeV, 129 de suero (88,4%), 82 de EF (92,1%), 12 de heces (92,3%) y 1 biopsia (25%). En la Figura 30 se puede ver la distribución de muestras analizadas según el virus identificado. La Figura 31 muestra la distribución de los pacientes EV o HPeV-positivos según la provincia en el que estuvieron hospitalizados.

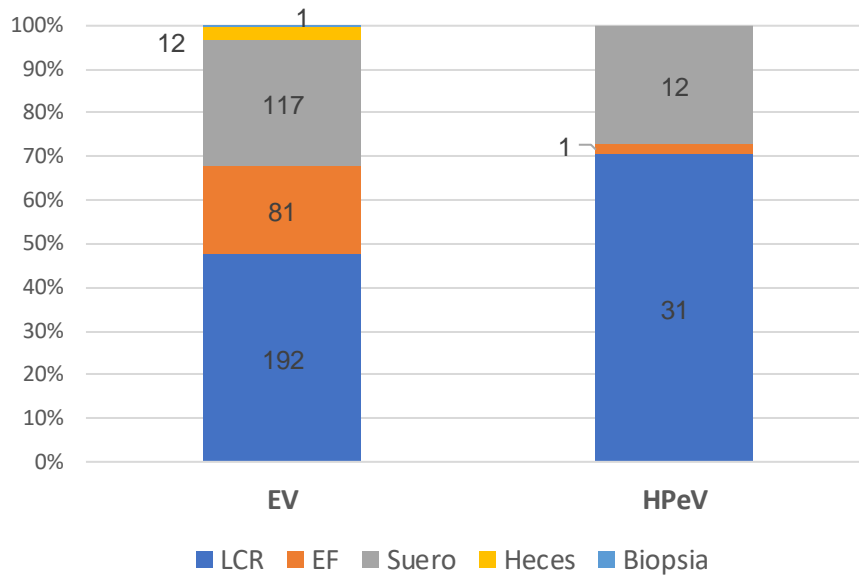


Figura 30: Tipo de muestra positiva para EV o HPeV
 LCR: líquido cefalorraquídeo; EF: exudado faríngeo

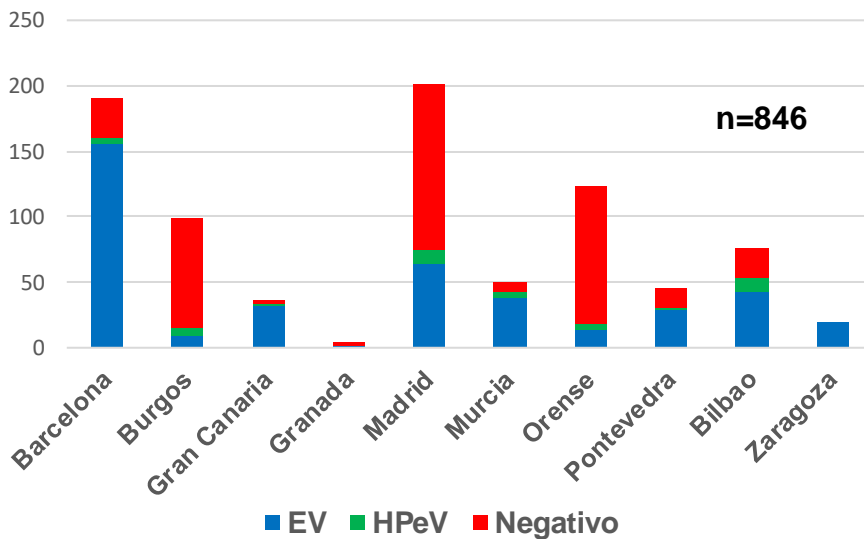


Figura 31. Distribución de los pacientes por provincia de ingreso y por diagnóstico virológico.

2.3 Distribución anual de las infecciones

La mayor incidencia de infecciones por EV se produjo en mayo, junio y julio, con 55 (13,9%), 54 (13,4%) y 59 (14,6%) casos respectivamente, mientras que los HPeV predominaron en mayo y julio (11, 25,6%; y 9, 20,9% infecciones, respectivamente) (Figura 32).

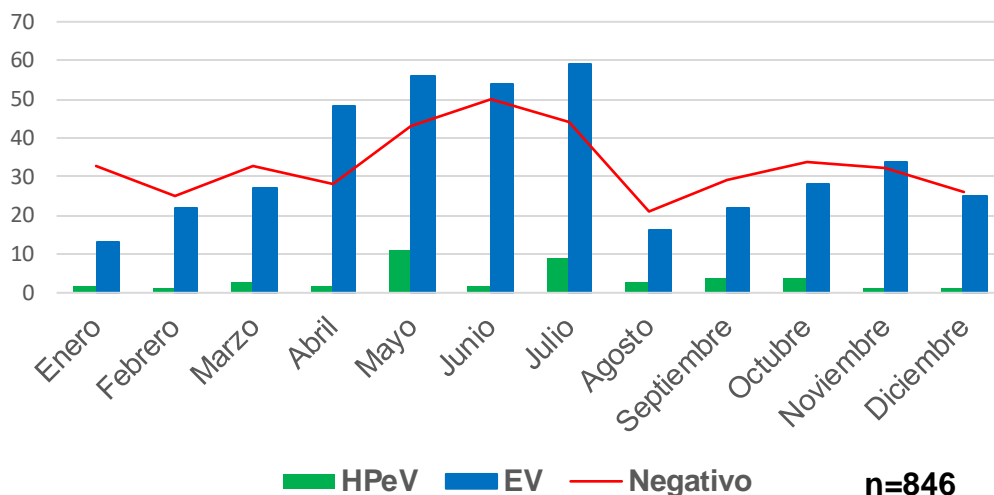


Figura 32: Distribución mensual de las infecciones de EV y HPeV.

2.4 Caracterización de los serotipos de EV y HPeV

De los 43 HPeV detectados, 41 (95,3%) pudieron ser genotipados, HPeV-positivos, 39 como HPeV-3 (90,7%), 1 como HPeV-1 (2,3%) y otro como HPeV-5 (2,3%). En 2 casos no se pudo confirmar el genotipo (Figura 33).

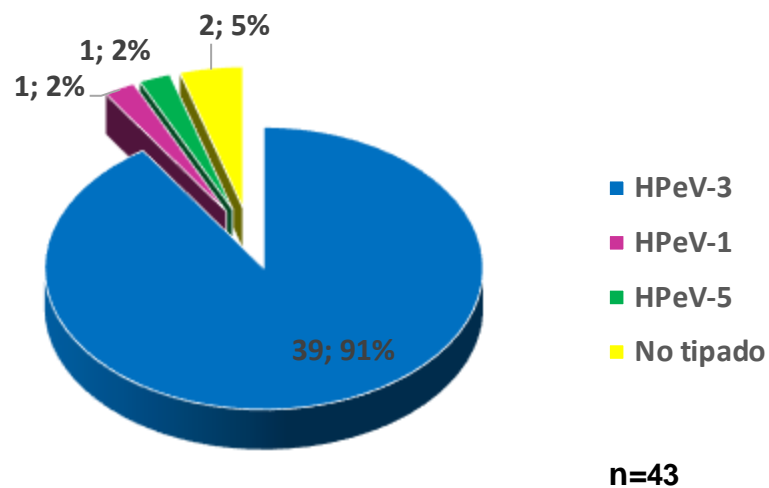


Figura 33. Tipos de HPeV identificados (número de episodios y porcentaje)

El serotipo de EV identificado más frecuentemente fue el E-16 (49/404; 12,1%), seguido del E-6 (37/404; 9.2%) y del E-18 (23/404; 5,7%). Los coxackievirus A y B, en conjunto, también fueron frecuentes, como puede verse en el gráfico, y 69 de los EV (17%) no pudieron ser tipados (Figura 34).

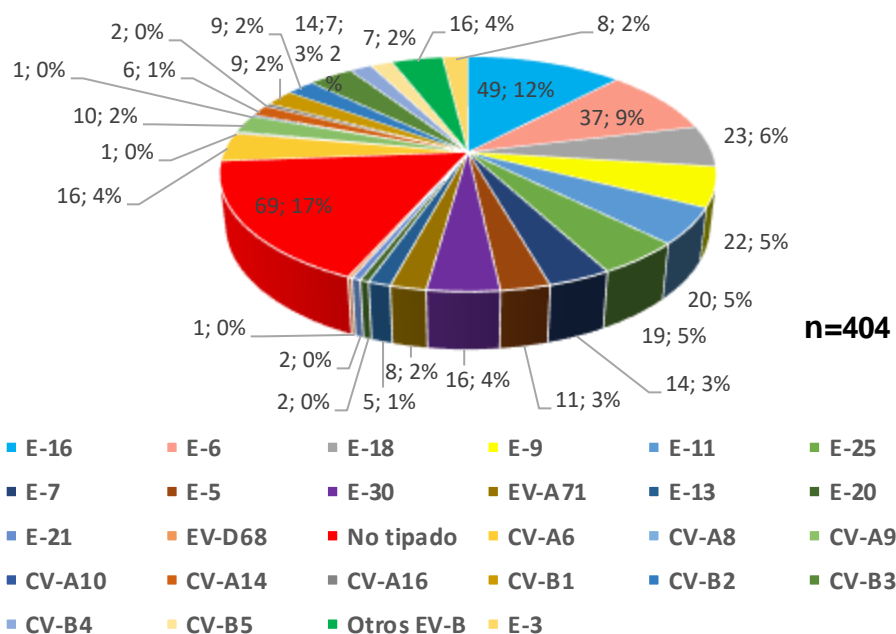


Figura 34: Serotipos de EV identificados (número de infecciones y porcentaje respecto al total)

2.5 Otros estudios microbiológicos

Se dispuso de datos de hemocultivo de 472 pacientes de los cuales 24 salieron positivos (5,1% del total). En ninguno de los pacientes con hemocultivo positivo se detectaron HPeV y sólo 3 tenían una infección por EV (0.7% de las infecciones por EV). Estas 3 coinfecciones EV-bacteria fueron con *Enterococcus faecalis*, *Pasteurella multocida* y *Acinetobacter Baumannii*, respectivamente.

En 79 pacientes se recogió aspirado nasofaríngeo para realizar estudio de virus respiratorios, observándose coinfección en 1 paciente HPeV-positivo (2,3% del total) y en 7 casos con infección por EV (1,7% de total) (Tabla 13).

Tabla 13. Resultado de coinfecciones bacterianas o con virus respiratorios en los pacientes infectados por EV o HPeV.

Valor	HPeV	EV	Negativo	Total
Hemocultivo				
Positivo	0	3	21	24
Negativo	33	194	178	404
Aspirado nasofaríngeo				
Rinovirus	1	5	5	11
VRS	0	0	1	1
Infección múltiple	0	2	0	2
Negativo	4	18	28	50

3. INFECCIONES POR PARECHOVIRUS

3.1 Pacientes HPeV-positivos

De los 846 pacientes incluidos en el estudio, se identificaron 43 casos de infección por HPeV (5%). De 42 se disponía de datos clínicos completos.

La mediana de edad de los niños con infección por HPeV fue de 23 días (RIQ 12-42) (Figura 35). 41 casos fueron menores de tres meses (95,5%), de los cuales 25 se encontraban en el periodo neonatal (58,1% del total). Los 2 casos restantes tenían 3 meses y medio y 33 meses, siendo este último el único con infección por el tipo HPeV-1.

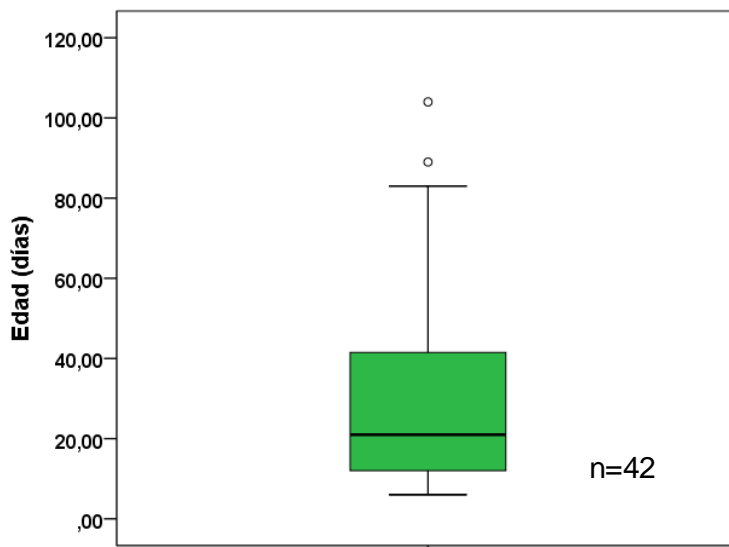


Figura 35. Edad (días) de los pacientes con infección por HPeV
Nota: Se excluye del gráfico el caso de 33 meses

El 53,5% de los pacientes HPeV-positivos eran varones (23/43) (Figura 36)

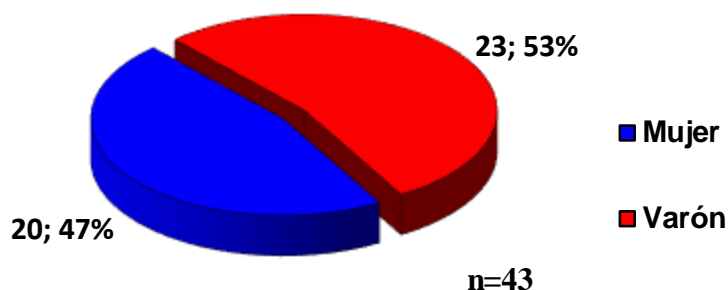


Figura 36. Distribución por sexo en los pacientes con infección por HPeV (nº de pacientes y porcentaje).

3.2 Antecedentes personales

Cinco pacientes presentaban antecedentes patológicos en el momento de la infección con HPeV (11,6%): 2 tuvieron retraso del crecimiento intrauterino, 1 enfermedad celiaca (el paciente con infección a los 33 meses), 1 con reflujo vesicoureteral y 1 con malformación ortopédica (Tabla 14).

Tabla 14. Patología de base en pacientes con infección por HPeV (Número de casos y % con respecto al total de pacientes HPeV-positivo con patología).

Tipo de patología	HPeV	%
Digestiva	1	20
Celiacía	1	
Nefrológica	1	20
Reflujo vesicoureteral	1	
Trauma y ortopedia	1	20
Talos valgos	1	
Otras	2	40
RCIU	2	
Total	5	

RCIU: retraso del crecimiento intrauterino

Un paciente (2,3%) fue prematuro, de 36 semanas, y el 80% estaban recibiendo lactancia materna (32/40) en el momento de la infección. Sólo un paciente acudía a guardería (2,3%) (Figura 37).

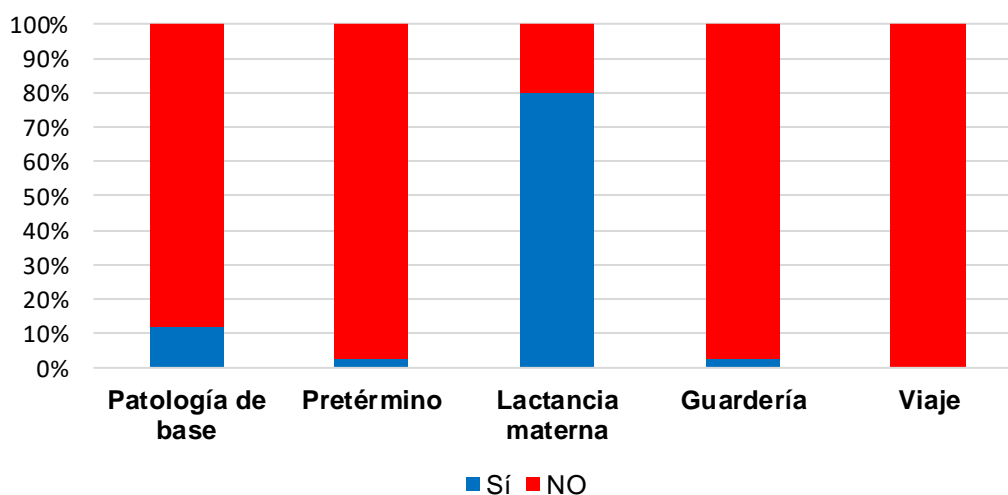


Figura 37. Antecedentes personales en pacientes con infección por HPeV

3.3 Manifestaciones clínicas

Las manifestaciones clínicas más frecuentes en los pacientes HPeV-positivos fueron fiebre (43/43; 100% de los casos), irritabilidad (12/31; 38,7%), exantema (8/42; 19%) y síntomas gastrointestinales (6/42; 14,3%) (tabla 15).

Tabla 15. Manifestaciones clínicas de los pacientes con infección por HPeV.

Manifestación clínicas	Casos	%
Fiebre	43/43	100%
Irritabilidad	12/32	37,5%
Aspecto séptico	12/42	28,6%
Exantema	8/42	19,0%
Síntomas gastrointestinales	6/42	14,3%
Meningismo	2/42	4,8%
Convulsiones	2/42	4,8%
Síntomas catarrales	1/42	2,4%
Conjuntivitis	1/42	2,4%
Dificultad respiratoria	1/42	2,4%
Alteración de conciencia	1/42	2,4%

3.4 Diagnóstico clínico

Los diagnósticos clínicos definitivos de los pacientes con infección por HPeV fueron FSF (26/43; 60.5%), sepsis clínica (12/43; 27,9%), GEA (3/43; 7%), y encefalitis (1/43; 2,3%) (Figura 38). En un caso no constaba el diagnóstico.

En relación al diagnóstico clínico, no se encontraron diferencias significativas en el grupo de neonatos respecto a los mayores de 28 días ($p=,440$) (Figura 38).

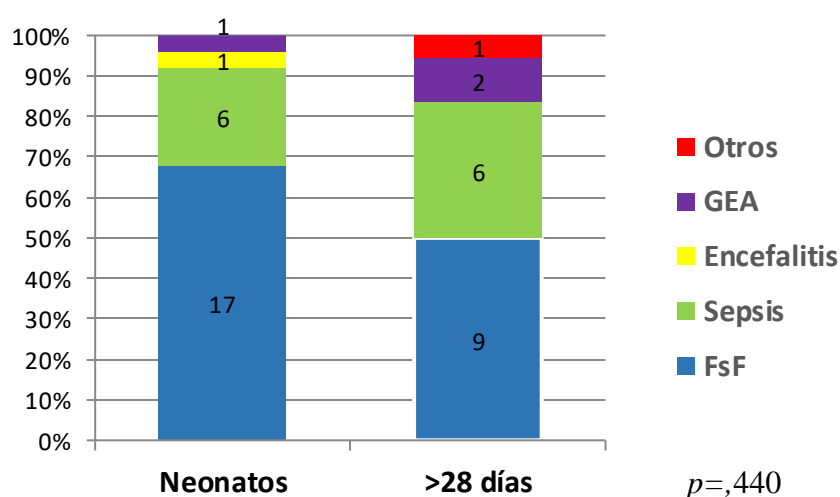


Figura 38. Diagnóstico clínico en las infecciones por HPeV (porcentaje en eje Y y valores absolutos en las columnas)
FSF: Fiebre sin foco. GEA: Gastroenteritis Aguda.

3.5 Determinaciones analíticas

Se dispuso de datos analíticos de 40 pacientes. Los resultados de los hemogramas mostraban 3.200-27.020 leucocitos/mm³ (mediana 7250; RIQ 5275-9245), con 7-87,8% de neutrófilos (media 47,1%; DE 17,9) y 7,1-77,8 %

linfocitos (media 38,2; DE 18,5), los valores de hemoglobina estaban entre 8,4 y 18,3 g/dL (media 12,8; DE 2,85), y los de las plaquetas entre 67000 y 451000 células/mm³ (media 283875; DE 106196). El rango de la PtCR era de entre 0.03 y 5 mg/dL (media 1,1; DE 1,15) y el de la PCT entre 0,01 y 2,9 ng/mL (mediana 0,2; RIQ 0,1-0,3). Se observó elevación de las transaminasas en 5/42 pacientes (11,9%). El LCR mostraba una celularidad entre 0 y 18 células/mm³ (mediana 2; RIQ 0-5,5), con 40-71 mg/dL de glucosa (media 55,5; DE 7,4), y 14-411 mg/dL de proteínas (mediana 50; RIQ 36,2-66,7). Sólo en 2 casos constaba el porcentaje de neutrófilos en el LCR, que era de 17 y 28%, respectivamente.

3.6 Tratamiento

De los que se disponía el dato (39), un total de 31 pacientes con infección por HPeV (79,5%) recibieron algún tipo de tratamiento antibiótico (Figura 39).

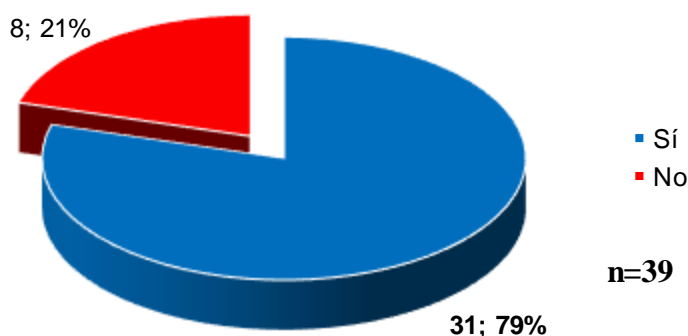


Figura 39: Nº (y porcentaje) de pacientes HPeV-positivos que recibieron tratamiento antibiótico.

Además, 10/39 pacientes (25,6%) precisaron ingreso en UCI, con un tiempo medio de estancia de 2,14 días (DE 1,07), con un mínimo de 1 día y un

máximo de 4 días (Figura 40). Nueve de los pacientes que ingresaron en la UCIP eran neonatos. Sólo un paciente precisó ventilación mecánica (2,7%).

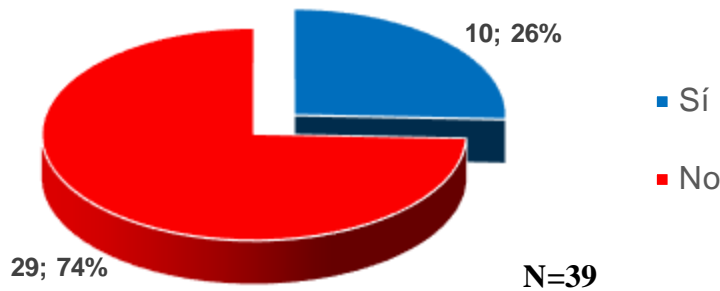


Figura 40. Nº (y porcentaje) de pacientes HPeV-positivos que ingresaron en UCI.

No se encontraron diferencias significativas entre haber recibido tratamientos (antibiótico, UCI, ventilación mecánica) y los diferentes diagnósticos clínicos (Figura 41).

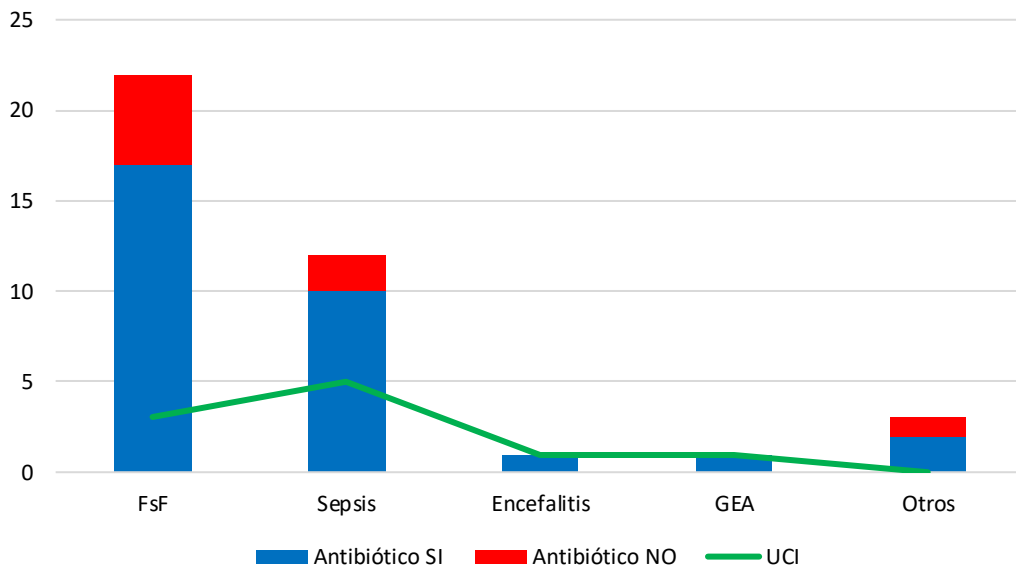


Figura 41. Tratamientos recibidos según el diagnóstico clínico en las infecciones por HPeV (Diagrama de barras: antibiótico si/no; Línea: ingreso en UCI)
 Fsf: Fiebre sin foco GEA: Gastroenteritis aguda

3.7 Evolución a corto plazo

La mediana de la duración del ingreso de los niños infectados por HPeV fue de 5 días (RIQ 3-7), con un mínimo de 1 día y un máximo de 95 días.

En la valoración a corto plazo (previa al alta) sólo un paciente presentó secuelas. Se trataba de un paciente con meningoencefalitis, que fue dado de alta con persistencia de actividad epileptiforme en el electroencefalograma. Ningún paciente con infección por HPeV falleció.

3.8 Evaluación del desarrollo psicomotor

Se realizó una valoración a medio plazo a 15 pacientes con detección de HPeV en LCR en el momento agudo. Se les aplicó el test ASQ cuando había pasado al menos un año de la infección por HPeV. La edad media en el momento del ingreso de estos pacientes fue de 23,6 días (DE 15,1) y en el momento de la valoración fue de 23,7 meses (DE 11,3). El tiempo transcurrido desde el ingreso hasta la valoración osciló entre 12 y 43,5 meses (mediana 18; RIQ 15-38,4). Eran 8 varones y 7 mujeres, con diagnóstico de FSF (7/15; 46,7%), sepsis clínica (7/15; 46,7%), y gastroenteritis aguda (1/15; 6,7%). Catorce pacientes habían tenido infección por el HPeV-3. Se pasó el cuestionario apropiado para la edad de cada paciente, obteniéndose resultados normales en las escalas de comunicación, resolución de problemas y social en todos los pacientes. Tres pacientes presentaban resultados en el límite de la normalidad en las escalas motoras: un paciente en las escalas motora gruesa y fina, uno sólo en la motora gruesa y otro en la motora fina. Estos tres pacientes

fueron incluidos en un programa de seguimiento. Se puede ver un resumen de los resultados del test ASQ en la Tabla 16.

Tabla 16. Resumen de resultados del test ASQ-3 en los 15 pacientes estudiados

Nº	EI(días)	EE(meses)	Diagnóstico	C	MG	MF	RP	S
1	22	22	GEA	N	N	N	N	N
2	19	42	FSF	N	N	N	N	N
3	17	12	FSF	N	N	N	N	N
4	13	15	FSF	N	N	N	N	N
5	11	29	Sepsis	N	N	N	N	N
6	16	18	FSF	N	N	N	N	N
7	8	14	Sepsis	N	N	V	N	N
8	28	12	Sepsis	N	N	N	N	N
9	8	18	Sepsis	N	N	N	N	N
10	51	36	Sepsis	N	V	N	N	N
11	56	18	FSF	N	N	N	N	N
12	14	42	FSF	N	N	N	N	N
13	32	18	Sepsis	N	N	N	N	N
14	18	42	FSF	N	N	N	N	N
15	41	18	Sepsis	N	V	V	N	N

El: edad al ingreso; EE edad de la evaluación; C: comunicación; MG: motor grueso; MF motor fino; RP: resolución de problemas; S: social; N: normal; V: vigilar. GEA: gastroenteritis aguda; FSF: fiebre sin foco.

Un paciente (nº 5) presentó una hipotonía en la exploración neurológica pero sin alteraciones en las escalas motoras del test. El paciente nº 15, en el que se observó una alteración motora gruesa y fina, presentó una hemiparesia derecha leve durante el seguimiento, observándose en la neuroimagen una asimetría ventricular con aumento de tamaño del asta frontal izquierda. A los 18 meses, el desarrollo cognitivo era normal y había iniciado la deambulaci3n.

4. INFECCIONES POR ENTEROVIRUS

4.1. Pacientes EV-positivos

Fueron positivas 406 muestras correspondientes a 404 episodios diferentes (en 2 episodios se recogieron 2 muestras). Un paciente había presentado un episodio previo de fiebre sin foco que fue también incluido en el estudio con resultado positivo en el aspirado nasofaríngeo para gripe A, y negativo para EV y HPeV. Otro paciente presentó un episodio posterior de fiebre sin foco con resultado negativo para EV y HPeV.

La mediana de edad en el grupo de niños con infección por EV fue de 36 días (RIQ 18,5-91), siendo 304/404 menores de 3 meses (75,2%) y 164/404 neonatos (40.6%) (Figura 42).

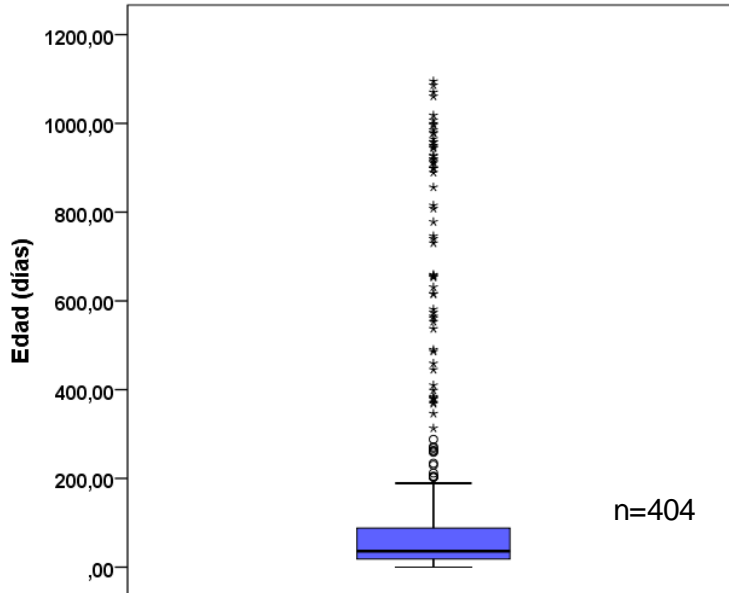


Figura 42. Edad (días) de los pacientes con infección por EV

El 60% de los pacientes EV-positivos eran varones (242/404) (Figura 43).

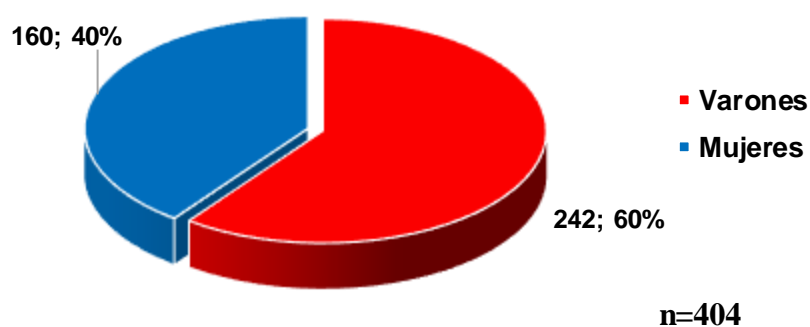


Figura 43. Distribución por sexo de los pacientes con infección por EV (nº y porcentaje).

4.2 Antecedentes personales

De los 404 pacientes con infección por EV, 24 tenían alguna patología previa (5,9%), siendo las más frecuentes las neurológicas (5 casos, 20%), respiratoria (4 casos, 16%), y digestiva (3 casos, 12%) (Tabla 17).

Tabla 17. Patología de base en niños con infección por EV (Número de casos y % con respecto al total de pacientes EV-positivo con patología)

Tipo de patología	Nº	%
Neurológica	5	20
Convulsiones/epilepsia	1	
Encefalopatía neonatal	1	
Enf. Neuromuscular	1	
Otros	2	
Respiratoria	4	16
Neumotórax	1	
Apneas	2	

**INFECCIONES PEDIÁTRICAS POR PARECHOVIRUS.
ESTUDIO PROSPECTIVO Y MULTICÉNTRICO DE ÁMBITO NACIONAL.
COMPARACIÓN CON INFECCIONES POR ENTEROVIRUS**

Asma	1	
Digestiva	3	12
RGE	1	
Trasplante hepático	1	
Atresia esofágica	1	
Nefrológica	1	4
Reflujo vesicoureteral	1	
Hematológica	2	8
Alt. coagulación	1	
Anemia	1	
Oncológica	1	4
Neuroblastoma	1	
Trauma y ortopedia	2	8
Displasia de cadera	2	
Alergia	2	8
APLV	2	
Otras	4	16
Total	25	

RGE: reflujo gastroesofágico. APLV: alergia a proteínas de leche de vaca

El 5,7% de los pacientes eran prematuros (23/403), y el 76,1% recibían lactancia materna (185/243). Acudían a guardería 16/239 pacientes (6,7%). Sólo 2/228 pacientes habían realizado un viaje reciente (0,9%)(Figura 44).

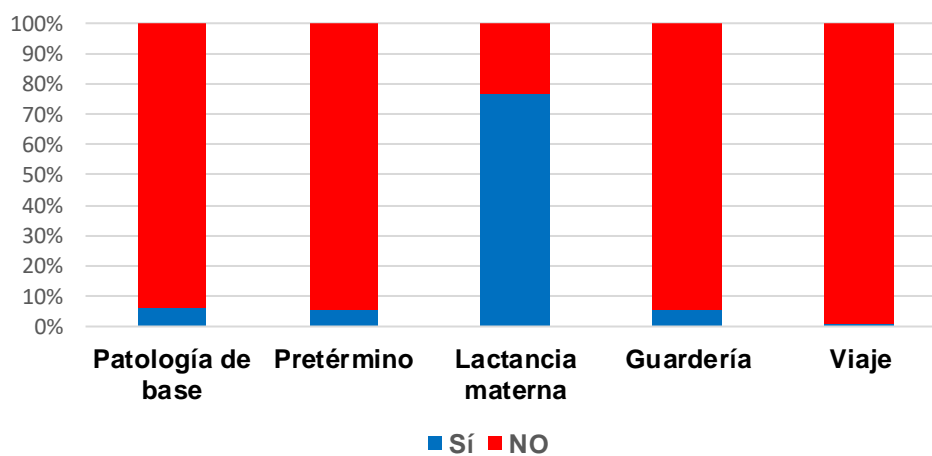


Figura 44. Antecedentes personales en pacientes con infección por EV

4.3 Manifestaciones clínicas

Las manifestaciones clínicas más frecuentes fueron la fiebre (255/272; 93,8% de los casos), seguido de irritabilidad (56/192; 29,2%), meningismo (76/272; 28%), síntomas catarrales (62/271; 22,9%), exantema (41/273; 15%) y síntomas digestivos (31/272; 11,4%) (Figura 45).

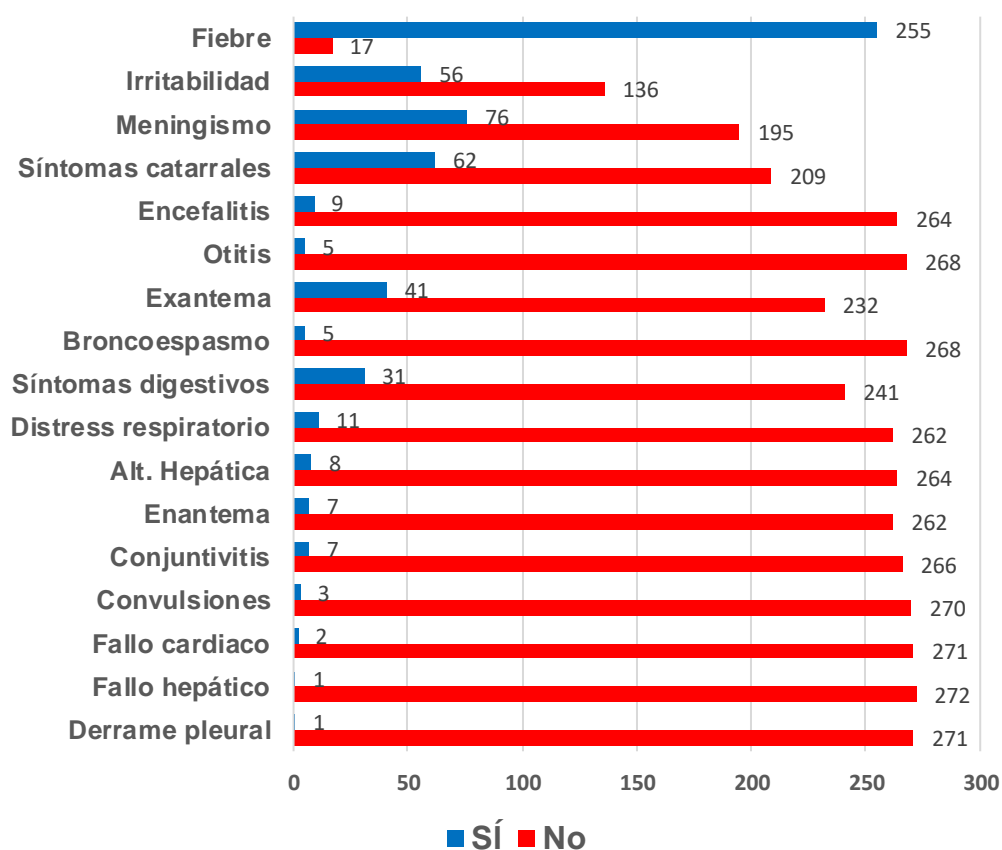


Figura 45. Manifestaciones clínicas de los pacientes con infección por EV (se indica el nº de pacientes)

4.4 Diagnóstico clínico

Los diagnósticos clínicos finales más frecuentes fueron FSF (205/404 casos; 50,7%) y meningitis (114/404, 28,2%). Se diagnosticaron de sepsis 16 pacientes (4%) y 3 de encefalitis (0,7%) (Figura 46).

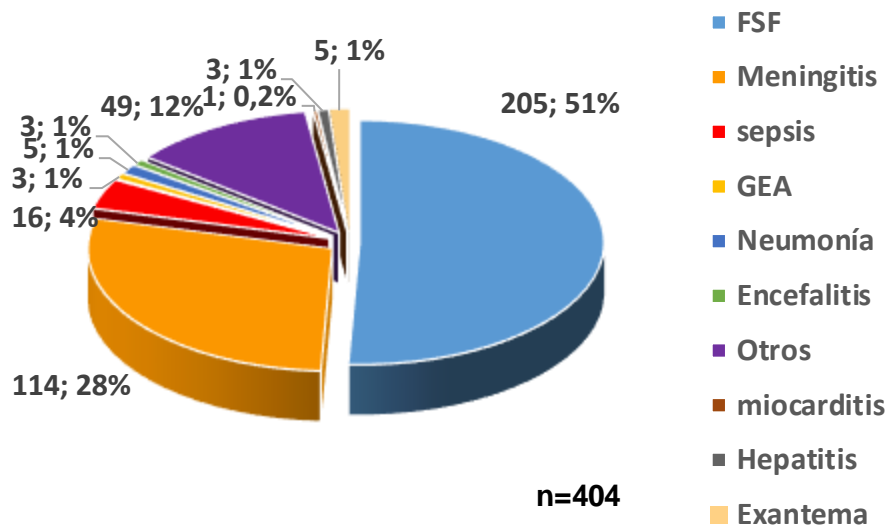


Figura 46. Diagnóstico clínico en los pacientes con infección por EV (nº de pacientes y porcentaje). FSF: fiebre sin foco; GEA: gastroenteritis aguda.

Entre los pacientes con FSF, los tipos más frecuentes fueron el E-16 (32/205; 15,6%), el E-25 (16/205; 7,9%) y el E-18 (15/205; 7,3%). En los pacientes con meningitis, los tipos más frecuentes fueron el E-6 (20/114; 17,8%), y el E-5 y E-30 (9/105; 8,6% cada uno).

Globalmente, los EV de la especie A se han presentado con más frecuencia como FSF (18/34; 52,9%), mientras que en las meningitis los EV detectados con más frecuencia han sido los de la especie B (90/114; 78,9%) (Figura 47).

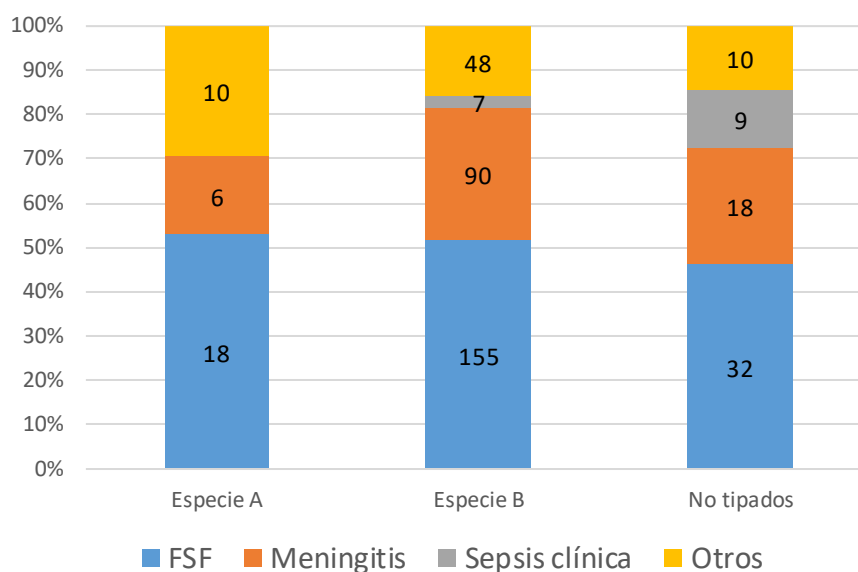


Figura 47. Frecuencia de los diferentes tipos de EV por especie según los diagnósticos más frecuentes (% del grupo de virus en Eje Y, número de casos sobre la columna). Especie A incluye los CV-A y el EV-A71. Especie B incluye los echovirus, CV-B y CV-A9. Se excluye el único caso de EV-D68.

FSF: fiebre sin foco; CV-A: coxsackievirus A; CV-B: coxsackievirus B; EV: enterovirus

4.5 Determinaciones analíticas

Los datos bioquímicos y sanguíneos del grupo de pacientes EV-positivos mostraban valores de 1850-32000 leucocitos/mm³ (mediana 9050; RIQ 6775-12310), con un 11-88% de neutrófilos (media 5,3; DE 16,3) y 6-81,3 % linfocitos (media 37,6; DE 14,4). La hemoglobina era de entre 7,4 y 19,6 g/dL (mediana 12,6; RIQ 11,2-14), y las plaquetas entre 485.000 y 660000 células/mm³ (media 369.385, DE 106196). Los RFA mostraban unos valores de PtCR entre 0,01 y 28,56 mg/dL (mediana 1, RIQ 0,4-2,9) y de PCT entre 0,01 y 14 ng/mL (mediana ,17: RIQ 0,1-0,35). Los LCR mostraban entre 0 y 6000 células/mm³ (mediana 16, RIQ 5-130), con 31-90 mg/dL de glucosa (media 53,1; DE 1,7) y

14-764 mg/dL de proteínas (mediana 60; RIQ 42-85). El porcentaje de neutrófilos era entre 0 y 95% (media 5,3; DE 31,1).

4.6 Tratamiento

Se dispuso de datos del tratamiento recibido en 250 pacientes con infección por EV. Recibieron tratamiento antibiótico 166/250 pacientes (66,4%) (Figura 48) y precisaron ingreso en UCIP 24/250 (9,6%) (Figura 49), con una duración media de 9,33 días (DE 1,8). Ocho pacientes precisaron ventilación mecánica.

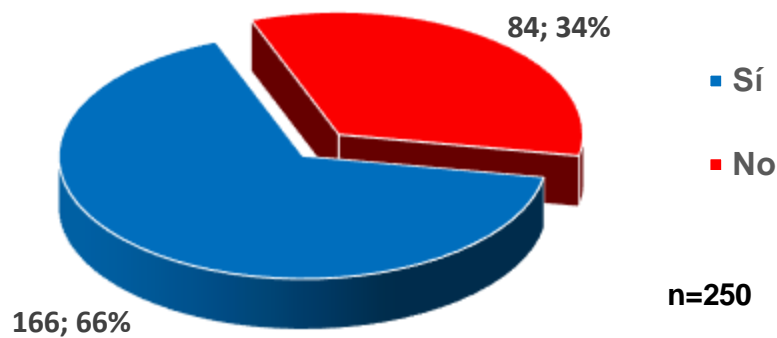


Figura 48. Utilización de antibiótico en pacientes EV-positivos (nº de pacientes y porcentaje)

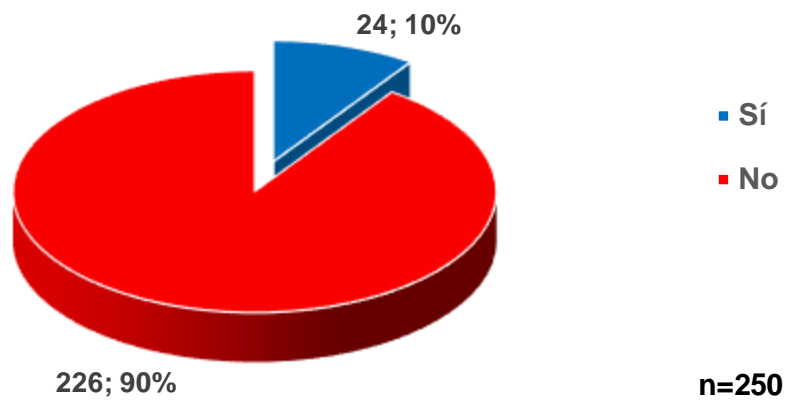


Figura 49. Ingreso en UCI en pacientes con EV (nº de pacientes y porcentaje)

Se encontró asociación significativa entre el diagnóstico de sepsis y el uso de antibióticos ($p=,008$), el ingreso en UCI ($p<,001$) y la necesidad de ventilación mecánica ($p<,001$) (Figura 50).

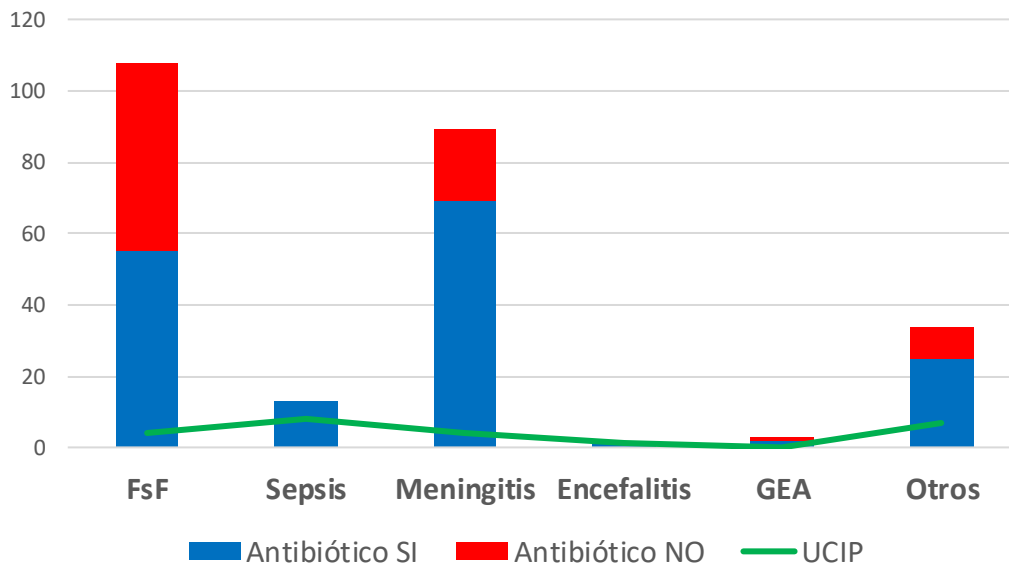


Figura 50. Tratamientos recibidos según el diagnóstico clínico en las infecciones por EV (Diagrama de barras: antibiótico si/no; Línea: ingreso en UCIP)
 FSF: Fiebre sin foco GEA: Gastroenteritis Aguda

4.7 Evolución a corto plazo

Ningún paciente infectado con EV falleció. Sólo 2 pacientes presentaban secuelas en el momento del alta, uno con aneurismas coronarios (diagnosticado de Enfermedad de Kawasaki atípica) y otro con insuficiencia cardíaca grave pretransplante (diagnosticado de miocarditis por CV-B4).

5. COMPARACIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS EPIDEMIOLÓGICAS Y CLÍNICAS DE LAS INFECCIONES POR ENTEROVIRUS Y PARECHOVIRUS

Se realizó un análisis comparativo entre el grupo de los pacientes con infección por HPeV y el grupo con infección por EV, con el fin de establecer si existen características específicas de la infección por HPeV.

5.1 Características epidemiológicas

Se observaron diferencias significativas en la edad de los niños, con menor edad en el grupo con infección por HPeV (mediana 23 días (RIQ 12-42) vs. 36 días (RIQ 18,5-91), $p=,016$) (Fig. 51).

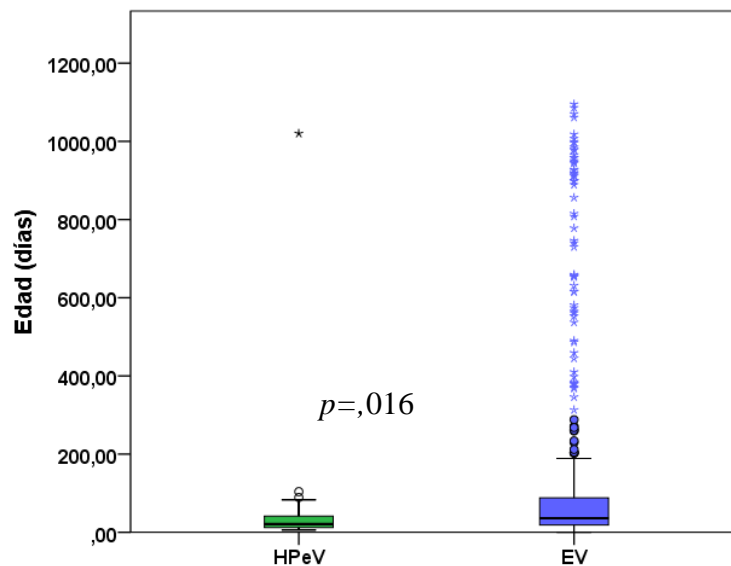


Figura 51. Edad (en días) de los pacientes en las infecciones por HPeV y por EV

Otras variables como el sexo, prematuridad, lactancia materna, asistencia a guardería y la realización de viajes previos, también se analizaron y compararon, pero no se encontraron diferencias significativas (Figura 52).

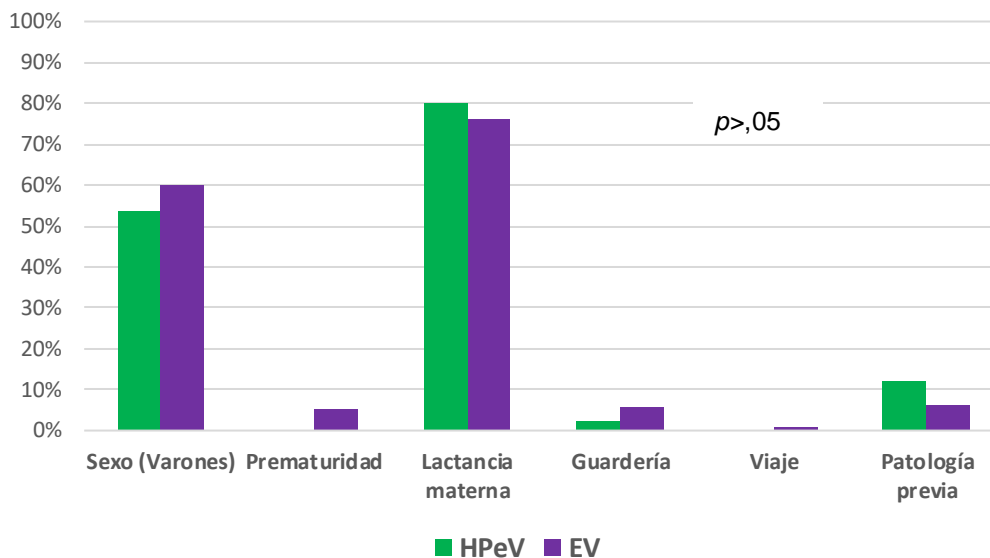


Figura 52. Frecuencia (%) de los diferentes antecedentes personales en los dos tipos de infección, por HPeV y por EV.

5.2 Manifestaciones clínicas

Cuando se compararon los síntomas clínicos en ambos grupos, se observó la presencia de meningismo en 76/272 niños con infección por EV (28%) y sólo en 2/42 niños con infección por HPeV (4,8%), lo que resultó estadísticamente significativo ($p=,005$). También hubo diferencias significativas con presentar o no síntomas catarrales, ya que éstos se observaron en 62/271 niños con infección por EV (22,9%) y en 1/42 de los niños con infección por HPeV (2,4%) ($p=,002$) (Figura 53).

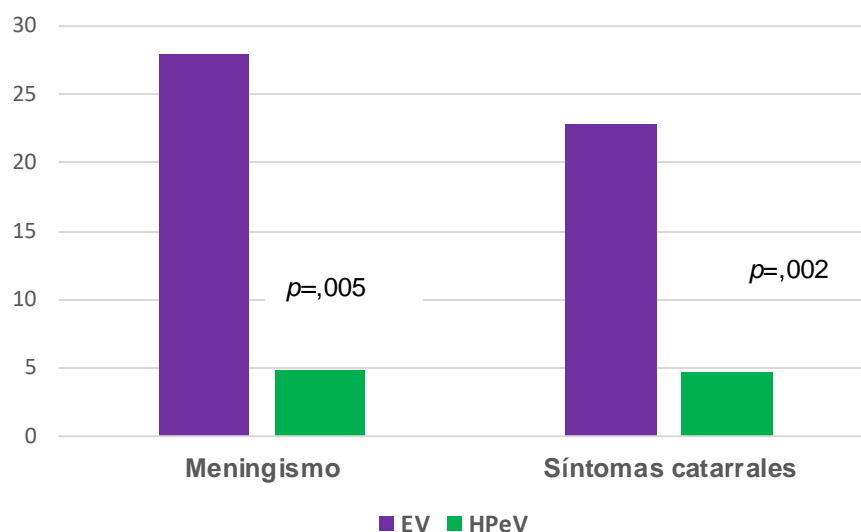


Figura 53. Frecuencia (%) de meningismo y síntomas catarrales en los pacientes HPeV y EV-positivos

No se encontraron diferencias significativas entre los pacientes HPeV y EV-positivos en la frecuencia de presentar fiebre (43/43 vs. 255/272), irritabilidad (12/32 vs. 56/192), encefalitis (1/42 vs. 9/273), otitis (0/42 vs. 5/273), broncoespasmo (1/42 vs. 5/273), síntomas gastrointestinales (6/42 vs. 31/272), exantema (8/42 vs. 41/273), enantema (1/42 vs. 7/271) o conjuntivitis (1/42 vs. 7/271) (Figura 54).

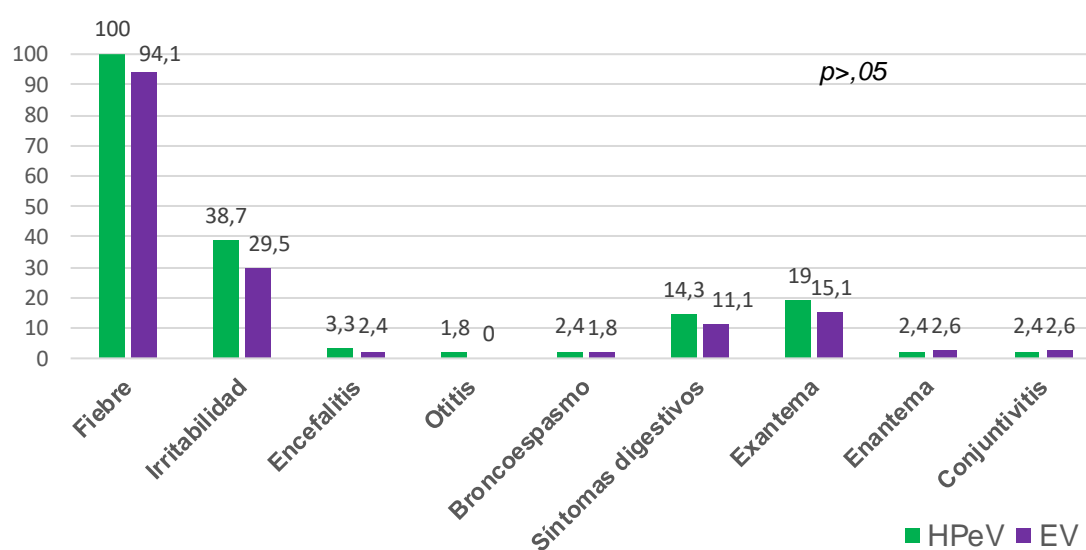


Figura 54. Frecuencia (%) de diferentes manifestaciones clínicas en los grupos HPeV y EV-positivos.

En el grupo de infecciones por HPeV fue más frecuente la clínica de sepsis que en los niños EV-positivos (12/42 vs. 16/272; $p<,001$). También la elevación de transaminasas fue significativamente mayor en los pacientes HPeV-positivos (5/42 vs. 8/272; $p=,007$) (Fig. 55).

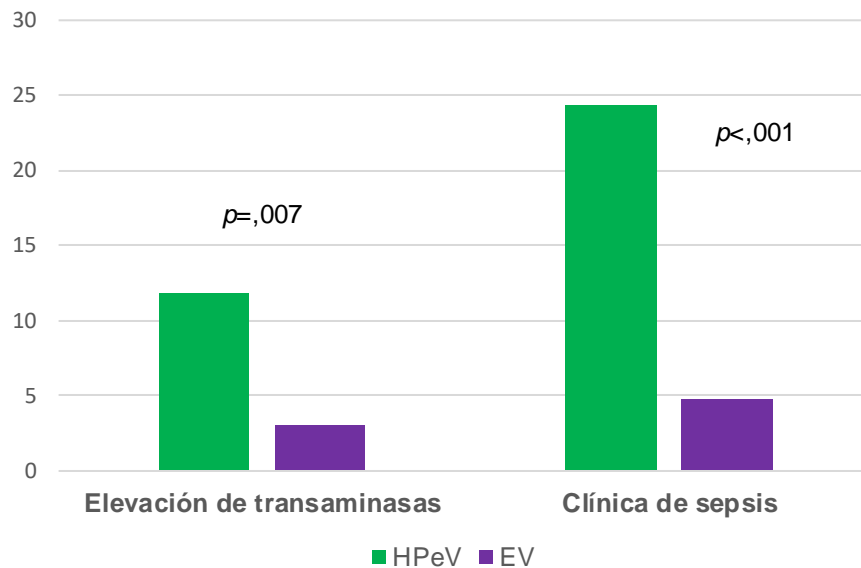


Figura 55. Frecuencia de la elevación de transaminasas y de clínica de sepsis en las infecciones por HPeV y por EV

No se encontraron diferencias significativas en la frecuencia de presentar miopericarditis (0/42 vs 2/273; $p=,576$), convulsiones (2/42 vs. 3/273; $p=,079$), distrés respiratorio (1/42 vs. 11/273; $p=,598$), fallo hepático (0/42 vs. 1/273; $p=,693$), fallo cardiaco (0/42 vs. 2/273; $p=,576$) o derrame pleural (0/42 vs. 1/272; $p=,693$) (Figura 56).

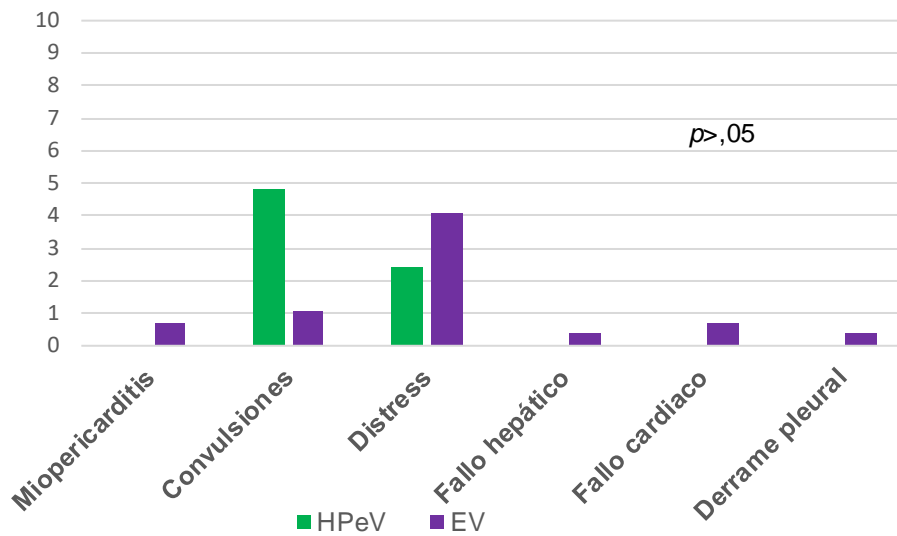


Figura 56. Frecuencia (%) de diferentes complicaciones en los pacientes HPeV y EV-positivos

5.3 Diagnóstico clínico

Con respecto al diagnóstico clínico final, el de sepsis fue significativamente más frecuente en el grupo de infección por HPeV (12/43 vs. 16/404; $p < ,001$), mientras que el de meningitis lo fue en el grupo de infección por EV (0/43 vs. 114/404; $p < ,001$) (Figura 57). No se encontraron diferencias con con el de FSF o con otros diagnósticos menos frecuentes.

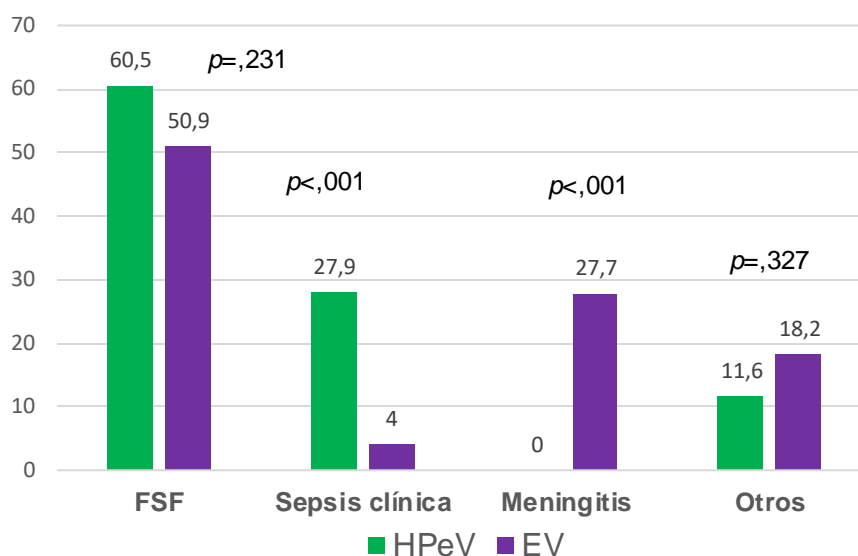


Figura 57. Frecuencia (%) de los diferentes diagnósticos clínicos en los pacientes con infección por HPeV y EV
 FSF: fiebre sin foco.

5.4 Determinaciones analíticas

Se encontraron diferencias significativas en el número de leucocitos totales, que fue más elevado en el grupo de los EV-positivos (9050 vs. 7250 leucocitos/mm³, $p=,001$) (Figura 58). Las plaquetas también eran más elevadas en el grupo de las infecciones por EV (283875 vs. 336938 plaquetas/mm³, $p=,009$) (Fig 59). No se observaban diferencias significativas en los valores de los RFA. Sin embargo, la elevación de las transaminasas fue más frecuente en el grupo de los HPeV-positivos (5/42 vs. 8/271; $p=,007$).

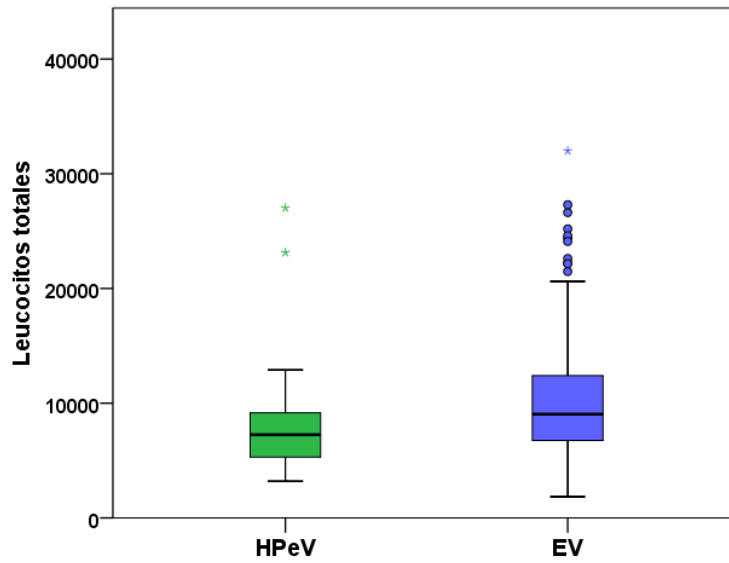


Figura 58. Valores de leucocitos (células/mm³) en las infecciones por HPeV y por EV

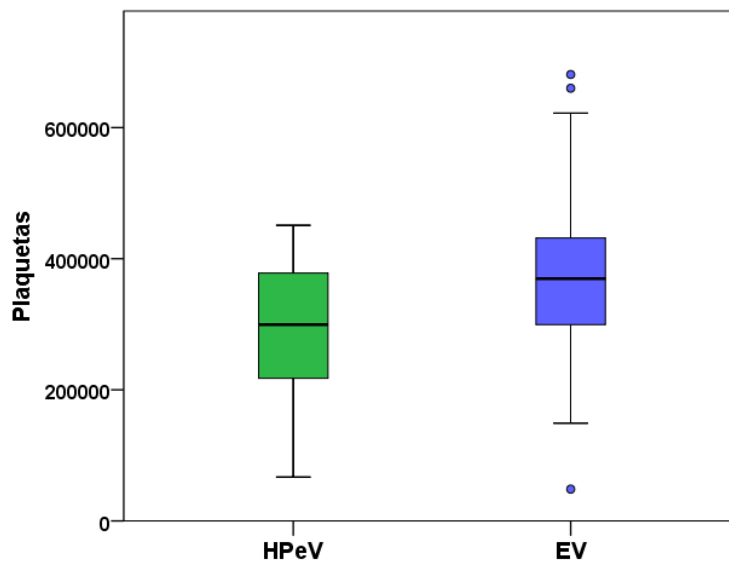


Figura 59. Valores de plaquetas (células/mm³) en las infecciones por HPeV y por EV.

Se observaron también diferencias significativas en el número de células en el LCR, observándose mayor leucorraquia en el grupo de los EV-positivos, tanto en el valor total (mediana 15 leucocitos/mm³ (RIQ 5-129,8) vs. 2 (RIQ 0-

5,5), $p<,001$), como si consideramos la presencia o no de leucorraquia (51,4% vs. 6,1%; $p<,001$) (Figura 60). No se encontraron diferencias significativas en los valores de glucosa, proteínas, o porcentaje de PMN en LCR (Tabla 18).

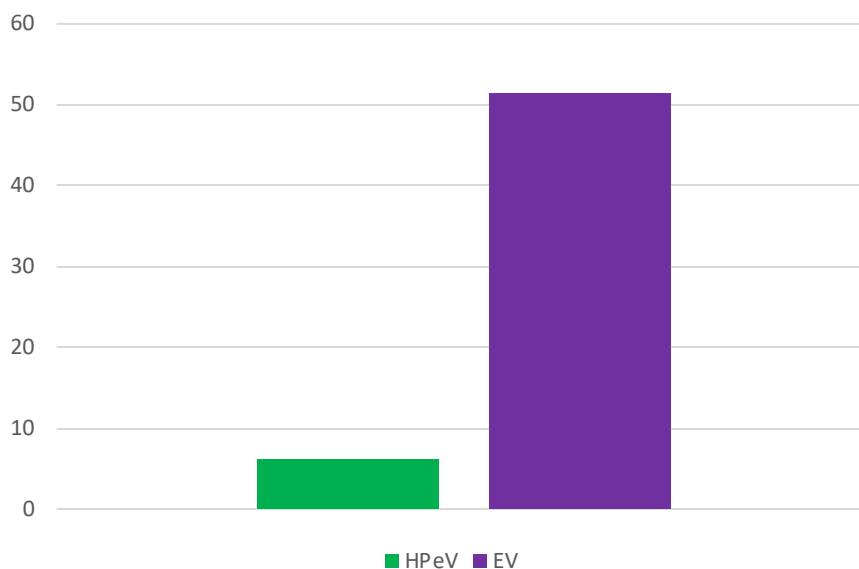


Figura 60: Presencia de pleocitosis en los pacientes HPeV y EV-positivos (porcentaje)

Tabla 18. Comparación de las-determinaciones analíticas en los grupos de pacientes HPeV y EV-positivos

Valor	HPeV mediana (RIQ)	EV mediana (RIQ)	Significación
SANGRE			
Leucocitos (n°/mm ³)	7250 (5275-9245)	9050 (6725-12490)	P=,019
PMN (%)	45 (36,6-59,3)	50 (39,2-60,2)	P=,275
Linfocitos (%)	37,2 (24,3-47,1)	37,1 (27,8-46,8)	P=,708
Hemoglobina (g/dL)	11,8 (10,7-15,5)	12,6 (11,2-14)	P=,059
Plaquetas (n°/mm ³)	299500 (209750-381000)	369500 (299250- 432750)	P=,009
PtCR (mg/dL)	0,68(0,24-1,41)	1(0,4-2,9)	P=,107
PCT (ng/mL)	0,2 (0,11-’,3)	0,17(0,1-0,35)	P=,348
LCR			
Proteínas (mg/dL)	50 (36,2-66,7)	60 (42-85)	P=,281
Glucosa (mg/dL)	56 (50-61,7)	52 (46-58,8)	P=,070
Células (n°/mm ³)	2 (0-5,5)	16 (5-130)	P=,102
PMN (%)	22,50	54 (23-80)	P=,203
Pleocitosis (%)	6,1	51,4	P<,001

RIQ: rango intercuartílico; PtCR: proteína C reactiva; PCT: procalcitonina; PMN: polimorfonucleares

5.5 Tratamiento y evolución

En cuanto a la necesidad de antibioterapia, no existieron diferencias significativas, ya que fue indicada en 31/39 pacientes con infección por HPeV (79,5%) y 166/250 pacientes con infección por EV (66,4%) ($p=,0103$). Sí existieron diferencias en la necesidad de ingreso en UCIP, que fue mayor en el grupo de los HPeV-positivos (10/29 vs. 24/250, $p=,004$). El tiempo medio de estancia en UCIP fue de 2,14 días (DE 1,1) en los HPeV-positivos frente a 9,33 días (DE 1.8) en las infecciones por EV ($p=,074$).

Un paciente HPeV-positivo precisó ventilación mecánica (2,7%) y 8 (3,3%) con infección por EV, sin existir diferencias significativas entre ambos grupos ($p=,847$) (Figura 61). Ningún paciente falleció. Sólo 1/42 paciente HPeV-positivo presentó secuelas en el momento del alta, frente a 2/202 con infección por EV ($p=,634$).

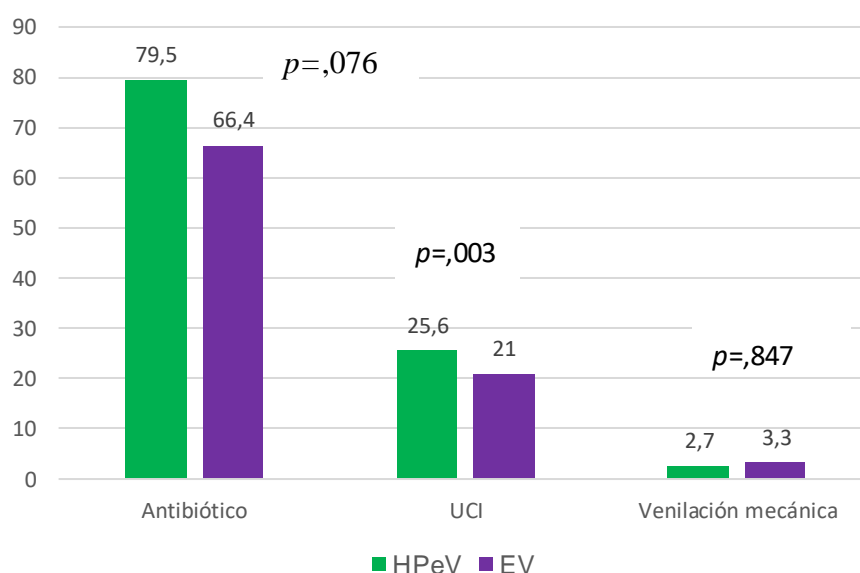


Figura 61. Frecuencia (%) en los diferentes tratamientos recibidos en los pacientes HPeV y EV-positivos.

V. DISCUSIÓN

Los virus son frecuentes agentes causales de infección en niños, especialmente en los menores de 3 años. Habitualmente se relacionan con cuadros banales, con clínica respiratoria o digestiva, pero también pueden producir cuadros de mayor gravedad, como meningitis, encefalitis o sepsis. La implicación de los enterovirus en estos cuadros es conocida desde hace años, ya que estos virus empezaron a identificarse a mediados del siglo XX. Desde la identificación de los *Parechovirus*, que ha ocurrido en los últimos 10-12 años, se ha ampliado el espectro de agentes responsables de estos cuadros en niños pequeños.

Hasta el momento de iniciar esta tesis doctoral sólo existía un estudio unicéntrico en nuestro país que investigase la presencia de los parechovirus en infecciones pediátricas¹⁴². El objetivo de esta tesis ha sido estudiar la epidemiología de los parechovirus mediante la realización de un estudio multicéntrico a nivel nacional durante un periodo de 3 años, describiendo además las características clínicas de las infecciones por estos virus, y comparándola con las de las infecciones por enterovirus, con los cuales mantienen muchas similitudes a nivel genómico y patogénico, pero también algunas diferencias.

El conocimiento de las características clínicas y epidemiológicas de los parechovirus es importante para poderlos incluir en el diagnóstico diferencial de las infecciones graves del lactante y niño pequeño y mejorar, así, el abordaje clínico y el manejo terapéutico de estos pacientes.

1. INFECCIONES POR PARECHOVIRUS

Esa tesis doctoral recoge los resultados obtenidos en el primer estudio prospectivo multicéntrico realizado sobre la circulación y la epidemiología de los parechovirus humanos (HPeV) en España. Los criterios de inclusión de nuestro trabajo, seleccionando a pacientes con enfermedades graves (sepsis, meningitis, encefalitis, fiebre sin foco, miocarditis, o neumonía) han favorecido la detección del tipo 3 (HPeV-3) respecto a los demás tipos de HPeV, condicionando tanto los hallazgos clínicos como la epidemiología, que puede ser referida casi exclusivamente a HPeV-3.

Los 12 hospitales participantes pertenecen a 10 provincias diferentes en 9 Comunidades Autónomas, lo cual nos ha permitido conocer su distribución por todo el territorio nacional y evitar sesgos por la diferente climatología en las distintas regiones del país. En la serie analizada, hay 2 hospitales en los cuales no se han detectado casos de infección por HPeV, situados en Andalucía y Aragón. Sin embargo, posiblemente este hecho ha sido debido al escaso número de muestras procedentes de infecciones pediátricas enviadas desde éstos y no a una falta de circulación del virus en dichas regiones.

El estudio se desarrolló durante 3 años consecutivos, observándose una frecuencia mayor de infecciones en los años 2013 y 2015 y menor en 2014. Aunque el corto periodo del estudio (3 años) y el bajo número de detecciones de HPeV cada año no puede confirmar una distribución bienal del HPeV-3, este patrón de circulación ya había sido descrito previamente en Europa^{107,113,123}, sin que todavía se conozca la causa, ya que no parece estar relacionada con la aparición de variaciones o recombinaciones genéticas¹⁴⁴. Son necesarios

investigaciones con periodos de estudio más largos y un mayor número de pacientes para confirmar si realmente la circulación de HPeV-3 es bianual.

En cuanto a la distribución mensual, se observa una mayor frecuencia de casos en primavera y verano, especialmente en los meses de mayo y julio. Esta distribución concuerda con la observada en Francia por Schuffenecker et al.¹⁴⁵ y en Holanda por van der Sanden et al.¹²³ En el estudio holandés, realizado entre los años 2000 y 2007, describen una mayor incidencia de las infecciones por HPeV-3 en primavera y verano (especialmente en julio y agosto), mientras que la circulación de HPeV-1 disminuye en dichos meses. En otro estudio retrospectivo realizado en el Reino Unido entre 2005 y 2010¹¹⁵, también se observó un predominio de la infección por HPeV en primavera de años alternos. Sin embargo, hay publicaciones donde se describen distribuciones diferentes con predominio entre finales de verano y el otoño, como en el realizado por Piralla et al.¹⁴⁶, en el norte de Italia entre 2008 y 2010, el realizado por Fischer et al.¹⁴⁷ entre 2009 y 2012 en Dinamarca, o el de Selvarangan et al.¹⁴⁸ realizado entre 2006 y 2008 en Estados Unidos, todos con idénticos resultados. Se desconoce la razón de estas diferencias, pero probablemente esté relacionado con la diferente climatología o con que la vigilancia de estos virus no es todavía sistémica en la mayoría de los países.

La frecuencia de detección de HPeV en nuestra serie fue de un 5%, siendo en los menores de 3 meses del 6,5%, lo cual resulta algo superior a lo observado por Harvala et al.¹¹⁵ en Escocia, donde describen una incidencia de un 2,8% en este grupo de niños. El diferente diseño de ambos estudios podría explicar esta diferencia en la incidencia, ya que en el estudio aquí presentado sólo se incluyeron niños menores de 3 años y en el de Harvala et al, se estudió

un mayor número de muestras (>4000) procedentes de pacientes de todas las edades.

El 53,5% de nuestros pacientes eran varones, sin existir diferencias significativas en la distribución por sexos, como ocurre en la mayoría de las series previas^{146,149}, salvo en el estudio retrospectivo realizado por Benschop et al.¹¹³ entre 2000 y 2005, en el que sí existía un claro predominio de varones, con una proporción 9:1.

Ninguno de los pacientes incluidos en el estudio tenía alteraciones de la inmunidad susceptibles de favorecer la infección por HPeV. En la literatura disponible hasta el momento, las patologías de base que presentaban los pacientes (retraso del crecimiento intrauterino, alteraciones ortopédicas y reflujo vesicoureteral) no se han relacionado con una mayor predisposición a padecer infecciones.

El 80% de los pacientes estudiados recibían lactancia materna cuando se infectaron con HPeV. En 2015 Aizawa et al.¹⁵⁰ establecieron la importancia de los anticuerpos maternos en la protección al recién nacido, observando títulos bajos en sangre de cordón de neonatos con infección grave por HPeV, con aumento significativo de los niveles de anticuerpos en sangre a los 6 meses. Hasta donde sabemos, no hay estudios sobre la transmisión de anticuerpos frente a HPeV a través de la lactancia materna, pero parece razonable pensar que puede existir un efecto protector de la lactancia materna si la madre posee anticuerpos frente al HPeV. En nuestra serie, el 80% de los pacientes con infección por HPeV recibían lactancia materna, un porcentaje mayor que el registrado en la serie completa (7.6%). Sin embargo, no se dispuso de datos de

seroprevalencia en las madres. Es probable que la mayoría de ellas fueran negativas, ya que los pocos estudios publicados sobre seroprevalencia para HPeV-3 en adultos indican que ésta es mucho menor comparada con la presentada para otros HPeV como el tipo 1^{100,151,152}. La menor seroprevalencia para HPeV-3 en adultos podría ser debido a que este tipo, según los estudios de evolución molecular, es un virus relativamente reciente, de finales de los años 80's¹⁴⁴.

La presentación clínica de la infección por HPeV depende del serotipo causante de la infección y de la edad del paciente. El HPeV-1 se ha observado que es el de mayor circulación en Europa, produciendo en la mayoría de los casos una infección asintomática⁶⁸, o con sintomatología leve, y sólo en casos aislados puede dar lugar a cuadros de mayor gravedad como sepsis o cuadros con afectación neurológica¹¹³.

En la serie aquí presentada, más del 90% de las infecciones por HPeV las causó el tipo 3, todas ellas en menores de 3 años. El único caso de infección por HPeV-1 era un niño que de casi 3 años. Estos datos concuerdan con estudios previos que han observado una mayor incidencia de infecciones por HPeV-3 en lactantes menores de 3 meses, y principalmente en neonatos^{115,146}. En el estudio realizado por Benschop et al.¹¹³ en Holanda, la edad media de los pacientes con infección por el HPeV-1 fue de 6,6 meses, mientras que los que tenían infección por HPeV-3 tenían una edad media de 1,3 meses. En un estudio realizado por el mismo grupo analizando las características de pacientes con infección por los serotipos HPeV-4-6 observaron una edad media de 14 meses¹³⁰. Los datos aportados por Fisher et

al.¹⁴⁷ en Dinamarca confirman la menor edad de los pacientes con infección por HPeV-3 respecto al HPeV-1.

Los resultados de este estudio confirman que casi un 60% de las infecciones por HPeV en España se producen en la etapa neonatal, lo cual es importante porque una sospecha de infección en un lactante pequeño y especialmente en un neonato conlleva la realización de pruebas diagnósticas en ocasiones invasivas, como la punción lumbar, y tratamientos agresivos, pudiendo además precisar ingresos, en ocasiones prolongados. Existen varias publicaciones que asocian la infección por HPeV en neonatos con cuadros más graves, especialmente sepsis clínicas, pero también con encefalitis. En 2005 Boivin et al., comunicaron 3 casos de neonatos ingresados en Canadá por cuadros de sepsis neonatal¹⁵³. Piralla et al.¹²¹ en 2014 describieron una muestra de neonatos ingresados en la UCIN en la que se encontraban 3 pacientes con infección por HPeV-3, 2 de los cuales presentaban cuadros de sepsis y uno de encefalitis. Más recientemente, en 2016, Strenger et al.¹⁵⁴ también publicaron 9 casos de neonatos ingresados en la unidad neonatal con cuadros de sepsis clínica por HPeV. Sin embargo, en este estudio no hubo casos graves. Sólo un caso con encefalitis se presentó con disminución del nivel de conciencia, además de convulsiones. No se dispuso de datos de la RMN del paciente con encefalitis para comprobar la existencia de lesiones de la sustancia blanca, que suelen hallarse preferentemente en áreas periventriculares, y subcorticales de lóbulos frontales, cuerpo calloso, cápsula blanca interna y externa y tractos piramidales, y que pueden ser similares a las encontradas en la encefalopatía hipóxico-isquémica¹⁵⁵.

La manifestación clínica más frecuente fue la fiebre (100% de los pacientes con infección por HPeV), independientemente del diagnóstico, seguido de irritabilidad y aspecto séptico. Esta presentación ya ha sido descrita por otros autores. En el estudio de Vergnano et al.¹⁴⁹, se describían como signos más frecuentes el rechazo de la alimentación, fiebre, aspecto séptico e irritabilidad. Benschop et al.¹¹³ también observaron la fiebre como el signo más frecuente en los pacientes con infección por HPeV-3, seguido de la apariencia séptica y los síntomas gastrointestinales. En la serie de Vanagt et al.¹¹⁷, sin embargo, el signo clínico más frecuente de la infección por HPeV era la irritabilidad, que se llegaba a presentar en el 90% de los pacientes.

Sólo el 19% de los pacientes HPeV-positivos presentó un exantema cutáneo. Esta frecuencia es ligeramente menor a la de Vergagno¹⁴⁹ en el Reino Unido (34%), y muy alejada de la serie japonesa publicada por Shoji et al.¹²⁵, en la que todos sus pacientes (15/15) presentaron un exantema cutáneo durante el ingreso por infección por HPeV. Quizás la propia evolución del exantema, que aparece varios días después de iniciado el cuadro, hace que pase desapercibido y en muchas ocasiones no se describa, a pesar de que su reconocimiento puede ser de gran ayuda para orientar el diagnóstico en los casos en los que el estudio molecular no esté disponible.

En cuanto a las pruebas de hematología y bioquímica sanguínea, éstas muestran escasas alteraciones, con valores de leucocitos dentro de los límites de la normalidad. Los RFA tampoco muestran elevaciones significativas. Todos estos datos pueden ayudar a orientar el posible origen vírico de la infección. De forma característica y a pesar de que los HPeV se detectan en el LCR, en la mayoría de los casos no se observa pleocitosis, como ya se ha descrito en

trabajos anteriores y se confirma en nuestro estudio^{129,156,157}. Este dato sí puede ser de mucha utilidad para ayudar a orientar el diagnóstico etiológico de la infección por HPeV.

En los casos de infección por HPeV fue muy frecuente la utilización de antibióticos, ya que se emplearon en el 79,5% de los pacientes. Un diagnóstico precoz de la infección por HPeV durante la atención en Urgencias podría limitar el uso de antibióticos en los pacientes con FSF sin ningún otro signo de gravedad.

Por otro lado, el hecho de que haya infecciones por HPeV más severas, especialmente en lactantes pequeños y neonatos hace que sea necesario el desarrollo de tratamientos específicos para esta infección, por el momento no disponibles.

Por otro lado, el hecho de que haya infecciones por HPeV más severas, especialmente en lactantes pequeños y neonatos hace que sea necesario el desarrollo de tratamientos específicos para esta infección, por el momento no disponibles. En casos graves se ha utilizado el tratamiento con inmunoglobulina intravenosa, como en el trabajo de Wildenbeest et al.¹⁵⁸, en el que un paciente con una miocardiopatía dilatada secundaria a infección por HPeV fue tratado con éxito. Otra vía de investigación es el diseño de anticuerpos monoclonales dirigidos contra el HPeV-1 y 2, sin que se hayan alcanzado todavía resultados aplicables a la práctica clínica¹⁵⁹. Ninguno de nuestros pacientes precisó alguno de estos tratamientos. El 23% de los pacientes con infección por HPeV precisó ingreso en UCI, siendo el diagnóstico clínico más frecuente entre estos pacientes la sepsis, lo cual justifica por sí mismo el ingreso en UCI

independientemente de la edad. Sin embargo, probablemente la edad de los pacientes juega un papel relevante en este hecho, ya que 9 de los 10 pacientes con infección por HPeV que ingresaron en la UCI eran neonatos. Aunque la estancia en cuidados intensivos sea corta y la recuperación de los niños sea rápida y sin precisar apoyo tecnológico ni vasoactivo en muchas ocasiones, la corta edad de los pacientes hace que se deriven inicialmente a la UCI, al menos hasta confirmar que el cuadro no progresa. De hecho, la estancia en cuidados intensivos de estos niños fue breve, con una duración media de 2,14 días, lo que demuestra que el cuadro mejora rápidamente y que no entraña gravedad.

El diagnóstico más frecuente entre los pacientes fue el de FSF (6.5%), seguido de sepsis (27,9%), sin que existan diferencias significativas en el grupo de los neonatos respecto a los mayores de 28 días. La corta edad de los pacientes con infección por HPeV, con un porcentaje grande de neonatos y lactantes pequeños, favorece la aparición de síntomas inespecíficos como la irritabilidad y el aspecto séptico, así como el diagnóstico de sepsis, frente a los síntomas más específicos y localizadores de la infección como el meningismo, que es poco frecuente en este grupo de pacientes. La infección por HPeV se ha asociado con frecuencia a la sepsis^{113,116,117,136,148}, pero es importante tener en cuenta que en la mayoría de artículos publicados sobre infección por HPeV no se utiliza el término “fiebre sin foco”, y se utiliza el término “sepsis-like illness” tanto en casos de disfunción respiratoria y/o circulatoria¹¹³ como cuando existe una combinación de irritabilidad, fiebre y rechazo de la alimentación¹⁴⁸. Esta diferencia en la nomenclatura puede justificar la baja

proporción de diagnósticos de sepsis clínica en esta serie en relación con la literatura.

Las muestras más apropiadas para el diagnóstico de la infección neurológica o sistémica por HPeV son el LCR y la sangre, respectivamente, porque la presencia del virus en ellas es indicativa de infección aguda. No ocurre lo mismo con las muestras de heces o de secreciones respiratorias, ya que el virus se puede excretar durante varias semanas o incluso meses de forma asintomática. Harvala et al.¹⁶⁰ estudiaron la carga de virus en sangre y LCR en niños con encefalitis y sepsis por HPeV, observando una carga vírica mucho mayor en sangre que en LCR, incluso en casos en los que el HPeV se detectaba en el LCR. Además, la ausencia de pleocitosis no descarta la presencia de afectación del SNC. En el único paciente con meningoencefalitis de este estudio, el HPeV fue detectado en el suero del paciente, apoyando la teoría de que, incluso en los casos en los que hay afectación del SNC, la muestra de suero puede ser de gran utilidad.

2. EVOLUCIÓN NEUROLÓGICA DE LOS PACIENTES CON INFECCIÓN POR PARECHOVIRUS

Aunque la infección por HPeV se ha asociado a cuadros graves como encefalitis severas, con crisis convulsivas y secuelas neurológicas tras la infección aguda, habitualmente el pronóstico de los niños es bueno a corto plazo, con la resolución del cuadro clínico y recuperación de la normalidad en la exploración neurológica¹⁵⁷. Ocasionalmente se han descrito casos de evolución fatal, aunque son infrecuentes en la literatura¹⁶¹. La infección por HPeV normalmente se produce en un cerebro inmaduro, en pleno desarrollo, y las consecuencias a largo plazo todavía no se conocen con certeza, ya que los estudios son escasos y con metodologías muy diferentes. En 2008 Verboon-Macielek et al.¹⁶² observaron secuelas neurológicas en 4/10 pacientes con encefalitis por HPeV. Sin embargo, 2 de los pacientes eran prematuros de 25 y 28 semanas, lo cual podía también influir en la evolución neurológica. En otro caso observaron dificultades del aprendizaje a los 7 años y el cuarto niño presentaba hipertonía distal a los 18 meses.

En 2015 Vergnano et al.¹⁴⁹ publicaron los resultados de un estudio retrospectivo en el que describieron las características clínicas de 50 pacientes con infección por HPeV, a 19 de los cuales pudieron realizar un seguimiento neurológico, observando un retraso psicomotor en 6/19 pacientes, y secuelas en 3 pacientes (parálisis cerebral, retraso del lenguaje e hipotonía generalizada). Además, en 10 de las 12 RMN que realizaron, observaron lesiones en la sustancia blanca. Los tres pacientes con secuelas habían presentado crisis convulsivas durante el momento agudo, y presentaban también lesiones en la sustancia blanca.

En 2016 Britton et al.¹⁶³ evaluaron el desarrollo psicomotor de 13 pacientes un año después de presentar una encefalitis por HPeV, encontrando un alto porcentaje de casos (40%), con secuelas severas, que incluyeron la parálisis cerebral.

En esta tesis, se incluye un estudio sobre el seguimiento neurológico a pacientes con infección por HPeV en el contexto de un estudio prospectivo, incluyendo no sólo a pacientes con encefalitis sino con cualquier manifestación clínica. Es el primero realizado en España. Para llevarlo a cabo, se seleccionó el test ASQ por su facilidad de aplicación y su correcta adaptación a las edades de los pacientes. El cuestionario se encuentra validado para su aplicación tanto por los padres como por los profesionales para detectar pacientes en riesgo de presentar retraso psicomotor. Además, ha sido aplicado en población general y en poblaciones de riesgo como niños prematuros y en aquellos que han sufrido una encefalopatía hipóxico-isquémica¹⁶⁴⁻¹⁶⁷.

Cuatro hospitales decidieron participar En este seguimiento neurológico, consiguiendo localizar a 15 pacientes. No se observaron alteraciones significativas en el test ASQ en ninguno de los pacientes, y sólo en tres se obtuvieron valores que recomendaban un seguimiento. Uno de estos pacientes, con resultados en el límite de la normalidad en las escalas de motricidad fina y gruesa, presentaba una hemiparesia derecha, pero ni la historia clínica ni los hallazgos de la neuroimagen resultan concluyentes para establecer la causa de dicha alteración, ya que no se puede descartar un origen prenatal de la hemiparesia. Otro paciente presentaba una hipotonía leve, sin repercusión en los resultados del test ASQ, por lo que podemos considerarlo como afectación

leve. Aunque el HPeV había sido detectado en el LCR de todos los pacientes del estudio de seguimiento, ninguno había presentado una encefalitis, lo que puede contribuir al mejor pronóstico a nivel motor de los pacientes de nuestra serie respecto a las publicaciones previas^{149,162,163}. A nivel cognitivo no se puede valorar la presencia de dificultades del aprendizaje, ya que sólo 4 de los pacientes asistían a un centro educativo el momento del estudio, porque ninguno había alcanzado la edad para la escolarización obligatoria. Sin embargo, la normalidad en las escalas de comunicación y de resolución de problemas hace suponer como poco probable la presencia de discapacidad intelectual en la serie. De todas formas, son necesarios estudios con mayor número de pacientes y mayor tiempo de seguimiento para conocer con seguridad cuál es la evolución neurológica a largo plazo tras la infección por HPeV.

3. COMPARATIVA ENTRE LAS INFECCIONES POR ENTEROVIRUS Y PARECHOVIRUS

Las infecciones por EV y HPeV tienen muchas características similares, pero también presentan diferencias que pueden llevar a sospechar que sea una u otra, por lo cual a continuación se hará una descripción de la comparación realizada entre ambas infecciones.

Las infecciones por HPeV y EV en nuestra muestra presentan estacionalidad, con un predominio de primavera-principios de verano en ambos casos. De igual manera, la circulación bienal de los HPeV-3 parece similar a los ciclos epidémicos que muestran algunos EV como el E-30, E-9 o E-13 (cada 3-5 años)^{61,143}.

La edad de los pacientes con infección con HPeV-3 fue estadísticamente menor que la de los pacientes con infección por EV, siendo especialmente significativa la incidencia de la infección por HPeV en neonatos. Estos resultados concuerdan con otros publicados, como por ejemplo el de Harvala et al.¹¹⁵, que en una revisión retrospectiva de LCR recogidos durante un periodo de 5 años encontraron la presencia de HPeV exclusivamente en pacientes menores de tres meses, mientras que los EV se distribuían en todos los grupos de edad, incluidos adultos jóvenes.

Las manifestaciones clínicas presentadas por los pacientes con infección por EV y por HPeV son muy similares, excepto para los síntomas de meningismo y catarrales, que son significativamente más frecuentes en las infecciones por EV. Los signos de meningismo concuerdan con la presencia de pleocitosis en esos mismos pacientes. En los pacientes HPeV-positivos, sin

embargo, no se observa pleocitosis en el LCR. Estudios previos confirman estos datos¹⁶⁸. En cualquier caso, la corta edad de los niños con infección por HPeV da lugar a una ausencia de especificidad en los síntomas.

La irritabilidad se ha descrito como una característica muy común en las infecciones por HPeV¹⁶⁹. Sin embargo, en esta serie no hubo, diferencias significativas en el porcentaje de niños con irritabilidad en ambos grupos de infecciones. Respecto al exantema cutáneo, se ha objetivado también en ambos grupos pacientes.

Con respecto a los serotipos de EV y HPeV identificados, casi todos los HPeV fueron tipo 3, mientras que se detectaron 26 serotipos diferentes de EV. La mayoría fueron EV de la especie B (echovirus y CV-B), que son los que con mayor frecuencia se asocian a infecciones neurológicas, sobre todo meningitis. Estos datos concuerdan perfectamente con datos previos de vigilancia de infecciones por EV y HPeV^{123,170,171}.

En los últimos 3 años, 2 serotipos de EV han cobrado especial importancia en Europa como causantes de enfermedad neurológica grave, el EV-A71 y el EV-D68¹⁷². Desde 2015 se ha comunicado un aumento de casos de encefalitis por EV-A71 en diferentes países europeos, aunque el mayor número de casos se produjo en España en la primavera de 2016, con más de 100 casos de encefalitis atribuibles a la infección por este serotipo. La mayoría de ellos fueron detectados en Cataluña, y se manifestaron como rombencefalitis, parálisis flácida aguda, y excepcionalmente como fallo troncoencefálico grave y alteración cardíaca¹⁷³⁻¹⁷⁶. La presente tesis se desarrolló entre los años 2013 y 2015, por lo que fue anterior al brote de rombencefalitis por EV-71. Sí se detectó en 8 pacientes, 5 de los cuales

tuvieron meningitis y 2 una FSF, sin que existiesen complicaciones en ninguno de ellos. En el caso restante no se disponía de la ficha clínica.

El EV-D68 por su parte, causa principalmente infecciones respiratorias, siendo responsable en los últimos años de múltiples brotes epidémicos en Norteamérica^{177,178} y Europa¹⁷⁹⁻¹⁸¹. En España también se ha visto un aumento de las detecciones del EV-D68 asociado a infecciones respiratorias, en general de menor gravedad que las descritas en el brote de Norteamérica¹⁸². Este EV también se ha asociado a cuadros neurológicos de mayor gravedad similar a la parálisis flácida aguda^{83,183}. Los criterios de inclusión de este estudio sólo incluían la infección respiratoria grave, por lo que sólo en un caso se detectó EV-D68. Era un varón de dos meses que precisó ingreso en UCIP por un cuadro de infección respiratoria con un fallo hepático asociado. Probablemente el EV-D68 sí haya circulado por nuestro país durante el periodo del estudio, presentándose con una clínica leve, y por tanto sin cumplir los criterios de inclusión de este trabajo.

En relación a los datos de hematología y bioquímica sanguínea, las únicas diferencias encontradas entre ambos tipos de infecciones, son unos valores de leucocitos y plaquetas en los pacientes HPeV-positivos inferiores a los observados en las infecciones por EV. Sin embargo, a pesar de que estas diferencias son estadísticamente significativas, no tienen relevancia en la práctica clínica, debido a que los niveles en ambos grupos de pacientes se encuentran muy próximos a los valores considerados normales. Esta apreciación ya había sido realizada por Vanagt et al.¹¹⁷ en su estudio retrospectivo. Los RFA no muestran diferencias significativas entre los dos

tipos de infecciones, por lo que no resultan útiles para diferenciar entre ambas etiologías. No obstante, tanto los valores de leucocitos como los reactantes sí ayudan a orientar el diagnóstico hacia una etiología vírica.

El estudio bioquímico en LCR muestra, sin embargo, algunas diferencias que son muy características. La presencia de pleocitosis es rara en los pacientes con infección por HPeV, a pesar de que en la mayoría de los casos el HPeV se puede detectar en el LCR. Este dato hace que ante un cuadro clínico sugestivo de FSF o sepsis clínica sin pleocitosis, en un niño pequeño, generalmente menor de 2 meses, debemos sospechar una infección por HPeV, mientras que si se detectan células en el LCR, posiblemente nos encontremos ante una meningitis por EV^{111,184}. Esta cuestión tiene, además de una gran importancia clínica para la sospecha de una u otra etiología, una implicación semántica, dado que se puede considerar que estamos ante una meningitis por HPeV ante la identificación del virus en el LCR, o bien no considerarlo así si no existe leucorraquia. Esta consideración puede dar lugar a diferencias en los datos obtenidos en la literatura, según el criterio considerado por los diferentes autores.

Para estudiar el porqué de esta diferencia con respecto a la presencia o no de pleocitosis en el LCR, Fortuna et al.¹⁸⁵ investigaron la diferente respuesta inmune en la infección por EV y HPeV, observando una respuesta inflamatoria menor en la infección por HPeV, con un patrón de quimiocinas y citocinas característico que puede ayudar al diagnóstico en los casos en que la carga viral en el LCR es baja. Esta menor respuesta inflamatoria, podría también justificar que no hubiera pleocitosis en las infecciones por HPeV.

El diagnóstico clínico definitivo más frecuente entre los pacientes con infección por HPeV fue el de FSF seguido de sepsis, sin que existan diferencias significativas en el grupo de los neonatos respecto a los mayores de 28 días. Si se compara con el grupo de infección por EV, se observa como el diagnóstico más frecuente en estos últimos fue el síndrome febril seguido de meningitis, siendo mucho menos frecuente la sepsis. La diferente edad de los pacientes, con mucha mayor proporción de neonatos y lactantes pequeños en el grupo de los HPeV, favorece la aparición de síntomas inespecíficos como la irritabilidad y el aspecto séptico, así como el diagnóstico de sepsis, frente a los síntomas más específicos y localizadores de la meningitis que presentan los niños mayores con infección por EV. En 2015, se publicaron datos parciales que forman parte de esta tesis. La serie estaba formada por los pacientes menores de un mes con infección por EV y HPeV. En dicha comunicación¹⁵⁷ ya se observaban las diferencias en los diagnósticos clínicos que existen en ese grupo de edad, siendo más frecuente el diagnóstico de meningitis en el grupo de infección por EV y el de FSF y sepsis, en el grupo de HPeV. Estos datos se han ido confirmando al completar el presente estudio.

Tanto en el grupo de pacientes infectados por EV como en el de infectados por HPeV, la utilización de antibióticos fue muy frecuente (66,4% y 79,5% respectivamente). Hay que tener en cuenta que en la práctica clínica diaria, tanto la sospecha de sepsis a cualquier edad como cualquier sospecha de infección en neonatos, son criterios para el tratamiento antibiótico hasta confirmar la negatividad de los cultivos para bacterias. Por ello, un diagnóstico precoz de la infección por HPeV durante la atención en Urgencias podría limitar

el uso de antibióticos en los pacientes con FSF sin ningún otro signo de gravedad, o en el peor de los casos, permitiría realizar una retirada precoz de antibióticos si se confirma la infección vírica y se descarta razonablemente la bacteriana.

En cuanto a la necesidad de terapia intensiva, se observó una mayor frecuencia de ingresos en la UCIP en los pacientes con infección por HPeV respecto a los de infección por EV, aunque, como ya hemos dicho, los pacientes con infección por HPeV tenían una edad media menor, con un alto porcentaje de neonatos, lo cual favorece el ingreso en la UCIN por el mayor riesgo de presentar complicaciones.

Hasta el momento actual no existe ningún tratamiento específico para las infecciones por HPeV ni por EV. El único fármaco que ha llegado a demostrar alguna utilidad en el tratamiento de las infecciones por EV ha sido el pleconaril¹⁸⁶, pero actualmente no se encuentra disponible en la práctica clínica. Se está valorando el posible uso de la IGIV en el tratamiento tanto de la infección por EV como por el HPeV-3^{158,187}. Sin embargo, hasta el momento no existen estudios concluyentes que recomienden su uso en la infección por HPeV. Ninguno de nuestros pacientes recibió tratamiento con IGIV.

4. LIMITACIONES Y FORTALEZAS

La presente tesis tiene varios aspectos que lo hacen singular, como son su carácter prospectivo y su ámbito nacional. Además, y como ya se ha comentado, es el primer estudio de estas características sobre las infecciones por HPeV en España. Sin embargo, tiene diversas limitaciones derivadas de su diseño y de sus criterios de inclusión. Se trata de un estudio multicéntrico realizado durante 3 años en 12 hospitales españoles. A pesar de establecerse los criterios para la inclusión del estudio en los hospitales participantes, el número de muestras recogidas entre unos hospitales y otros presenta una gran variabilidad, lo que nos hace suponer que un importante número de pacientes no han sido incluidos en el estudio. Ha sido imposible conocer con exactitud el número de pacientes elegibles en cada centro y cuántos de ellos se han incluido definitivamente. Aunque la prevalencia de infecciones por HPeV es similar a otros estudios publicados, no podemos asegurar que sea extrapolable a la población general en nuestro país.

Otra limitación viene derivada de la recogida de los datos clínicos. En 243 pacientes no disponemos de los datos clínicos, y el diagnóstico final tiene que ser obtenido a partir de los datos aportados en el envío de la muestra, lo cual puede no corresponderse con el diagnóstico en el momento del alta. En el caso de uno de los hospitales participantes, el diagnóstico en el momento del envío de la muestra era por defecto “encefalitis/meningoencefalitis”. Estos diagnósticos, en los casos en los que no se disponía de la ficha clínica, tuvieron que ser codificados bajo el epígrafe “sin diagnóstico”. Ello hace que el porcentaje final de cada diagnóstico no sea exacto, si bien no es un porcentaje

que invalide los resultados. Además, ninguno de estos pacientes presentaba infección por HPeV, por lo que no modifica la descripción de la muestra objeto de esta tesis.

Los criterios de inclusión del estudio favorecen el reclutamiento de pacientes con patologías graves, produciendo por tanto un sesgo a favor del tipo HPeV-3, que es el que se manifiesta habitualmente de esta forma, e infradiagnosticando el HPeV-1, que es el que más frecuentemente causa infección en la población general, u otros tipos de HPeV. Podemos, por tanto, establecer que el trabajo objeto de esta tesis describe las características clínicas y la distribución epidemiológica exclusivamente del tipo HPeV-3.

En la serie presentada, el diagnóstico más frecuente ha sido FSF, seguido de sepsis clínica. En publicaciones de otros países no se suele recoger el diagnóstico FSF, y ambos diagnósticos se suelen incluir bajo el epígrafe “sepsis-like illness”, que se define como “enfermedad con fiebre y/o malestar general”. La distinción entre FSF y sepsis o sepsis clínica es importante, ya que son cuadros de diferente gravedad y con implicaciones distintas en el abordaje diagnóstico y terapéutico. Sin embargo, esta distinción dificulta la comparación de nuestra serie con las series previamente publicadas.

A pesar de las limitaciones expuestas, creemos que el trabajo en el que se basa esta tesis doctoral aporta una información muy relevante para el conocimiento de la epidemiología y manifestaciones clínicas de las infecciones asociadas a HPeV-3 en España y puede contribuir a la implementación del diagnóstico molecular de dichas infecciones en los hospitales del SNS.

V. CONCLUSIONES

Los resultados anteriormente expuestos nos han permitido obtener las siguientes conclusiones:

1. Los parechovirus humanos (HPeV) circulan en España, preferentemente en pacientes menores de tres años con cuadros de sospechada etiología vírica que precisan hospitalización y que cursan como fiebre sin foco, sepsis clínica, meningitis o meningoencefalitis.
2. Las infecciones en los niños hospitalizados con cuadros graves sistémicos y neurológicos son causada exclusivamente por el tipo 3 (HPeV-3), predominando en primavera y verano.
3. El HPeV-3 afecta especialmente a neonatos y lactantes menores de 3 meses, dando lugar a un cuadro clínico característico de fiebre sin foco o sepsis-like, con escasas alteraciones en la analítica sanguínea y con ausencia de pleocitosis en el líquido cefalorraquídeo, a pesar de la detección del virus en esta muestra. La presencia de irritabilidad y exantema son datos relativamente frecuentes que pueden orientar la sospecha diagnóstica.
4. El pronóstico a corto plazo de las infecciones por HPeV-3 es bueno, si bien alrededor de un tercio de los casos precisan ingreso en cuidados intensivos por un corto periodo de tiempo, tras lo cual la recuperación es rápida y completa en la mayoría de los casos. Sin embargo, el pronóstico neurológico a largo plazo es incierto y no se puede descartar que existan alteraciones del desarrollo psicomotor en los pacientes con afectación del sistema nervioso central.

5. A diferencia de las infecciones por HPeV, las causadas por enterovirus (EV) fueron más frecuentes en niños de mayor edad y se asociaron principalmente a cuadros de fiebre sin foco y meningitis. Precisaron con menor frecuencia ingreso en las unidades de cuidados intensivos y el pronóstico a corto plazo fue favorable.
6. Las diferencias epidemiológicas y clínicas encontradas entre las infecciones por EV y por HPeV y la disponibilidad de técnicas moleculares en todos los centros hospitalarios del país que permitan realizar un diagnóstico diferencial y rápido, pueden contribuir a mejorar el manejo de los pacientes pediátricos de corta edad que ingresan con cuadros neurológicos y sistémicos, permitiendo evitar antibioterapia innecesaria y acortando las hospitalizaciones de estos pacientes.

...

VI. BIBLIOGRAFÍA

1. Rozman C, Farreras Valentí P, Cardellach F, Domarus A von. Medicina interna. 18.^a ed. Barcelona: Elsevier; 2016.
2. Venkatesan A, Tunkel AR, Bloch KC, Laming AS, Sejvar J, Bitnun A, et al. Case definitions, diagnostic algorithms, and priorities in encephalitis: consensus statement of the international encephalitis consortium. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am.* 2013;57:1114-28.
3. Rotbart HA. Viral meningitis. *Semin Neurol.* 2000;20:277-92.
4. Davis J, Fairley D, Christie S, Coyle P, Tubman R, Shields MD. Human parechovirus infection in neonatal intensive care. *Pediatr Infect Dis J.* 2015;34:121-4.
5. Pariani E, Pellegrinelli L, Pugini L, Bini P, Perniciaro S, Bubba L, et al. Two cases of neonatal human parechovirus 3 encephalitis. *Pediatr Infect Dis J.* 2014;33:1191-3.
6. Kolski H, Ford-Jones EL, Richardson S, Petric M, Nelson S, Jamieson F, et al. Etiology of acute childhood encephalitis at The Hospital for Sick Children, Toronto, 1994-1995. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am.* 1998;26:398-409.
7. Connolly KJ, Hammer SM. The acute aseptic meningitis syndrome. *Infect Dis Clin North Am.* 1990;4:599-622.
8. Davison KL. The epidemiology of acute meningitis in children in England and Wales. *Arch Dis Child.* 2003;88:662-4.
9. Tyler KL. Emerging viral infections of the central nervous system: part 1. *Arch Neurol.* 2009;66:939-48.
10. Tyler KL. Emerging viral infections of the central nervous system: part 2. *Arch Neurol.* 2009;66:1065-74.
11. Seimc-procedimientomicrobiologia47.pdf [Internet]. [citado 29 de abril de 2017]. Disponible en: <http://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia47.pdf>
12. Rorabaugh ML, Berlin LE, Heldrich F, Roberts K, Rosenberg LA, Doran T, et al. Aseptic meningitis in infants younger than 2 years of age: acute illness and neurologic complications. *Pediatrics.* 1993;92:206-11.
13. A. Felipe-Rucián, A. Macaya-Ruiz. Brote de enfermedad neurológica aguda asociada a enterovirus en Cataluña: aspectos neuropediátricos. *Rev Neurol.* 2016;63:3-4.
14. Jubelt B, Mihai C, Li TM, Veerapaneni P. Rhombencephalitis / brainstem encephalitis. *Curr Neurol Neurosci Rep.* 2011;11:543-52.

15. Kimberlin DW, Lin CY, Jacobs RF, Powell DA, Frenkel LM, Gruber WC, et al. Natural history of neonatal herpes simplex virus infections in the acyclovir era. *Pediatrics*. 2001;108:223-9.
16. Montero Reguera R. Interpretación del líquido cefalorraquídeo. *An Pediatría Contin*. 2014;12:30-3.
17. Rudolph H, Schrotten H, Tenenbaum T. Enterovirus Infections of the Central Nervous System in Children: An Update. *Pediatr Infect Dis J*. 2016;35:567-9.
18. Ramos Lizana J, Vázquez López M, de Cea Crespo JM, Zanotta Alfieri R, González Vergaz A, Carrasco Marina LL, et al. A score for the differential diagnosis of bacterial and viral meningitis. *An Esp Pediatría*. 1996;44:35-9.
19. Pérez Martínez A, Molina Cabañero JC, Quintero Calcaño V, de Vicente Aymat A, de La Torre Espí M. Utility of Boyer's score modified for the differential diagnosis of bacterial and viral meningitis. *An Esp Pediatría*. 2001;55:15-9.
20. Morriss FH, Lindower JB, Bartlett HL, Atkins DL, Kim JO, Klein JM, et al. Neonatal Enterovirus Infection: Case Series of Clinical Sepsis and Positive Cerebrospinal Fluid Polymerase Chain Reaction Test with Myocarditis and Cerebral White Matter Injury Complications. *AJP Rep*. 2016;6:e344-51.
21. Zhang G, Wang J, Yao G, Shi B. Efficacy of high-dose methylprednisolone pulse therapy in the treatment of enterovirus 71 encephalitis. *Pak J Pharm Sci*. 2016;29:1421-7.
22. Abzug MJ, Michaels MG, Wald E, Jacobs RF, Romero JR, Sánchez PJ, et al. A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Trial of Pleconaril for the Treatment of Neonates With Enterovirus Sepsis. *J Pediatr Infect Dis Soc*. 2016;5:53-62.
23. Smee DF, Evans WJ, Nicolaou KC, Tarbet EB, Day CW. Susceptibilities of enterovirus D68, enterovirus 71, and rhinovirus 87 strains to various antiviral compounds. *Antiviral Res*. 2016;131:61-5.
24. Alonso Salas MT J.C. de Carlos Vicente, J. Gil Antón, I. Pinto Fuentes, J.M. Quintillá Martínez, J. Sánchez Díaz. Tratamiento de la sepsis/shock séptico. *Rev Esp Pediatría*. 2010;66:30-9.
25. Goldstein B, Giroir B, Randolph A, International Consensus Conference on Pediatric Sepsis. International pediatric sepsis consensus conference: definitions for sepsis and organ dysfunction in pediatrics. *Pediatr Crit Care Med J Soc Crit Care Med World Fed Pediatr Intensive Crit Care Soc*. 2005;6:2-8.

26. Xuan L, Huang F, Fan Z, Zhou H, Zhang X, Yu G, et al. Effects of intensified conditioning on Epstein-Barr virus and cytomegalovirus infections in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for hematological malignancies. *J Hematol Oncol* Hematol Oncol. 2012;5:46.
27. Johnson K, Messier S. Early Onset Sepsis. *S D Med J S D State Med Assoc.* 2016;69:29-33.
28. Surviving Sepsis Campaign. Recommendations: Special Considerations in Pediatrics [Internet]. [citado 30 de agosto de 2016]. Disponible en: <http://www.survivingsepsis.org/Guidelines/Documents/Pediatric%20table.pdf>
29. Alejandria M, Lansang M, Dans L, Mantaring III J. Inmunoglobulina intravenosa para el tratamiento de la sepsis, la sepsis grave y el shock séptico. *Cochrane Database Syst Rev.* 2013;9(Art. No.: CD001090).
30. Gomez B, Mintegi S, Bressan S, Da Dalt L, Gervaix A, Lacroix L, et al. Validation of the «Step-by-Step» Approach in the Management of Young Febrile Infants. *Pediatrics.* 2016;138.:e20154381
31. Mintegi Raso S, Benito Fernández J, García González S, Corrales Fernández A, Bartolomé Albistegui MJ, Trebolazabala Quirante N. Patient demand and management in a hospital pediatric emergency setting. *An Pediatría Barc.* 2004;61:156-61.
32. Burstein B, Dubrovsky AS, Greene AW, Quach C. National Survey on the Impact of Viral Testing for the ED and Inpatient Management of Febrile Young Infants. *Hosp Pediatr.* 2016;6:226-33.
33. Biondi EA, Byington CL. Evaluation and Management of Febrile, Well-appearing Young Infants. *Infect Dis Clin North Am.* 2015;29:575-85.
34. Pantell RH, Newman TB, Bernzweig J, Bergman DA, Takayama JI, Segal M, et al. Management and outcomes of care of fever in early infancy. *JAMA.* 2004;291:1203-12.
35. Cioffredi L-A, Jhaveri R. Evaluation and Management of Febrile Children: A Review. *JAMA Pediatr.* 2016;170:794-800.
36. Greenhow TL, Hung Y-Y, Herz AM, Losada E, Pantell RH. The changing epidemiology of serious bacterial infections in young infants. *Pediatr Infect Dis J.* 2014;33:595-9.
37. McCarthy PL, Sharpe MR, Spiesel SZ, Dolan TF, Forsyth BW, DeWitt TG, et al. Observation scales to identify serious illness in febrile children. *Pediatrics.* 1982;70:802-9.
38. Jaskiewicz JA, McCarthy CA, Richardson AC, White KC, Fisher DJ, Dagan R, et al. Febrile infants at low risk for serious bacterial infection--an appraisal of the Rochester criteria and implications for management. Febrile Infant Collaborative Study Group. *Pediatrics.* 1994;94:390-6.

39. Baker MD, Bell LM, Avner JR. Outpatient management without antibiotics of fever in selected infants. *N Engl J Med.* 1993;329:1437-41.
40. Baskin MN, O'Rourke EJ, Fleisher GR. Outpatient treatment of febrile infants 28 to 89 days of age with intramuscular administration of ceftriaxone. *J Pediatr.* 1992;120:22-7.
41. Galetto-Lacour A, Zamora SA, Andreola B, Bressan S, Lacroix L, Da Dalt L, et al. Validation of a laboratory risk index score for the identification of severe bacterial infection in children with fever without source. *Arch Dis Child.* 2010;95:968-73.
42. Baraff LJ. Management of infants and young children with fever without source. *Pediatr Ann.* 2008;37:673-9.
43. Martinez E, Mintegi S, Vilar B, Martinez MJ, Lopez A, Catediano E, et al. Prevalence and predictors of bacterial meningitis in young infants with fever without a source. *Pediatr Infect Dis J.* 2015;34:494-8.
44. Fever in under 5s: assessment and initial management | 1-recommendations | Guidance and guidelines | NICE [Internet]. [citado 21 de agosto de 2016]. Disponible en: <https://www.nice.org.uk/guidance/cg160/chapter/1-recommendations#management-by-the-paediatric-specialist-2>
45. Ishimine P. Risk stratification and management of the febrile young child. *Emerg Med Clin North Am.* 2013;31:601-26.
46. Avner JR, Baker MD. Management of fever in infants and children. *Emerg Med Clin North Am.* 2002;20:49-67.
47. Garcia S, Mintegi S, Gomez B, Barron J, Pinedo M, Barcena N, et al. Is 15 days an appropriate cut-off age for considering serious bacterial infection in the management of febrile infants? *Pediatr Infect Dis J.* 2012;31:455-8.
48. Kadish HA, Loveridge B, Tobey J, Bolte RG, Corneli HM. Applying outpatient protocols in febrile infants 1-28 days of age: can the threshold be lowered? *Clin Pediatr (Phila).* 2000;39:81-8.
49. Schwartz S, Raveh D, Toker O, Segal G, Godovitch N, Schlesinger Y. A week-by-week analysis of the low-risk criteria for serious bacterial infection in febrile neonates. *Arch Dis Child.* 2009;94:287-92.
50. International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV) [Internet]. [citado 5 de marzo de 2017]. Disponible en: <https://talk.ictvonline.org/>
51. Le Gall O, Christian P, Fauquet CM, King AMQ, Knowles NJ, Nakashima N, et al. Picornavirales, a proposed order of positive-sense single-stranded RNA viruses with a pseudo-T = 3 virion architecture. *Arch Virol.* 2008;153:715-27.

52. Picornavirus Home [Internet]. [citado 25 de julio de 2016]. Disponible en: <http://www.picornaviridae.com/>
53. GPEI-History of Polio [Internet]. [citado 29 de abril de 2017]. Disponible en: <http://polioeradication.org/polio-today/history-of-polio/>
54. Pons-Salort M, Parker EPK, Grassly NC. The epidemiology of non-polio enteroviruses: recent advances and outstanding questions. *Curr Opin Infect Dis.* 2015;28:479-87.
55. Racaniello VR. Picornaviridae: the viruses and their replication. En: *Fields Virology*. 4th ed. Philadelphia: Lippincott-Raven; 2001.
56. John F. Modlin. Introduction to picornaviridae. En: *Principles and Practice of Pediatric Infectious Diseases*. Churchill Livingstone; p. 1167-8.
57. Carter J.B., Saunders V.A. *Principles and applications virology*. Londres, Reino Unido: John Wiley & Sons, Ltd; 2007.
58. Gustavo Palacios, Inmaculada Casas, Gloria Trallero. Human enteroviruses. En: *Infectious diseases*. 3th ed. 2010. p. 1528-38.
59. John F. Modlin. Enteroviruses and Parechoviruses. En: *Principles and Practice of Pediatric Infectious Diseases*. p. 1172-1180.e4.
60. Nonenveloped (Naked) RNA Viruses | Clinical Gate [Internet]. [citado 24 de abril de 2017]. Disponible en: <http://clinicalgate.com/nonenveloped-naked-rna-viruses/>
60. Khetsuriani N, Lamonte-Fowlkes A, Oberst S, Pallansch MA, Centers for Disease Control and Prevention. Enterovirus surveillance--United States, 1970-2005. *Morb Mortal Wkly Rep Surveill Summ Wash DC* 2002. 2006;55:1-20.
61. McWilliam Leitch EC, Bendig J, Cabrerizo M, Cardoso J, Hyypiä T, Ivanova OE, et al. Transmission networks and population turnover of echovirus 30. *J Virol.* 2009;83:2109-18.
62. Calderón KI, Díaz-de Cerio M, Otero A, Muñoz-Almagro C, Rabella N, Martínez-Rienda I, et al. Molecular epidemiology of coxsackievirus B3 infection in Spain, 2004-2014. *Arch Virol.* 2016;161:1365-70.
63. McWilliam Leitch EC, Cabrerizo M, Cardoso J, Harvala H, Ivanova OE, Kroes ACM, et al. Evolutionary dynamics and temporal/geographical correlates of recombination in the human enterovirus echovirus types 9, 11, and 30. *J Virol.* 2010;84:9292-300.
64. Gondo K, Kusuhara K, Take H, Ueda K. Echovirus type 9 epidemic in Kagoshima, southern Japan: seroepidemiology and clinical observation of aseptic meningitis. *Pediatr Infect Dis J.* 1995;14:787-91.
66. Pallansch M, Roos R. Enteroviruses: Polioviruses, coxsackieviruses, echoviruses, and newer enteroviruses. En: *Fields' virology*. 5th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2007.

66. Verboon-Maciolek MA, Krediet TG, van Loon AM, Kaan J, Galama JMD, Gerards LJ, et al. Epidemiological survey of neonatal non-polio enterovirus infection in the Netherlands. *J Med Virol.* 2002;66:241-5.
67. Tapia G, Cinek O, Witsø E, Kulich M, Rasmussen T, Grinde B, et al. Longitudinal observation of parechovirus in stool samples from Norwegian infants. *J Med Virol.* 2008;80:1835-42.
69. Public Health Emergency status – GPEI [Internet]. [citado 12 de abril de 2017]. Disponible en: <http://polioeradication.org/polio-today/polio-now/public-health-emergency-status/>
69. Noor A, Krilov LR. Enterovirus Infections. *Pediatr Rev.* 2016;37:505-15.
70. Bergamin CS, Dib SA. Enterovirus and type 1 diabetes: What is the matter? *World J Diabetes.* 2015;6:828-39.
72. Polio Today – GPEI [Internet]. [citado 12 de marzo de 2017]. Disponible en: <http://polioeradication.org/polio-today/>
72. Mirand A, Henquell C, Archimbaud C, Ughetto S, Antona D, Bailly J-L, et al. Outbreak of hand, foot and mouth disease/herpangina associated with coxsackievirus A6 and A10 infections in 2010, France: a large citywide, prospective observational study. *Clin Microbiol Infect Off Publ Eur Soc Clin Microbiol Infect Dis.* 2012;18:E110-118.
73. Park SH, Choi SS, Oh SA, Kim CK, Cho SJ, Lee JH, et al. Detection and characterization of enterovirus associated with herpangina and hand, foot, and mouth disease in Seoul, Korea. *Clin Lab.* 2011;57:959-67.
74. Lee C-J, Huang Y-C, Yang S, Tsao K-C, Chen C-J, Hsieh Y-C, et al. Clinical features of coxsackievirus A4, B3 and B4 infections in children. *PloS One.* 2014;9:e87391.
76. Jubelt B, Lipton HL. Enterovirus/picornavirus infections. *Handb Clin Neurol.* 2014;123:379-416.
76. Aswathyraj S, Arunkumar G, Alidjinou EK, Hober D. Hand, foot and mouth disease (HFMD): emerging epidemiology and the need for a vaccine strategy. *Med Microbiol Immunol (Berl).* 2016;;205:397-407
78. Gaaloul I, Riabi S, Harrath R, Hunter T, Hamda KB, Ghzala AB, et al. Coxsackievirus B detection in cases of myocarditis, myopericarditis, pericarditis and dilated cardiomyopathy in hospitalized patients. *Mol Med Rep.* 2014;10:2811-8.
79. Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. Picornaviruses. En: *Medical Microbiology.* 8th ed. Elsevier; 2016. p. 458-468.e1.
79. Simpson KE, Storch GA, Lee CK, Ward KE, Danon S, Simon CM, et al. High Frequency of Detection by PCR of Viral Nucleic Acid in The Blood of

-
- Infants Presenting with Clinical Myocarditis. *Pediatr Cardiol.* 2016;37:399-404.
80. Lévêque N, Huguet P, Norder H, Chomel J-J. Enteroviruses responsible for acute hemorrhagic conjunctivitis. *Médecine Mal Infect.* 2010;40:212-8.
81. Liao HT, Hung KL. Neurologic involvement in an outbreak of enterovirus 71 infection: a hospital-based study. *Acta Paediatr Taiwanica Taiwan Er Ke Yi Xue Hui Za Zhi.* 2001;42:27-32.
178. Yoder JA, Lloyd M, Zabrocki L, Auten J. Pediatric Acute Flaccid Paralysis: Enterovirus D68-Associated Anterior Myelitis. *J Emerg Med.* 2017;doi: 10.1016/j.jemermed.2017.03.020. [Epub ahead of print]
84. Oberste MS, Maher K, Nix WA, Michele SM, Uddin M, Schnurr D, et al. Molecular identification of 13 new enterovirus types, EV79-88, EV97, and EV100-101, members of the species Human Enterovirus B. *Virus Res.* septiembre de 2007;128(1-2):34-42.
85. World Health Organization, Geneva, Switzerland. Polio laboratory manual. 4th ed. 2004.
83. Melnick JL, Wimberly IL. Lyophilized combination pools of enterovirus equine antisera: new LBM pools prepared from reserves of antisera stored frozen for two decades. *Bull World Health Organ.* 1985;63:543-50.
84. Casas I, Tenorio A, Echevarría JM, Klapper PE, Cleator GM. Detection of enteroviral RNA and specific DNA of herpesviruses by multiplex genome amplification. *J Virol Methods.* 1997;66:39-50.
85. Oberste MS, Maher K, Kilpatrick DR, Pallansch MA. Molecular evolution of the human enteroviruses: correlation of serotype with VP1 sequence and application to picornavirus classification. *J Virol.* 1999;73:1941-8.
86. Casas I, Palacios GF, Trallero G, Cisterna D, Freire MC, Tenorio A. Molecular characterization of human enteroviruses in clinical samples: comparison between VP2, VP1, and RNA polymerase regions using RT nested PCR assays and direct sequencing of products. *J Med Virol.* 2001;65:138-48.
90. BLAST: Basic Local Alignment Search Tool [Internet]. [citado 24 de abril de 2017]. Disponible en: <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>
88. Sells CJ, Carpenter RL, Ray CG. Sequelae of central-nervous-system enterovirus infections. *N Engl J Med.* 1975;293:1-4.
89. Wilfert CM, Thompson RJ, Sunder TR, O'Quinn A, Zeller J, Blacharsh J. Longitudinal assessment of children with enteroviral meningitis during the first three months of life. *Pediatrics.* 1981;67:811-5.
90. Wu T, Fan X-P, Wang W-Y, Yuan T-M. Enterovirus infections are associated with white matter damage in neonates. *J Paediatr Child Health.* 2014;50:817-22.

91. Balasubramanian H, Wagh D, Rao S, Keil AD, McMichael J. Developmental outcomes in cerebrospinal fluid proven enteroviral meningitis in neonates > 32 weeks of gestation. *J Paediatr Child Health*. 2016;52:327-32.
92. Chang L-Y, Huang L-M, Gau SS-F, Wu Y-Y, Hsia S-H, Fan T-Y, et al. Neurodevelopment and Cognition in Children after Enterovirus 71 Infection. *N Engl J Med*. 2007;356:1226-34.
93. Huang M-C, Wang S-M, Hsu Y-W, Lin H-C, Chi C-Y, Liu C-C. Long-term cognitive and motor deficits after enterovirus 71 brainstem encephalitis in children. *Pediatrics*. 2006;118:e1785-1788.
94. Tsai J-D, Kuo H-T, Chen S-M, Lue K-H, Sheu J-N. Neurological images and the predictors for neurological sequelae of epidemic herpangina/hand-foot-mouth disease with encephalomyelitis. *Neuropediatrics*. 2014;45:102-8.
98. Wigand R, Sabin AB. Properties of ECHO types 22, 23 and 24 viruses. *Arch Gesamte Virusforsch*. 1961;11:224-47.
96. Stanway G, Hyypiä T. Parechoviruses. *J Virol*. 1999;73:5249-54.
97. Ito M, Yamashita T, Tsuzuki H, Takeda N, Sakae K. Isolation and identification of a novel human parechovirus. *J Gen Virol*. 2004;85:391-8.
98. Benschop KSM, Schinkel J, Luken ME, van den Broek PJM, Beersma MFC, Menelik N, et al. Fourth human parechovirus serotype. *Emerg Infect Dis*. 2006;12:1572-5.
99. Oberste MS, Maher K, Pallansch MA. Complete sequence of echovirus 23 and its relationship to echovirus 22 and other human enteroviruses. *Virus Res*. 1998;56:217-23.
100. Al-Sunaidi M, Williams CH, Hughes PJ, Schnurr DP, Stanway G. Analysis of a new human parechovirus allows the definition of parechovirus types and the identification of RNA structural domains. *J Virol*. 2007;81:1013-21.
101. Watanabe K, Oie M, Higuchi M, Nishikawa M, Fujii M. Isolation and characterization of novel human parechovirus from clinical samples. *Emerg Infect Dis*. 2007;13:889-95.
102. Li L, Victoria J, Kapoor A, Naeem A, Shaukat S, Sharif S, et al. Genomic characterization of novel human parechovirus type. *Emerg Infect Dis*. 2009;15:288-91.
103. Drexler JF, Grywna K, Stöcker A, Almeida PS, Medrado-Ribeiro TC, Eschbach-Bludau M, et al. Novel human parechovirus from Brazil. *Emerg Infect Dis*. 2009;15:310-3.

104. Benschop K, Thomas X, Serpenti C, Molenkamp R, Wolthers K. High Prevalence of Human Parechovirus (HPeV) Genotypes in the Amsterdam Region and Identification of Specific HPeV Variants by Direct Genotyping of Stool Samples. *J Clin Microbiol.* 2008;46:3965-70.
105. Cristanziano VD, Veronica DC, Böttcher S, Sindy B, Diedrich S, Sabine D, et al. Detection and characterization of enteroviruses and parechoviruses in healthy people living in the South of Côte d'Ivoire. *J Clin Virol Off Publ Pan Am Soc Clin Virol.* 2015;71:40-3.
106. Kalynych S, Pálková L, Plevka P. The Structure of Human Parechovirus 1 Reveals an Association of the RNA Genome with the Capsid. *J Virol.* 2015;90:1377-86.
107. Benschop KSM, Williams CH, Wolthers KC, Stanway G, Simmonds P. Widespread recombination within human parechoviruses: analysis of temporal dynamics and constraints. *J Gen Virol.* 2008;89:1030-5.
108. de Crom SCM, Rossen JWA, van Furth AM, Obihara CC. Enterovirus and parechovirus infection in children: a brief overview. *Eur J Pediatr.* 2016;175:1023-9.
109. Westerhuis BM, Koen G, Wildenbeest JG, Pajkrt D, de Jong MD, Benschop KSM, et al. Specific cell tropism and neutralization of human parechovirus types 1 and 3: implications for pathogenesis and therapy development. *J Gen Virol.* 2012;93:2363-70.
110. Benschop KSM, Schinkel J, Minnaar RP, Pajkrt D, Spanjerberg L, Kraakman HC, et al. Human parechovirus infections in Dutch children and the association between serotype and disease severity. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am.* 2006;42:204-10.
111. Mizuta K, Kuroda M, Kurimura M, Yahata Y, Sekizuka T, Aoki Y, et al. Epidemic Myalgia in Adults Associated with Human Parechovirus Type 3 Infection, Yamagata, Japan, 2008. *Emerg Infect Dis.* 2012;18:1787-93.
112. Harvala H, McLeish N, Kondracka J, McIntyre CL, McWilliam Leitch EC, Templeton K, et al. Comparison of human parechovirus and enterovirus detection frequencies in cerebrospinal fluid samples collected over a 5-year period in Edinburgh: HPeV type 3 identified as the most common picornavirus type. *J Med Virol.* 2011;83:889-96.
113. Khatami A, McMullan BJ, Webber M, Stewart P, Francis S, Timmers KJ, et al. Sepsis-like disease in infants due to human parechovirus type 3 during an outbreak in Australia. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am.* 2015;60:228-36.
114. Vanagt WY, Lutgens SPM, van Loo IHM, Wolffs PFG, van Well GTJ. Paediatric sepsis-like illness and human parechovirus. *Arch Dis Child.* 2012;97:482-3.
115. Walters B, Peñaranda S, Nix WA, Oberste MS, Todd KM, Katz BZ, et al. Detection of human parechovirus (HPeV)-3 in spinal fluid specimens from

- pediatric patients in the Chicago area. *J Clin Virol Off Publ Pan Am Soc Clin Virol.* 2011;52:187-91.
116. Kolehmainen P, Oikarinen S, Koskiniemi M, Simell O, Ilonen J, Knip M, et al. Human parechoviruses are frequently detected in stool of healthy Finnish children. *J Clin Virol Off Publ Pan Am Soc Clin Virol.* 2012;54:156-61.
117. Chieochansin T, Vichiwattana P, Korkong S, Theamboonlers A, Poovorawan Y. Molecular epidemiology, genome characterization, and recombination event of human parechovirus. *Virology.* 2011;421:159-66.
118. Piralla A, Mariani B, Stronati M, Marone P, Baldanti F. Human enterovirus and parechovirus infections in newborns with sepsis-like illness and neurological disorders. *Early Hum Dev.* 2014;90:S75-77.
122. Lee BE, Chawla R, Langley JM, Forgie SE, Al-Hosni M, Baerg K, et al. Paediatric Investigators Collaborative Network on Infections in Canada (PICNIC) study of aseptic meningitis. *BMC Infect Dis.* 2006;6:68.
120. van der Sanden S, de Bruin E, Vennema H, Swanink C, Koopmans M, van der Avoort H. Prevalence of human parechovirus in the Netherlands in 2000 to 2007. *J Clin Microbiol.* 2008;46:2884-9.
121. Shoji K, Komuro H, Kobayashi Y, Shike T, Funaki T, Katsuta T, et al. An infant with human parechovirus type 3 infection with a distinctive rash on the extremities. *Pediatr Dermatol.* 2014;31:258-9.
122. Shoji K, Komuro H, Miyata I, Miyairi I, Saitoh A. Dermatologic manifestations of human parechovirus type 3 infection in neonates and infants. *Pediatr Infect Dis J.* 2013;32:233-6.
123. Wolthers KC, Benschop KSM, Schinkel J, Molenkamp R, Bergevoet RM, Spijkerman IJB, et al. Human parechoviruses as an important viral cause of sepsislike illness and meningitis in young children. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am.* 2008;47:358-63.
124. Messacar K, Breazeale G, Wei Q, Robinson CC, Dominguez SR. Epidemiology and clinical characteristics of infants with human parechovirus or human herpes virus-6 detected in cerebrospinal fluid tested for enterovirus or herpes simplex virus. *J Med Virol.* 2015;87:829-35.
125. Ehrnst A, Eriksson M. Epidemiological features of type 22 echovirus infection. *Scand J Infect Dis.* 1993;25:275-81.
126. de Crom SCM, Rossen JWA, de Moor RA, Veldkamp EJM, van Furth AM, Obihara CC. Prospective assessment of clinical symptoms associated with enterovirus and parechovirus genotypes in a multicenter study in Dutch children. *J Clin Virol Off Publ Pan Am Soc Clin Virol.* 2016;77:15-20.

127. Pajkrt D, Benschop KSM, Westerhuis B, Molenkamp R, Spanjerberg L, Wolthers KC. Clinical characteristics of human parechoviruses 4-6 infections in young children. *Pediatr Infect Dis J*. 2009;28:1008-10.
128. Baumgarte S, de Souza Luna LK, Grywna K, Panning M, Drexler JF, Karsten C, et al. Prevalence, types, and RNA concentrations of human parechoviruses, including a sixth parechovirus type, in stool samples from patients with acute enteritis. *J Clin Microbiol*. 2008;46:242-8.
129. Abed Y, Boivin G. Human parechovirus types 1, 2 and 3 infections in Canada. *Emerg Infect Dis*. 2006;12:969-75.
130. Harvala H, Robertson I, McWilliam Leitch EC, Benschop K, Wolthers KC, Templeton K, et al. Epidemiology and clinical associations of human parechovirus respiratory infections. *J Clin Microbiol*. 2008;46:3446-53.
131. Cabrerizo M, Calvo C, Trallero G, Luz García-García M, Arroyas M, Sánchez V, et al. Molecular epidemiology of human parechoviruses in children with acute respiratory infection in Spain. *Pediatr Infect Dis J*. 2013;32:802-3.
132. Castillo SA, Pham AK, Dinulos JG. Cutaneous manifestations of systemic viral diseases in neonates: an update. *Curr Opin Pediatr*. 2017;29:240-8.
133. Yeom JS, Park JS, Seo J-H, Park ES, Lim J-Y, Park C-H, et al. Distinctive clinical features of HPeV-3 infection in 2 neonates with a sepsis-like illness. *Korean J Pediatr*. 2016;59:308-11.
134. Westerhuis BM, Jonker SCM, Mattao S, Benschop KSM, Wolthers KC. Growth characteristics of human parechovirus 1 to 6 on different cell lines and cross-neutralization of human parechovirus antibodies: a comparison of the cytopathic effect and real time PCR. *Virology*. 2013;10:146.
135. de Vries M, Pyrc K, Berkhout R, Vermeulen-Oost W, Dijkman R, Jebbink MF, et al. Human parechovirus type 1, 3, 4, 5, and 6 detection in picornavirus cultures. *J Clin Microbiol*. 2008;46:759-62.
136. Cabrerizo M, Calvo C, Rabella N, Muñoz-Almagro C, del Amo E, Pérez-Ruiz M, et al. Design and validation of a real-time RT-PCR for the simultaneous detection of enteroviruses and parechoviruses in clinical samples. *J Virol Methods*. 2014;208:125-8.
137. Selva L, Martínez-Planas A, García-García J-J, Casadevall R, Luaces C, Muñoz-Almagro C. Comparison of an in-house real-time RT-PCR assay with a commercial assay for detection of enterovirus RNA in clinical samples. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis Off Publ Eur Soc Clin Microbiol*. 2012;31:715-9.
138. Verstrepen WA, Kuhn S, Kockx MM, Van De Vyvere ME, Mertens AH. Rapid detection of enterovirus RNA in cerebrospinal fluid specimens with a novel single-tube real-time reverse transcription-PCR assay. *J Clin Microbiol*. 2001;39:4093-6.

139. Piñeiro L, Vicente D, Montes M, Hernández-Dorransoro U, Cilla G. Human parechoviruses in infants with systemic infection. *J Med Virol.* 2010;82:1790-6.
140. Cabrerizo M, Echevarria JE, González I, de Miguel T, Trallero G. Molecular epidemiological study of HEV-B enteroviruses involved in the increase in meningitis cases occurred in Spain during 2006. *J Med Virol.* 2008;80:1018-24.
141. Calvert J, Chieochansin T, Benschop KS, McWilliam Leitch EC, Drexler JF, Grywna K, et al. Recombination dynamics of human parechoviruses: investigation of type-specific differences in frequency and epidemiological correlates. *J Gen Virol.* 2010;91:1229-38.
142. Schuffenecker I, Javouhey E, Gillet Y, Kugener B, Billaud G, Floret D, et al. Human parechovirus infections, Lyon, France, 2008-10: evidence for severe cases. *J Clin Virol Off Publ Pan Am Soc Clin Virol.* 2012;54:337-41.
143. Piralla A, Furione M, Rovida F, Marchi A, Stronati M, Gerna G, et al. Human parechovirus infections in patients admitted to hospital in Northern Italy, 2008-2010. *J Med Virol.* 2012;84:686-90.
144. Fischer TK, Midgley S, Dalgaard C, Nielsen AY. Human parechovirus infection, Denmark. *Emerg Infect Dis.* 2014;20:83-7.
155. Selvarangan R, Nzabi M, Selvaraju SB, Ketter P, Carpenter C, Harrison CJ. Human parechovirus 3 causing sepsis-like illness in children from midwestern United States. *Pediatr Infect Dis J.* 2011;30:238-42.
145. Vergnano S, Kadambari S, Whalley K, Menson EN, Martinez-Alier N, Cooper M, et al. Characteristics and outcomes of human parechovirus infection in infants (2008-2012). *Eur J Pediatr.* 2015;174:919-24.
146. Aizawa Y, Watanabe K, Oishi T, Hirano H, Hasegawa I, Saitoh A. Role of Maternal Antibodies in Infants with Severe Diseases Related to Human Parechovirus Type 31. *Emerg Infect Dis.* 2015;21:1966-72.
147. Joki-Korpela P, Hyypiä T. Diagnosis and epidemiology of echovirus 22 infections. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am.* 1998;27:129-36.
152. Tauriainen S, Martiskainen M, Oikarinen S, Lönnrot M, Viskari H, Ilonen J, et al. Human parechovirus 1 infections in young children--no association with type 1 diabetes. *J Med Virol.* 2007;79:457-62.
148. Boivin G, Abed Y, Boucher FD. Human Parechovirus 3 and Neonatal Infections. *Emerg Infect Dis.* 2005;11:103-7.
149. Strenger V, Diedrich S, Boettcher S, Richter S, Maritschnegg P, Gangl D, et al. Nosocomial Outbreak of Parechovirus 3 Infection among Newborns, Austria, 2014. *Emerg Infect Dis.* 2016;22:1631-4.

150. Amarnath C, Helen Mary T, Periakarupan A, Gopinathan K, Philson J. Neonatal parechovirus leucoencephalitis- radiological pattern mimicking hypoxic-ischemic encephalopathy. *Eur J Radiol.* 2016;85:428-34.
156. Vollbach S, Müller A, Drexler JF, Simon A, Drosten C, Eis-Hübinger AM, et al. Prevalence, type and concentration of human enterovirus and parechovirus in cerebrospinal fluid samples of pediatric patients over a 10-year period: a retrospective study. *Viol J.* 2015;12:199.
152. Cabrerizo M, Trallero G, Pena MJ, Cilla A, Megias G, Muñoz-Almagro C, et al. Comparison of epidemiology and clinical characteristics of infections by human parechovirus vs. those by enterovirus during the first month of life. *Eur J Pediatr.* 2015;174:1511-6.
153. Wildenbeest JG, Wolthers KC, Straver B, Pajkrt D. Successful IVIG treatment of human parechovirus-associated dilated cardiomyopathy in an infant. *Pediatrics.* 2013;132:e243-247.
154. Shakeel S, Westerhuis BM, Ora A, Koen G, Bakker AQ, Claassen Y, et al. Structural Basis of Human Parechovirus Neutralization by Human Monoclonal Antibodies. *J Virol.* 2015;89:9571-80.
156. Harvala H, Griffiths M, Solomon T, Simmonds P. Distinct systemic and central nervous system disease patterns in enterovirus and parechovirus infected children. *J Infect.* 2014;69:69-74.
157. van Zwol AL, Lequin M, Aarts-Tesselaar C, van der Eijk AA, Driessen GA, de Hoog M, et al. Fatal neonatal parechovirus encephalitis. *BMJ Case Rep.* 2009; doi: 10.1136/bcr.05.2009.1883
158. Verboon-Maciolet MA, Groenendaal F, Hahn CD, Hellmann J, van Loon AM, Boivin G, et al. Human parechovirus causes encephalitis with white matter injury in neonates. *Ann Neurol.* 2008;64:266-73.
159. Britton PN, Dale RC, Nissen MD, Crawford N, Elliott E, Macartney K, et al. Parechovirus Encephalitis and Neurodevelopmental Outcomes. *Pediatrics.* 2016;137:1-11.
160. Schonhaut L, Armijo I, Schönstedt M, Alvarez J, Cordero M. Validity of the ages and stages questionnaires in term and preterm infants. *Pediatrics.* 2013;131:e1468-1474.
161. Steenis LJP, Verhoeven M, Hessen DJ, van Baar AL. Parental and professional assessment of early child development: the ASQ-3 and the Bayley-III-NL. *Early Hum Dev.* 2015;91:217-25.
162. Lindsay NM, Healy GN, Colditz PB, Lingwood BE. Use of the Ages and Stages Questionnaire to predict outcome after hypoxic-ischaemic encephalopathy in the neonate. *J Paediatr Child Health.* 2008;44:590-5.
163. Simard M-N, Luu TM, Gosselin J. Concurrent validity of ages and stages questionnaires in preterm infants. *Pediatrics.* 2012;130:e108-114.

164. Renaud C, Harrison CJ. Human Parechovirus 3: The Most Common Viral Cause of Meningoencephalitis in Young Infants. *Infect Dis Clin North Am.* 2015;29:415-28.
165. Gutiérrez V, Martínez-Valdebenito C, Montecinos L, Alarcón R, Gárate C, Ferrés M. [Parechovirus as etiologic agent of meningitis and/or sepsis like illness in infants]. *Rev Chil Infectologia Organo Of Soc Chil Infectologia.* 2016;33:380-8.
166. Trallero G, Avellon A, Otero A, De Miguel T, Pérez C, Rabella N, et al. Enteroviruses in Spain over the decade 1998-2007: virological and epidemiological studies. *J Clin Virol Off Publ Pan Am Soc Clin Virol.* 2010;47:170-6.
167. Harvala H, Calvert J, Van Nguyen D, Clasper L, Gadsby N, Molyneaux P, et al. Comparison of diagnostic clinical samples and environmental sampling for enterovirus and parechovirus surveillance in Scotland, 2010 to 2012. *Euro Surveill Bull.* 2014;19.
172. European Centre for Disease Prevention and Control. Rapid Risk Assessment. Enterovirus detections associated with severe neurological symptoms in children and adults in European countries. 2016;
168. Macaya A, Felipe-Rucián A. [Enterovirus and neurological complications]. *An Pediatr Barc Spain 2003.* 2017;86:107-9.
169. Felipe-Rucian A, Macaya-Ruiz A. Outbreak of acute neurological disease associated to enterovirus in Catalonia: neuropaediatric aspects. *Rev Neurol.* 2016;63:3-4.
170. Otero-Romero S, Campins-Marti M. Outbreak of acute neurological disease associated to enterovirus in Catalonia: epidemiological aspects. *Rev Neurol.* 2016;63:1-2.
171. Casas-Alba D, de Sevilla MF, Valero-Rello A, Fortuny C, García-García J-J, Ortez C, et al. Outbreak of brainstem encephalitis associated with enterovirus-A71 in Catalonia, Spain (2016): a clinical observational study in a children's reference centre in Catalonia. *Clin Microbiol Infect Off Publ Eur Soc Clin Microbiol Infect Dis.* 2017;
172. Messacar K, Abzug MJ, Dominguez SR. 2014 outbreak of enterovirus D68 in North America. *J Med Virol.* 2016;88:739-45.
173. Martin G, Li R, Cook VE, Carwana M, Tilley P, Sauve L, et al. Respiratory Presentation of Pediatric Patients in the 2014 Enterovirus D68 Outbreak. *Can Respir J.* 2016:8302179.
174. Dyrdak R, Grabbe M, Hammas B, Ekwall J, Hansson KE, Luthander J, et al. Outbreak of enterovirus D68 of the new B3 lineage in Stockholm, Sweden, August to September 2016. *Euro Surveill.* 2016;21.30403.

175. Knoester M, Schölvink EH, Poelman R, Smit S, Vermont CL, Niesters HGM, et al. Upsurge of Enterovirus D68, the Netherlands, 2016. *Emerg Infect Dis.* 2017;23:140-3.
176. Schuffenecker I, Mirand A, Josset L, Henquell C, Hecquet D, Pilorgé L, et al. Epidemiological and clinical characteristics of patients infected with enterovirus D68, France, July to December 2014. *Euro Surveill.* 2016;21.
177. Reina J, Cabrerizo M, Ferrés F. [Community acquired acute respiratory infections caused by enterovirus D68 (EV-D68)]. *An Pediatr Barc Spain* 2003. 2017;86:158-9.
179. Helfferich J, Meiners LC, Brouwer OF. Acute flaccid weakness associated with enterovirus D68. *Eur J Paediatr Neurol EJPN Off J Eur Paediatr Neurol Soc.* 2017;21:594-5.
180. Sharp J, Harrison CJ, Puckett K, Selvaraju SB, Penaranda S, Nix WA, et al. Characteristics of young infants in whom human parechovirus, enterovirus or neither were detected in cerebrospinal fluid during sepsis evaluations. *Pediatr Infect Dis J.* 2013;32:213-6.
181. Fortuna D, Cárdenas AM, Graf EH, Harshyne LA, Hooper DC, Prośniak M, et al. Human parechovirus and enterovirus initiate distinct CNS innate immune responses: Pathogenic and diagnostic implications. *J Clin Virol Off Publ Pan Am Soc Clin Virol.* 2017;86:39-45.
186. Pleconaril Enteroviral Sepsis Syndrome - Full Text View - ClinicalTrials.gov [Internet]. [citado 10 de mayo de 2017]. Disponible en: <https://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00031512?term=pleconaril&rank=2>
182. Abzug MJ, Keyserling HL, Lee ML, Levin MJ, Rotbart HA. Neonatal enterovirus infection: virology, serology, and effects of intravenous immune globulin. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am.* 1995;20:1201-6.

VII. ANEXOS

ANEXO I: Hoja de recogida de datos

Hospital:

Iniciales nombre paciente:

Fecha nacimiento

Sexo:

País de Nacimiento:

Año de Llegada a España:

Lugar de residencia (municipio, provincia, CA, país):

Fecha de ingreso:

Antecedentes Personales:

-Prematuridad: SI/NO

semanas:

-Otra patología de base y/o tratamiento:

-Lactancia materna SI/NO

duración (meses):

-Guardería/colegio SI/NO

-Viaje reciente SI/NO

País:

Clínica:

-Fecha de inicio de síntomas:

-Temperatura máxima (en hospital o en casa):

-Duración de fiebre (desde el comienzo en días):

-Horas desde inicio de fiebre a ingreso:

-Síntomas acompañantes: Meningitis SI/NO, Encefalitis SI/NO, Síndrome febril inespecífico

SI/NO, Otitis SI/NO, IRVA SI/NO, Bronquitis: SI/NO, GEA SI/NO, exantema SI/NO, enantema SI/NO, conjuntivitis SI/NO, Miopericarditis SI/NO, irritabilidad SI/NO

-Complicaciones: -coma

-convulsiones

-distrés respiratorio

-alteración hepática

-fallo hepático

-fallo cardiaco

-derrame pleural

-sepsis

Tratamiento/soporte:

-Tratamiento antibiótico: SI/NO

-Ingreso en UCIP/UCIN: SI/NO

Fecha ingreso:

Fecha alta:

-Ventilación mecánica: SI/NO

Duración (en días):

- Otros (gammaglobulina, ECMO...)

Diagnóstico clínico principal:

Otros Diagnósticos:

Epidemiología:

-Vía de transmisión: respiratoria

Directa (feco-oral, gotículas respiratorias, cutáneo)

vertical, canal-parto

-Lugar de probable infección (municipio, provincia, CA, país):

-Asociación con brote:

Pruebas complementarias:

-Hemograma

Hb (g/dl)

plaquetas:

Leucos

(n°/ml)

Linfocitos

(n°/ml)

Neutrófilos

(n°/ml)

-Hemocultivo:

-PCR:

(mg/dl):

-PCT:

(ng/ml)

-Otros (transaminasas alteradas):

-Aspirado naseofaríngeo:

-LCR:

-Proteínas (mg/dL):

-Glucosa (mg/dl):

-Células/mm³:

-Porcentaje PMN: %

Evolución:

-Fecha Alta:

Secuelas (especificar):

-Fallecimiento: SI/NO

Fecha:



COMITÉ DE ÉTICA DE LA
INVESTIGACIÓN Y DE BIENESTAR
ANIMAL

Informe

INFORME

Nº PI: 12_2012

El Comité de Ética de la Investigación y de Bienestar Animal del Instituto de Salud Carlos III ha revisado el proyecto titulado **“Epidemiología y patogenia molecular de los enterovirus y parechovirus asociados a sepsis e infecciones neurológicas en población infantil en España”**

remitido por la investigadora **María Cabrerizo Sanz**
del **Centro Nacional de Microbiología**.

La citada revisión tiene por objeto comprobar que se cumplen los requisitos éticos y legales exigibles en las investigaciones que utilizan seres humanos, muestras humanas o datos humanos.

El Comité estima que el proyecto **cumple** los requisitos mencionados.

Madrid, 23 de Abril de 2012




LA SECRETARIA

Informe. Marzo, 2012

ANEXO III Consentimiento informado

Estudio sobre la **Epidemiología y patogenia molecular de los enterovirus y parechovirus asociados a sepsis e infecciones neurológicas en población infantil en España**

Información para el paciente

Con esta información se le invita a tomar parte en un estudio clínico destinado al estudio de las infecciones producidas por virus en los primeros años de la vida. Antes de que tome una decisión, nos gustaría informarle sobre por qué se está realizando el estudio y que conlleva su participación. Por favor tómese tiempo en leer esta información y no dude en preguntarnos si tiene alguna duda.

¿Por qué organizar un estudio de estas características?

Los niños en sus primeros años de vida, presentan con frecuencia infecciones a menudo acompañadas de fiebre y de otros síntomas, que en ocasiones se acompañan de complicaciones y requieren ingreso hospitalario. Estas infecciones, generalmente son transmitidas por los adultos y los hermanos convivientes y muchas veces en ellos pasan desapercibidas o con síntomas muy leves.

En el niño pequeño la sintomatología es inespecífica pudiendo presentarse como fiebre, rechazo del alimento, vómitos, diarrea, rinitis, dificultad respiratoria pero con frecuencia motiva ingreso hospitalario para evaluación y vigilancia. En algunos casos pueden ser más importantes y ocasionar meningitis o cuadros neurológicos.

¿Qué implica este estudio?

No existen consecuencias, ni molestias adicionales a la propia enfermedad como participante en este estudio, y puede resultar beneficiado de los resultados de la investigación pues podrá ser informado de su diagnóstico en el caso de llegar a él. Solamente se van a emplear en este estudio el restante de las muestras que le van a ser tomadas para el diagnóstico (muestras de líquido cefalorraquídeo, suero, plasma, exudado faríngeo, biopsia, a criterio de su médico). No existen por tanto riesgos adicionales. Las muestras tomadas no serán utilizadas en estudios genéticos.

Los datos personales van a estar absolutamente protegidos. La información se depositará en una base de datos disociada, lo que significa que la información personal y los datos clínicos que se estudian están localizados en soportes distintos, no conectados y codificados para imposibilitar su lectura por personal ajeno al estudio. El fichero será dado de alta en la Agencia de Protección de Datos y se localizará en el Centro Nacional de Microbiología (CNM), del Instituto de Salud Carlos III (ISCIII) (Ctra. Majadahonda-Pozuelo km 2, Majadahonda, Madrid) y será custodiado por su responsable, María Cabrerizo Sanz. Tendrá un acceso restringido, y se utilizará de forma confidencial y agregada de acuerdo con las exigencias de la Ley Orgánica de protección de Datos para ficheros de alta sensibilidad. Esto quiere decir que NUNCA será vinculada al paciente y SIEMPRE será gestionada dentro del conjunto de la información aportada por otros pacientes. Los datos no serán cedidos para otras investigaciones si usted no vuelve a darnos su consentimiento expreso a tal fin. Si usted autoriza a que las muestras sean almacenadas para estudios futuros en caso de quedar remanentes, éstas se conservarán en la Unidad de Enterovirus -CNM. Una vez iniciado el estudio podrá retirarse del mismo en cualquier momento, con la posibilidad de que los datos personales sean eliminados del mismo, sin que ello suponga ninguna consecuencia. Para ello debe dirigirse a la Dra. María Cabrerizo, cuyos datos de contacto se especifican un poco más abajo.

Si Ud. da su consentimiento, su hijo será incluido en un estudio colaborativo sobre la "Epidemiología y patogenia molecular de los enterovirus y parechovirus asociados a sepsis e infecciones neurológicas en población infantil en España" del que es investigador responsable la Dra. María Cabrerizo Sanz, del CNM, Madrid. Dicho estudio será llevado a cabo en varios hospitales en España y el estudio de los virus se hará en la Unidad de Enterovirus (Área de Virología) del citado Centro durante un periodo de 3 años. El estudio tiene por objeto determinar y caracterizar los serotipos de enterovirus y parechovirus que más frecuentemente afectan niños menores de 3 años en España, y está financiado por el FONDO DE INVESTIGACIONES SANITARIAS. Este estudio respeta en todos sus extremos los principios fundamentales de la Declaración de Helsinki, del Convenio del Consejo de Europa relativo a los Derechos Humanos y la Biomedicina, y cumple los requisitos establecidos en la legislación española en el ámbito de la investigación biomédica, de la protección de datos de carácter personal, y de la bioética. Este estudio no tiene ánimo de lucro.

¿Tiene que dejar a su hijo participar?

Es decisión suya que su hijo participe o no. Si decide no dejar a su hijo participar, su decisión no influirá en el trato que reciba su hijo por parte del médico. Si decide que tome parte le será entregada esta hoja de información que deberá guardar y se le pedirá que firme un consentimiento. Será libre de abandonar el estudio en cualquier momento, sin dar ninguna explicación para ello. Esto no influirá en los cuidados médicos que usted y su hijo reciban.

¿Quién es responsable de este estudio en el hospital?

Dr/a.

Hospital:

Servicio/Departamento/Unidad:

Teléfono:

Dirección:

¿Quién es el responsable último y coordinador del estudio?

Dra. María Cabrerizo Sanz

Área de Virología.

Centro Nacional de Microbiología

Instituto de Salud Carlos III

Majadahonda, 28220 Madrid

Teléfono 91 8223663

E-mail: mcabrerizo@isciii.es

CONSENTIMIENTO DEL REPRESENTANTE LEGAL

Yo.....DNI:.....

En calidad de
(relación con el participante)

de.....
..... (nombre del participante)

- He leído la hoja de información que se me ha entregado
- He podido hacer preguntas sobre el estudio
- He recibido la suficiente información sobre el estudio
- He hablado con:.....
(nombre del investigador)

Comprendo que la participación es voluntaria
Comprendo que puedo retirarme del estudio cuando quiera, sin tener que dar explicaciones y sin que repercuta en los cuidados médicos

Y presto mi conformidad para
que.....
(nombre del participante)
participe en este estudio.

Firma del representante:

Fecha:

Firma del investigador: Fecha:

ANEXO IV: Modelo de hoja de recogida de datos del cuestionario ASQ-3 para 18 meses

ASQ-3 ASQ-3: Compilación de datos **18 meses** 17 meses 0 días a 18 meses 30 días

Nombre del niño/a: _____ Fecha de hoy: _____
 # de identificación del niño/a: _____ Fecha de nacimiento: _____
 Nombre del programa/proveedor: _____ Para niños prematuros, ¿seleccionó el cuestionario apropiado tomando en cuenta la edad ajustada del niño/a? Sí No

1. CALIFIQUE EL CUESTIONARIO Y PASE EL PUNTAJE TOTAL DE CADA SECCION AL GRAFICO DE ABAJO: Véase ASQ-3 User's Guide para obtener más detalles, incluyendo la manera de ajustar el puntaje si faltan respuestas a algunas preguntas. Califique cada pregunta (SI = 10, A VECES = 5, TODAVIA NO = 0). Sumo los puntos de cada pregunta, anotando el puntaje total en la línea provista al final de cada sección del cuestionario. En el gráfico de abajo, anote el puntaje total de cada sección, y rellene el círculo correspondiente.

Área	Límite	Puntaje Total	0	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60
Comunicación	13.06		●	●	●	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
Motor gruesa	37.38		●	●	●	●	●	●	●	●	●	○	○	○	○
Motor fina	34.32		●	●	●	●	●	●	●	●	○	○	○	○	○
Resolución de problemas	25.74		●	●	●	●	●	●	○	○	○	○	○	○	○
Socio-individual	27.19		●	●	●	●	●	●	○	○	○	○	○	○	○

2. TRANSFERIA LAS RESPUESTAS DE LA SECCION TITULADA "OBSERVACIONES GENERALES": Las respuestas escritas en negrita o con mayúsculas requerirán un seguimiento. Véase el capítulo 6 del ASQ-3 User's Guide para obtener información sobre las pautas a seguir.

- | | | | |
|---|-------|--|-------|
| 1. ¿Oye bien?
Comentarios: | Sí NO | 6. ¿Preocupaciones sobre la vista?
Comentarios: | SI No |
| 2. ¿Habla como otros niños de su edad?
Comentarios: | Sí NO | 7. ¿Hay problemas de salud recientes?
Comentarios: | SI No |
| 3. ¿Ud. entiende lo que dice su niño/a?
Comentarios: | Sí NO | 8. ¿Preocupaciones sobre comportamiento?
Comentarios: | SI No |
| 4. ¿Camina, corre, y trepa como otros niños?
Comentarios: | Sí NO | 9. ¿Otras preocupaciones?
Comentarios: | SI No |
| 5. Historial: ¿Hay problemas auditivos en la familia?
Comentarios: | SI No | | |

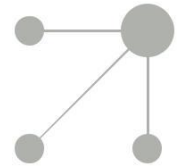
3. INTERPRETACION DEL PUNTAJE Y RECOMENDACIONES PARA EL SEGUIMIENTO DEL ASQ: Para determinar el nivel de seguimiento apropiado, hay que tomar en cuenta el Puntaje total de cada sección, las respuestas de la sección titulada "Observaciones generales", y también factores adicionales, tales como considerar si el niño/a tiene oportunidades para practicar las habilidades.

- Si el Puntaje total está dentro del área □, el puntaje del niño/a está por encima de las expectativas, y el desarrollo del niño/a parece estar bien hasta ahora.
- Si el Puntaje total está dentro del área ■, el puntaje está apenas por encima de las expectativas. Proporcione actividades adicionales para ayudarle al niño/a y vigile su progreso.
- Si el Puntaje total está dentro del área ■, el puntaje está debajo de las expectativas. Quizás se requiera una evaluación adicional más a fondo.

4. SEGUIMIENTO DEL ASQ: Marque todos los que apliquen.
- ___ Dar actividades adicionales y reevaluar en _____ meses.
 - ___ Compartir los resultados con su médico familiar (primary health care provider).
 - ___ Referirlo/la para una evaluación auditiva, visual, o de comportamiento. (Marque con un círculo todos los que apliquen.)
 - ___ Referirlo/la a un médico familiar u otra agencia comunitaria (favor de escribir la razón): _____
 - ___ Referirlo/la a un programa de intervención temprana/educación especial para niños preescolares para hacer una evaluación adicional.
 - ___ No tomar medidas adicionales en este momento.
 - ___ Medida adicional (favor de escribirla): _____

5. OPCIONAL: Anote las respuestas específicas (S = SI, V = A VECES, N = TODAVIA NO, R = falta esta respuesta).

	1	2	3	4	5	6
Comunicación						
Motor gruesa						
Motor fina						
Resolución de problemas						
Socio-individual						



ORIGINAL

Características epidemiológicas y clínicas de los lactantes hospitalizados por infecciones por parechovirus humanos. Estudio prospectivo en España

Fernando Martín del Valle ^a, Cristina Calvo ^{b,l,m,*}, Inés Martínez-Rienda ^c, Amaia Cilla ^d, María P. Romero ^b, Ana Isabel Menasalvas ^e, Leticia Reis-Iglesias ^f, Diana Roda ^g, María J. Pena ^h, Nuria Rabella ⁱ, María del Mar Portugués de la Red ^j, Gregoria Megías ^d, Antonio Moreno-Docón ^e, Almudena Otero ^{k,l}, María Cabrerizo ^{k,l} y Grupo de Estudio de las infecciones por enterovirus y parechovirus en niños [♦]

^a Servicio de Pediatría, Hospital Universitario Severo Ochoa, Leganés, Madrid, España ^b Servicios de Pediatría y Microbiología, Hospital La Paz, IdiPaz, Madrid, España

^c Servicio de Pediatría, Hospital de Cruces, Bilbao, Vizcaya, España ^d Servicio de Pediatría, Hospital de Burgos, Burgos, España

^e Servicio de Pediatría, Hospital Virgen de la Arrixaca, Murcia, España ^f Servicio de Pediatría, Hospital de Orense, Orense, España

^g Servicio de Pediatría, Hospital San Joan de Déu, Barcelona, España

^h Servicio de Pediatría, Hospital de Gran Canarias, Las Palmas de Gran Canaria, España ⁱ Servicio de Microbiología, Hospital Santa Creu y Sant Pau, Barcelona, España

^j Servicio de Pediatría, Complejo Universitario Hospitalario de Vigo, Vigo, España

^k Unidad de Enterovirus, Centro Nacional de Microbiología, Instituto de Salud Carlos III, Majadahonda, Madrid, España ^l Red de Investigación Traslacional en Infectología Pediátrica (RITIP)

^m TEDDY Network (European Network of Excellence for Pediatric Clinical Research)

Recibido el 20 de septiembre de 2016; aceptado el 24 de febrero de 2017

PALABRAS CLAVE

Parechovirus humano;
Lactante;
Fiebre sin foco;
Sepsis

Resumen

Introducción: Los parechovirus humanos (HPeV) son virus de la familia Picornaviridae, recientemente descritos, a los que se atribuyen cuadros de fiebre sin foco (FSF), sepsis clínica, gastroenteritis, meningitis o encefalitis fundamentalmente en lactantes pequeños. Nuestro objetivo fue describir la epidemiología y las características clínicas de las infecciones por HPeV en nuestro medio.

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: ccalvorey@ono.com (C. Calvo).

♦ Los miembros del Grupo de Estudio de las Infecciones por enterovirus y parechovirus en niños se presentan en el anexo 1.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.anpedi.2017.02.009>

Cómo citar este artículo: Martín del Valle F, et al. Características epidemiológicas y clínicas de los lactantes hospitalizados por infecciones por parechovirus humanos. Estudio prospectivo en España. An Pediatr (Barc). 2017. <http://dx.doi.org/10.1016/j.anpedi.2017.02.009>

Pacientes y métodos: Estudio multicéntrico prospectivo, llevado a cabo en 12 hospitales a nivel nacional, entre 2013-2015, en niños < 3 años con FSF, sepsis clínica o patología neurológica. Se realizó determinación de HPeV mediante RT-PCR en el Centro Nacional de Microbiología en suero, heces o líquido cefalorraquídeo.

Resultados: Se analizan 47 infecciones por HPeV de un total de 850 muestras (5,52%), siendo HPeV-3 el más frecuente (29 casos), con predominio en mayo y julio, con una distribución bienal. El 57% eran neonatos y solo 2 > 3 meses. Todos los pacientes presentaron fiebre, el 45% irritabilidad, el 18,6% exantema y el 14% diarrea. No se observa ninguna alteración específica en las pruebas bioquímicas. El diagnóstico final más frecuente fue FSF (61%) seguido de sepsis clínica (29%). Aunque un 29% de los niños precisaron ingreso en cuidados intensivos, solo un paciente presentó secuelas.

Conclusiones: Los HPeV circulan en nuestro país, afectando fundamentalmente a lactantes < 2 meses y se asocian a FSF y sepsis clínica, con un predominio en primavera y verano. Sería de interés implementar las técnicas moleculares de diagnóstico en todos los hospitales para reconocer y manejar adecuadamente estas infecciones.

© 2017 Publicado por Elsevier España, S.L.U. en nombre de Asociación Española de Pediatría.

KEYWORDS

Human parechovirus;
Infants;
Fever of
unknown origin;
Clinical sepsis

Epidemiological and clinical characteristics of infants admitted to hospital due to human parechovirus infections: A prospective study in Spain

Abstract

Introduction: Human parechovirus (HPeV) is one of the recently described picornaviridae viruses that have been associated with fever of unknown origin (FUO), clinical sepsis, gastroenteritis, meningitis, or encephalitis in very young infants. The aim of this study is to describe the epidemiology and clinical features of these viruses.

Patients and methods: A prospective multicentre 3-year study was conducted in 12 hospitals in Spain. Out of 850 specimens examined, 47 were positive (5.52%), with HPeV-3 being the most frequent (29 cases). Infections occurred throughout the year, but mainly in May and July, and a biennial distribution was observed. More than half (57%) were neonates, and only 2 children were older than 3 months. Fever was present in all children, with irritability in 45%, rash in 18.6%, and diarrhoea in 14%. The results of biochemical tests were all in normal range. The most common final diagnosis was FUO (61%), followed by clinical sepsis (29%). Up to 29% of infants were admitted to the intensive care unit, but only one patient had sequelae.

Results: Out of 850 specimens examined, 47 were positive (5.52%) for HPeV, with HPeV-3 being the most frequent (29 cases). Infections occurred throughout the year, but mainly in May and July, and a biennial distribution was observed. More than half (57%) were neonates, and only 2 children were older than 3 months. Fever was present in all children, with irritability in 45%, rash in 18.6%, and diarrhoea in 14%. The results of biochemical tests were all in normal range. The most common final diagnosis was FUO (61%), followed by clinical sepsis (29%). Up to 29% of infants were admitted to the intensive care unit, but only one patient had sequelae.

Conclusions: HPeV circulates in our country, mainly during spring and summer, and affects young infants with a FUO and clinical sepsis. Molecular diagnostic techniques in all hospitals could help in improving the management of patients with these infections.

© 2017 Published by Elsevier España, S.L.U. on behalf of Asociación Española de Pediatría.

Introducción

Los parechovirus humanos (HPeV) son virus RNA de pequeño tamaño, de los cuales actualmente se conocen 16 tipos distintos (HPeV-1 al 16)^{1,2}. Los tipos HPeV-1 y 2 fueron descritos por primera vez en 1945, siendo clasificados inicialmente como echovirus 22 y 23, dentro del género de los *Enterovirus*. En el año 1999 se reclasificaron como un género diferente, el género *Parechovirus* dentro de la familia Picornaviridae, basándose en sus características biológicas y

genómicas. Las infecciones por HPeV-1 y 2 se habían asociado a cuadros gastrointestinales y respiratorios leves. Sin embargo, los tipos 3-16, descritos en los últimos 10-12 años, parece que son capaces de producir infecciones neurológicas y sistémicas más o menos graves. Los estudios publicados en los últimos años otorgan a los HPeV, pero sobre todo al tipo 3, un importante papel en las infecciones graves de lactantes pequeños³, aunque todavía no se conoce con precisión las características epidemiológicas y patogénicas de estos virus. Los HPeV son, junto con los enterovirus humanos (EV),

agentes causales de meningitis aséptica y síndromes febriles en la infancia^{4,5}. Sin embargo, en nuestro país todavía hay pocos datos publicados sobre la incidencia y la circulación de HPeV⁶. Así, el objetivo de este trabajo fue describir las características clínicas de las infecciones sistémicas y neurológicas por HPeV recogidas en un estudio multicéntrico de ámbito nacional sobre las infecciones por enterovirus y parechovirus en población infantil.

Pacientes y métodos

Se realizó un estudio prospectivo en el que participaron 12 hospitales españoles entre los años 2013 y 2015. El estudio fue financiado por la AES (PI12-00904) y aprobado por el Comité de Ética del Instituto Carlos III. Los padres o tutores firmaron un consentimiento informado.

Se incluyó a los niños menores de 3 años hospitalizados en los servicios de Pediatría o Neonatología de los hospitales incluidos en el estudio, que presentaron cuadros compatibles con fiebre sin foco (FSF), meningitis aséptica, encefalitis o meningoencefalitis, miocarditis o sepsis clínica. Se definió FSF como temperatura axilar superior a 37,9 °C sin aparente causa tras una completa exploración física y análisis de laboratorio (según los protocolos habituales de diagnóstico de FSF aplicados en cada centro). Se consideró el diagnóstico de *meningitis aséptica* cuando existía pleocitosis mayor de 30 células/mm³ en neonatos o mayor de 5 células/mm³ en niños mayores de un mes, con cultivo de líquido cefalorraquídeo (LCR) negativo para bacterias. El diagnóstico de *encefalitis* fue realizado sobre la base de la presentación clínica de disminución del nivel de consciencia, con otros síntomas de afectación neurológica, sin precisar necesariamente la presencia de pleocitosis en el LCR, o alteración en la resonancia magnética o el electroencefalograma, a pesar de que estos estudios complementarios sirvieron para apoyar el diagnóstico. La *meningoencefalitis* comparte datos clínicos de meningitis y encefalitis. Se definió la *sepsis clínica* como la presencia de datos clínicos y marcadores biológicos de síndrome de respuesta inflamatoria sistémica, sin confirmación bacteriológica en los cultivos. Los datos clínicos y analíticos de los pacientes se recogieron en un cuestionario diseñado al efecto.

Se recogieron muestras de LCR, exudado faríngeo (EF), heces o suero. Las muestras fueron remitidas a los laboratorios de microbiología de los hospitales donde se descartó infección por herpesvirus neurotrofos (HHV simple 1, 2 y VZV). También se analizó la presencia de EV mediante técnicas moleculares y aquellas muestras que resultaron EV negativas fueron enviadas a la Unidad de Enterovirus del Centro Nacional de Microbiología, donde se realizó la detección de HPeV mediante una RT-PCR diseñada específicamente⁷. Los HPeV así detectados fueron genotipificados usando una RT-PCR en la región VP3/VP1 previamente descrita⁷, secuenciación y análisis filogenético.

El análisis estadístico se realizó mediante el Statistical Package for the Social Sciences (SPSS), Version 13.0. Los valores fueron expresados como porcentajes para las variables discretas y como media y desviación estándar (DE) para las variables continuas. Las características clínicas y las variables de laboratorio fueron comparadas empleando

el test *t* de Student, el test U de Mann-Whitney, el test de la χ^2 y el test exacto de Fisher. Un valor de $p < 0,05$ fue considerado como estadísticamente significativo.

Resultados

Se recogieron en total 850 muestras correspondientes a 845 pacientes, de las cuales 47 fueron positivas para HPeV (5,52%). Se disponía de datos clínicos solo de 43 pacientes, por lo que 4 pacientes fueron excluidos del estudio. Se detectaron casos positivos en 10 de los 12 hospitales, cuya distribución aparece representada en la [figura 1](#).

Se analizaron los datos epidemiológicos de los 43 pacientes con infección por HPeV, 24 varones y 19 mujeres. De todas las muestras positivas, 31 lo fueron en LCR (31/596 muestras de LCR en el estudio, 5,2%), 11 en suero (11/145, 7,58%) y una en EF (1/91, 1,09%). No se encontraron casos positivos en las muestras de heces (13 muestras), biopsia (4 muestras) ni lavado bronquial (1 muestra). La mediana de edad fue de 24 días (rango IC 12-42 días), con 26 de ellos neonatos (menores de 28 días) y solo 2 mayores de 3 meses. Dos de los niños eran prematuros. Todos los pacientes se encontraban en su domicilio cuando iniciaron la sintomatología. Ninguno de los pacientes acudía a guardería.

La mayoría de las infecciones por HPeV ocurrieron en primavera y verano, con predominio en el mes de mayo (11 pacientes) y julio (9 pacientes), pero se detectaron casos durante todo el año. La incidencia fue mayor en los años 2013 (9/159 muestras analizadas, 5,66%) y 2015 (29/352, 8,29%), frente al año 2014, en que solo hubo 5 casos detectados (5/328, 1,52%) ([fig. 2](#)).

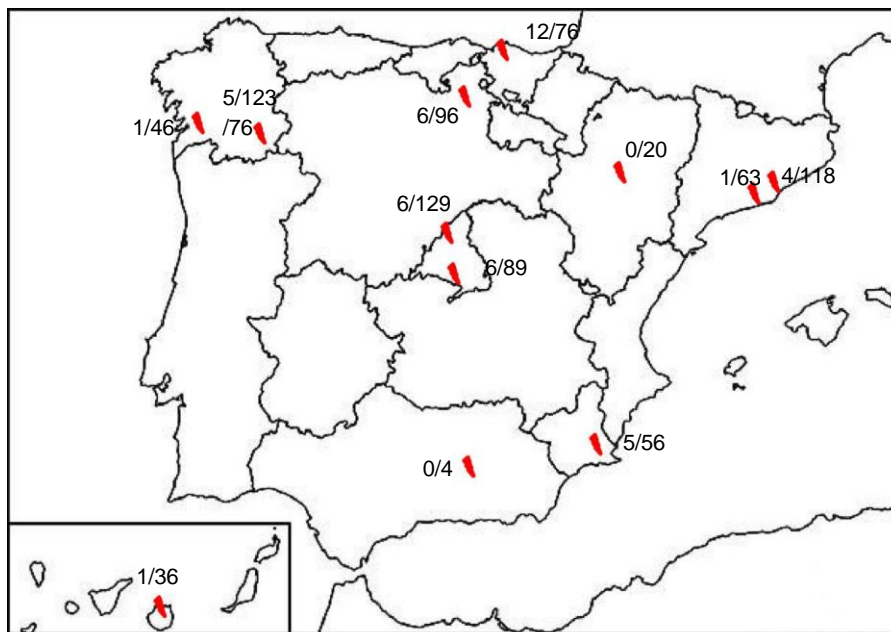
Todos los pacientes en los que se recogieron los datos clínicos se presentaron con fiebre mayor de 38 °C, con una media de 38,8 °C, con una DE de 0,4 y un máximo de 40,2 °C. La duración media de la fiebre fue 1,7 (DE 1,4) días, con un máximo de 6 días. El tiempo desde el inicio de la fiebre hasta la realización del estudio analítico variaba entre 1 y 24 h, con una media de 8,3 (DE 8,9) h.

Otros signos clínicos fueron irritabilidad (45% de los pacientes HPeV positivos), exantema (18,6%), diarrea (14%) y, en menor proporción, sibilancias, enantema y conjuntivitis.

Las pruebas bioquímicas mostraban valores de leucocitos, neutrófilos, proteína C reactiva y procalcitonina normales ([tabla 1](#)). El LCR tampoco mostraba alteraciones significativas, sin detectarse pleocitosis (salvo en un caso), a pesar de la detección de HPeV. Igualmente, las cifras de proteínas y glucosa en el LCR se encontraban dentro de límites normales.

En cuanto al tipo de HPeV identificado, mayoritariamente se detectó HPeV-3 (39/43, el 90,7% de los casos) ([tabla 1](#)). En 2 pacientes se detectó una coinfección. En un caso con *Salmonella* en el coprocultivo (HPeV-1) y en otro fue una infección urinaria por *Escherichia coli* (HPeV-3).

El diagnóstico clínico final más frecuente fue FSF (26 pacientes, 60,5%), seguido de sepsis clínica (13 pacientes, 30,2%), 3 gastroenteritis (6,9%) y una meningoencefalitis. Este último presentó posteriormente secuelas neurológicas, con persistencia de actividad epileptiforme en el electroencefalograma.



Vigo (1), Orense (5), Burgos (7), Bilbao (12), Madrid (13), Murcia (5), Barcelona (5)

Figura 1 Distribución geográfica de los casos.

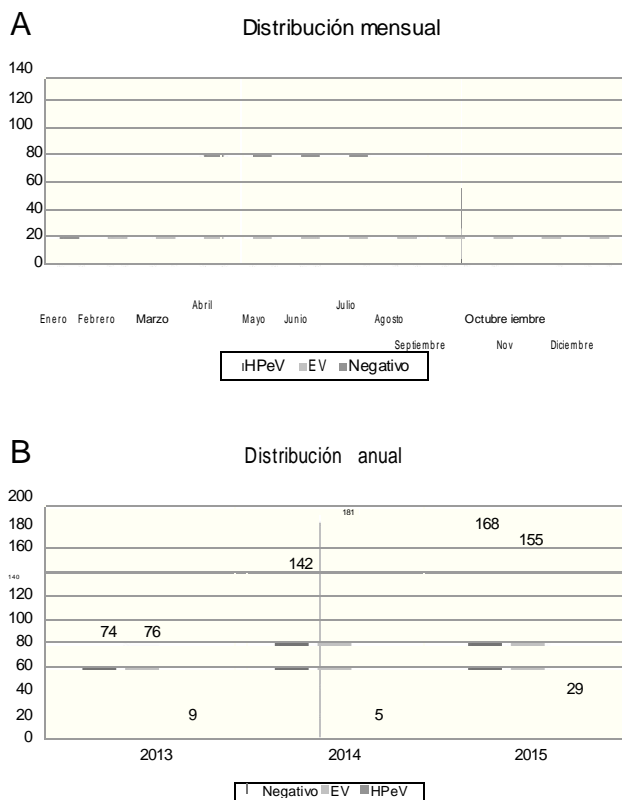


Figura 2 Distribución mensual (A) y anual (B) de los casos negativos, enterovirus (EV) positivos y parechovirus (HPeV) positivos.

Al analizar de forma independiente en función del diagnóstico, se encontró que los pacientes con sepsis clínica tenían más frecuentemente alteración hepática de forma significativa (28,6% vs. 3,6%, $p = 0,018$). Como era

de esperar, presentaron más frecuentemente ingreso en la Unidad de Cuidados Intensivos (UCI) (50% vs. 19,2%, $p = 0,043$).

El 90% de los pacientes recibieron tratamiento antibiótico, siendo mucho más frecuente entre los que eran neonatos (100% vs. 73%, $p = 0,01$). Además, 12 pacientes (26%) precisaron ingreso en UCI, de los cuales 11 eran menores de un mes.

Como complicaciones graves, 2 pacientes presentaron convulsiones, uno distrés respiratorio y 6 alteración hepática con elevación de las transaminasas. Ningún paciente presentó coma, fallo hepático o cardíaco ni derrame pleural.

Analizando por separado a los menores y mayores de un mes, las únicas diferencias encontradas fueron la temperatura máxima (mayor en el grupo de los no neonatos, 39,1 vs. 38,6 °C, $p = 0,01$) y la cifra de hemoglobina (superior en los neonatos, 14,5 vs. 10,3 mg/dl, $p < 0,01$).

La evolución fue favorable en todos los pacientes, no existiendo ningún paciente fallecido, si bien un paciente precisó seguimiento en Neuropediatria por persistir actividad epileptiforme en el electroencefalograma.

Discusión

En este artículo se presentan los resultados de un estudio prospectivo multicéntrico realizado entre 2013 y 2015, en el que se han recogido muestras y datos clínicos de 845 pacientes con sepsis clínica, meningitis, encefalitis o FSF, entre los que se ha encontrado que un 5,56% de infecciones estaban asociadas a HPeV (47 casos). Es la primera vez que se realiza un estudio de ámbito nacional de estas características durante un periodo de 3 años y se demuestra que los HPeV circulan en nuestro país y que se asocian a infecciones neurológicas y sistémicas graves en lactantes pequeños. En

Tabla 1 Características clínicas y de laboratorio de los 43 niños con infección por parechovirus (HPeV)

Síntomas	N.º pacientes (%)
Fiebre	43/43 (100)
Irritabilidad	13/29 (44,8)
Exantema	8/43 (18,6)
Diarrea	6/43 (14)
Encefalitis	1/43 (2,3)
Bronquitis	1/43 (2,3)
Complicaciones	
Alteración hepática	5/43 (11,6)
Convulsiones	2/43 (4,7)
Distrés respiratorio	1/43 (2,3)
Datos virológicos	
HPeV-3	39/43 (90,7)
HPeV-1	1/43 (2,3)
HPeV-5	1/43 (2,3)
HPeV no tipificados	2/43 (4,7)
Diagnóstico	
Fiebre sin foco	26/43 (60,5)
Sepsis clínica	13/43 (30,2)
Gastroenteritis	4/43 (9,3) ^a
Meningoencefalitis	1/43 (2,3)
Infección urinaria	1/43 (2,3) ^b
Laboratorio.	
Datos bioquímicos	
	Media (DE)
Leucocitos en sangre cels/mm ³	8.103 (5.005)
Neutrófilos totales cels/mm ³	4.449 (4.541)
Leucocitos en LCR cels/mm ³	4,33 (5,58)
Proteínas en LCR mg/dl	60,11 (65,95)
Glucosa en LCR mg/dl	54,73(6,89)
Proteína C reactiva mg/dl	4,09 (4,86)
Procalcitonina ng/ml	0,3 (0,54)

DE: desviación estándar; LCR: líquido cefalorraquídeo. ^a Se incluye una coinfección por *Salmonella*.

^b ITU por *Escherichia coli* + infección por parechovirus.

la serie analizada hay 2 hospitales en los cuales no se han detectado casos de infección por HPeV, situados en las comunidades autónomas de Andalucía y Aragón. Sin embargo, posiblemente este hecho ha sido debido al escaso número de muestras de estos centros de que se dispuso y no a una falta de circulación del virus en dichas regiones.

En nuestra serie, la circulación de HPeV presenta estacionalidad, con un predominio de casos detectados en primavera y verano (fig. 2). Esta distribución difiere ligeramente de los estudios realizados en otros países, en los cuales encontraban un predominio en verano y otoño^{8,9}. Además, parece que la circulación de HPeV-3 es bienal, con mayor número de casos en los años 2013 y 2015 que en el 2014. Estas observaciones ya estaban descritas previamente¹⁰, aunque son necesarios estudios con mayor número de muestras para confirmar la circulación bienal del HPeV tipo 3.

Los HPeV son agentes infecciosos frecuentes en la infancia precoz, ya que, según algunos estudios serológicos, hasta el 90% de los niños menores de 2 años han pasado una infección por algún tipo de HPeV, manifestándose

habitualmente como cuadros leves con clínica gastrointestinal o respiratoria^{11,12}. Sin embargo, en un porcentaje de casos la infección puede manifestarse como un cuadro más grave con importante afectación del estado general, llegando a precisar ingreso en la UCI, correspondiendo estos casos a las infecciones sistémicas y neurológicas (sepsis clínica y encefalitis, fundamentalmente). En estudios previos se describe el HPeV-1 como el tipo de HPeV más frecuente detectado, pero es el HPeV-3 el que se relaciona con cuadros de mayor gravedad, como meningitis o sepsis neonatal^{13,14}. También en nuestra serie el HPeV-3 fue el HPeV identificado con más frecuencia (90,7% de los casos), aunque los criterios de inclusión del estudio favorecerían la selección de pacientes con enfermedad grave. Solo en un paciente con gastroenteritis, y que además presentó una convulsión febril, se detectó un HPeV-1. Sin embargo, no podemos asegurar que toda la sintomatología clínica fuera debida a este virus, ya que también presentó un coprocultivo positivo para *Salmonella*. El único paciente con infección por HPeV-5 presentó un síndrome febril sin foco en el periodo neonatal. Estas manifestaciones son similares a las descritas por van der Sanden et al.¹⁰ en un estudio de 8 años desarrollado en Holanda, donde el HPeV-1 se relacionó con síntomas gastrointestinales, el HPeV-3 con sepsis y el HPeV-5 con síntomas gastrointestinales, fiebre y exantema. En este mismo estudio, el HPeV-3 fue también el más frecuente, por delante del HPeV-1 (57% vs. 35%). La diferencia en la distribución de los tipos entre nuestra serie y la de van der Sanden et al. probablemente esté en relación con los criterios de inclusión de ambos estudios, predominando el HPeV-3 cuando se incluye a pacientes ingresados o con infecciones graves, y el HPeV-1 cuando se realizan estudios poblacionales.

La edad de los pacientes con infección por HPeV es muy característica, presentándose en el 83,7% de los casos en niños menores de 2 meses y especialmente en neonatos (55,8%). Esto ha sido descrito también por otros autores, como Harvala et al., que en un estudio realizado en Escocia durante 8 años solo detectaron la presencia de HPeV en niños menores de 3 meses¹⁵. Resultados similares han sido descritos también en otro estudio realizado en Australia, donde el 75% de 118 niños con infección por HPeV eran menores de 2 meses¹⁶. Esta distribución según la edad diferencia a los HPeV de los EV, cuyas infecciones se pueden dar a cualquier edad, y no solo en niños pequeños¹⁷.

Las características clínicas de la infección por HPeV incluyen la presencia de fiebre en todos los casos, si bien ni la duración de la fiebre ni su intensidad son características de esta infección. Sí que resultó un dato frecuente la presencia de irritabilidad, en más de la mitad de los pacientes, como ya han descrito Vanagt et al., en una serie de 89 pacientes de Holanda¹⁸. En el 30,4% de los casos se observó una sepsis clínica, encontrando una asociación entre el diagnóstico de sepsis y la presencia de alteración hepática e ingreso en la UCI. En el 17,4% de los pacientes se observó exantema, una frecuencia similar a la descrita en otras series¹⁹.

Los hallazgos de bioquímica son poco específicos, con niveles de leucocitos, proteína C reactiva y procalcitonina bajos, como en otras infecciones virales. Sí es significativa la ausencia de pleocitosis en la práctica totalidad de los casos, como ha sido descrito en otras series, incluido un trabajo previo publicado por nuestro grupo sobre infecciones por HPeV y EV en neonatos^{20,21}. En la mayoría de los casos el

tiempo transcurrido entre el inicio de los síntomas y la realización de la punción lumbar podría contribuir a esta escasez de células en el LCR. Es relevante destacar la ausencia de pleocitosis ya que en estos casos sería importante no desechar el LCR y realizar el análisis de HPeV mediante PCR, para poder llegar al diagnóstico de la infección. Por tanto, clínicamente, la infección por HPeV se comporta como un cuadro de FSF, y sospecha de sepsis en la mayoría de los pacientes, sobre todo en los más pequeños, con afectación del estado general, que a menudo aconseja el ingreso en la UCI, si bien la evolución es buena en pocas horas, como ocurre en los casos aquí presentados. Solo un paciente fue diagnosticado de meningoencefalitis y presentó crisis convulsivas, precisando posteriormente un seguimiento por persistencia de actividad irritativa en el electroencefalograma. No obstante, hay algunos estudios que describen cuadros graves, fundamentalmente asociados a encefalitis, en algún caso mortal^{14,19,22}.

No existen actualmente datos de seguimiento a largo plazo de niños con infección por HPeV, pero múltiples estudios hablan de la buena evolución a corto plazo. Sin embargo, Verboon-Macielek et al.²³ observaron la aparición de retraso psicomotor en una revisión retrospectiva en 3 de 11 neonatos con infección por HPeV. En nuestra serie también se observa un buen pronóstico general a corto plazo de la infección por HPeV, a pesar de que la mayoría de nuestros pacientes presentaron la infección por el tipo 3, que es el asociado a mayor gravedad. Un estudio reciente realizado en una pequeña serie de niños, en su mayoría prematuros, con encefalitis graves por HPeV, ha descrito a largo plazo, alteraciones neurológicas en el desarrollo de estos niños²⁴.

Tampoco existe todavía ningún tratamiento para las infecciones por HPeV. En casos graves, se ha utilizado el tratamiento con inmunoglobulina intravenosa, como en el trabajo de Wildenbeest et al.²⁵, en el que un paciente con una cardiomiopatía dilatada secundaria a infección por HPeV fue tratado con éxito. El diseño de anticuerpos monoclonales dirigidos contra HPeV-1 y 2 se encuentra en investigación²⁶. Sin embargo, son precisos más estudios para poder utilizar los anticuerpos monoclonales en la práctica clínica. Además, sería interesante poder diseñar este tipo de tratamientos frente al HPeV-3, que es el que se ha relacionado con infecciones de mayor gravedad. En nuestra serie, el 90% de los niños recibieron tratamiento antibiótico, llegando al 100% en el subgrupo de los neonatos. Sin duda, el desarrollo de técnicas de diagnóstico precoz y el desarrollo de terapias dirigidas al virus podría optimizar el uso de estos tratamientos, permitiendo la retirada de los mismos, una vez se haya descartado una infección bacteriana. No debemos dejar de considerar que en un pequeño porcentaje de casos puede asociarse una coinfección entre virus y bacterias.

Podemos concluir que el HPeV-3 es una causa relevante y frecuente de FSF y sepsis clínica en lactantes pequeños. El cuadro clínico es característico en niños menores de 2 meses, con fiebre, irritabilidad, mal aspecto y a veces exantema. La evolución a corto plazo es buena, aunque en ocasiones requieren ingreso en la UCI.

Consideramos que el conocimiento de las características clínicas de las infecciones por HPeV y la implementación de las técnicas moleculares de diagnóstico en todos los hospitales pueden ayudar a mejorar el manejo de los pacientes con infecciones por estos virus.

Financiación

Estudio financiado por el Fondo de Investigaciones Sanitarias: AES (PI12-00904).

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Anexo 1.

Los miembros del Grupo de Estudio de las Infecciones por enterovirus y parechovirus en niños: Martínez-Almagro C, Trallero G, del Amo E, García-Costa J, Omenaca M, Sanbonmatsu-Gámez S, Pérez-Ruiz M, Santos-Munoz MJ, García-García ML, Rey Cao S.

Bibliografía

1. Hyppia T, Horsnell C, Maaronen M, Khan M, Kalkkinen N, Auvinen P, et al. A distinct picornavirus group identified by sequence analysis. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1992;89:8847-51.
2. Knowles NJ, Hovi T, Hyppia T, King AMQ, Lindberg M, Pallansch MA, et al. Picornaviridae. En: King AMQ, Adams MJ, Carstens EB, Lefkowitz EJ, editores. *Virus taxonomy: Classification and nomenclature of viruses: Nintyh Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*. San Diego: Elsevier; 2011. p. 855-80.
3. Benschop KS, Schinkel J, Minnaar RP. Human parechovirus infections in Dutch children and the association between serotype and disease severity. *Clin Infect Dis*. 2006;42:204-10.
4. Wolthers KC, Benschop KS, Schinkel J, Molenkamp R, Bergevoet RM, Spijkerman IJ, et al. Human parechoviruses as an important viral cause of sepsislike illness and meningitis in young children. *Clin Infect Dis*. 2008;47:358-63.
5. Messacar K, Breazeale G, Wei Q, Robinson CC, Dominguez SR. Epidemiology and clinical characteristics of infants with human parechovirus or human herpes virus-6 detected in cerebrospinal fluid tested for enterovirus or herpes simplex virus. *J Med Virol*. 2015;87:829-35.
6. Pineiro L, Vicente D, Montes M, Hernández-Dorronsoro Cilla G. Parechoviruses in infants with systemic infection. *J Med Virol*. 2010;82:1790-6.
7. Cabrerizo M, Calvo C, Rabella N, Muñoz-Almagro C, del Amo E, Pérez-Ruiz M, et al. Design and validation of a real-time RT-PCR for the simultaneous detection of enteroviruses and parechoviruses in clinical samples. *J Virol Methods*. 2014;208:125-8.
8. Piralla A, Mariani B, Stronati M, Marone P, Baldanti F. Human enterovirus and parechovirus infections in newborns with sepsis-like illness and neurological disorders. *Early Hum Dev*. 2014;90 Suppl 1:S75-7.
9. Lee BE, Chawla R, Langley JM, Forgie SE, al-Hosni M, Baerg K, et al. Paediatric Investigators Collaborative Network on Infections in Canada (PICNIC) study of aseptic meningitis. *MC Infect Dis*. 2006;6:68.
10. Van der Sanden S, de Bruin E, Vennema H, Swanink C, Koopmans M, van der Avoort H. Prevalence of human parechovirus in the Netherlands in 2000 to 2007. *J Clin Microbiol*. 2008;46:2884-9.
11. Benschop K, Thomas X, Serpenti C, Molenkamp R, Wolthers K. High prevalence of human parechovirus (HPeV) genotypes in the Amsterdam region and identification of specific HPeV variants by direct genotyping of stool samples. *J. Clin. Microbiol*. 2008;46:3965-70.

12. Tapia G, Cinek O, Witsø E, Kulich M, Rasmussen T, Grinde B, et al. Longitudinal observation of parechovirus in stool samples from Norwegian infants. *J Med Virol*. 2008;80:1835-42.
13. Esposito S, Rahamat-Langendoen J, Ascolese B, Senatore L, Cas-tellazzi L, Niesters HG. Pediatric parechovirus infections. *J Clin Virol*. 2014;60:84-9.
14. Sedmak G, Nix WA, Jentzen J, Haupt TE, Davis JP, Bhattacharyya S, et al. Infant deaths associated with human parechovirus infection in wisconsin. *Clin Infect Dis*. 2010;50:357-61.
15. Harvala H, Calvert J, van Nguyen D, Clasper L, Gadsby N, Moly-neaux P, et al. Comparison of diagnostic clinical samples and environmental sampling for enterovirus and parechovirus surveillance in Scotland, 2010 to 2012. *Euro Surveill*. 2014;19, pii=20772.
16. Khatami A, McMullan BJ, Webber M, Stewart P, Francis S, Tim-mers KJ, et al. Sepsis-like disease in infants due to human parechovirus type 3 during an outbreak in Australia. *Clin Infect Dis*. 2015;60:228-36.
17. Seo J, Yeom JS, Youn HS, Han TH, Chung JY. Prevalence of human parechovirus and enterovirus in cerebrospinal fluid samples in children in Jinju, Korea. *Korean J Pediatr*. 2015;58:102-7.
18. Vanagt WY, Lutgens SP, van Loo IH, Wolfs PF, van Well GT. Paediatric sepsis-like illness and human parechovirus. *Arch Dis Child*. 2012;97:482-3.
19. Karsch K, Obermeier P, Seeber L, Chen X, Tief F, Mühlhans S, et al. Human parechovirus infection associated with sei-zures and rash in infants and toddlers. *Pediatr Infect Dis J*. 2015;34:1049-55.
20. Vollbach S, Müller A, Drexler JF, Simon A, Drosten C, Eis-Hübinger AM, et al. Prevalence, type and concentration of human enterovirus and parechovirus in cerebrospinal fluid sam-ples of pediatric patients over a 10-year period: A retrospective study. *Virol J*. 2015;12:199-205.
21. Cabrerizo M, Trallero G, Pena MJ, Cilla A, Megias G, Munoz -Almagro C, et al. Comparison of epidemiology and clinical characteristics of infections by human parechovirus vs those by enterovirus during the first month of life. *Eur J Pediatr*. 2015;174:1511-6.
22. Kolehmainen P, Jääskeläinen A, Blomqvist S, Kallio-Kokko H, Nuolivirta K, Helminen M, et al. Human parechovirus type 3 and 4 associated with severe infections in young children. *Pediatr Infect Dis J*. 2014;33:1109-13.
23. Verboon-Maciolek MA, Krediet TG, Gerards LJ, de Vries LS, Groe-nendaal F, van Loon AM. Severe neonatal parechovirus infection and similarity with enterovirus infection. *Pediatr Infect Dis J*. 2008;27:241-5.
24. Britton PN, Dale RC, Nissen MD, Crawford N, Elliott E, Macart-ney K, et al. Parechovirus encephalitis and neurodevelopmental outcomes. *Pediatrics*. 2016;137:1-11.
25. Wildenbeest JG, Wolthers KC, Straver B, Pajkrt D. Successful IVIG treatment of human parechovirus-associated dilated cardiomyopathy in an infant. *Pediatrics*. 2013;132:e243-7.
26. Shakeel S, Westerhuis BM, Ora A, Koen G, Bakker AQ, Claassen Y, et al. Structural basis of human parechovirus neutralization by human monoclonal antibodies. *J Virol*. 2015;89:9571-80.