

# Universidad Miguel Hernández

FACULTAD DE FARMACIA  
CURSO ACADÉMICO 2017/2018



## TRABAJO FIN DE GRADO

### Enterovirus asociados a la parálisis flácida aguda: Revisión de la situación

**Autor: Alejandro Martínez Palomar**

**Tutor: Pedro Antequera Rodríguez**  
**Modalidad: Revisión bibliográfica**  
**Área de Parasitología. Grado en Farmacia**

## **RESUMEN**

Los Enterovirus no polio producen una gran variedad de manifestaciones clínicas en el hombre, pudiendo llegar a desarrollar cuadros neurológicos semejantes a los que provocan los Poliovirus. Enterovirus como el A71 (EV-A71) y el D68 (EV-D68) están relacionados con estas patologías.

Se observa un aumento notable en la última década de pacientes infectados con EV-D68 en todo el mundo, fundamentalmente tras el gran brote que se produjo en EE.UU en 2014. La mayoría de los pacientes presentaron síntomas respiratorios y algunos desarrollaron parálisis flácida aguda (PFA). En casi todos los pacientes con PFA, el virus sólo fue detectado en muestras respiratorias, siendo muy pocos en los que se detectó en líquido cefalorraquídeo (LCR). Ésta es la razón por la que en un principio no se atribuyó al EV-D68 la PFA y se asoció con la presencia de una enfermedad subyacente en el paciente. Sin embargo, estudios recientes en modelos animales han demostrado que sí existe una relación entre el EV-D68 y la PFA. Sucesivas mutaciones del virus han modificado su virulencia y, también, han podido alterar la patogenicidad, haciéndole más afín por el tejido nervioso y dar lugar a nuevas subespecies cuya peligrosidad se debe investigar aún más. El EV-D68, el A71 y otros Enterovirus no polio podrían sustituir a los ya casi erradicados Poliovirus, como causantes de la PFA y otras enfermedades neurológicas tipo polio.

El objetivo de este trabajo monográfico ha sido conocer la epidemiología de estos virus y su vinculación con casos de parálisis flácida y otras enfermedades neurológicas.

Para ello se realiza una revisión bibliográfica de un conjunto de artículos que permitan detallar la situación del EV-A71, y más en profundidad, la del EV-D68.

**Palabras Clave:** Enterovirus D68, Enterovirus A71, Parálisis Flácida Aguda

## **ÍNDICE**

<b>1. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>4</b>
1.1. TAXONOMÍA EV.....	4
1.2. ESTRUCTURA VIRAL EV.....	4
1.3. PATOGÉNESIS, TRANSMISIÓN Y CLÍNICA EV.....	5
1.4. POLIOVIRUS.....	6
1.5. ENTEROVIRUS NO POLIO.....	6
1.5.1. ENTEROVIRUS A71 (EV-A71).....	6
1.5.2. ENTEROVIRUS D68 (EV-D68).....	7
<b>2. OBJETIVOS.....</b>	<b>10</b>
<b>3. MATERIAL Y MÉTODOS Y RESULTADOS.....</b>	<b>11</b>
<b>4. DISCUSIÓN.....</b>	<b>14</b>
4.1. ENTEROVIRUS A71.....	15
4.2. ENTEROVIRUS D68.....	16
4.2.1. EV-D68 EN PATOLOGÍAS NO NEUROLÓGICAS.....	17
4.2.2. EV-D68 Y PFA.....	18
4.3. SITUACIÓN EPIDEMIOLÓGICA.....	26
<b>5. CONCLUSIONES.....</b>	<b>29</b>
<b>6. BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>31</b>

# 1. INTRODUCCIÓN

De entre todos los agentes patógenos que afectan al ser humano, los Enterovirus (EV) se encuentran entre los más comunes. La mayoría de los virus pertenecientes a este grupo fueron descubiertos tras la investigación de distintos casos de poliomielitis paralítica y otras alteraciones del sistema nervioso central en la década de los 50 del siglo pasado. La infección por estos virus puede causar una amplia gama de presentaciones clínicas, siendo las más importantes las provocadas por los poliovirus, cuya erradicación parece cada vez más cercana, por lo que, el interés se centra en el control de las enfermedades por los enterovirus no polio, mucho más prevalentes en nuestro medio<sup>1</sup>.

## 1.1.TAXONOMÍA EV

Estos virus pertenecen a la familia *Picornaviridae*, que agrupa una gran variedad de especies distintas<sup>1</sup>. En la actualidad, cuenta con más de 300 sero/genotipos agrupados en 28 especies y 12 géneros. Entre estos doce géneros, son ocho los que se han visto relacionados con infecciones en humanos: *Cardiovirus*, *Cosavirus*, *Hepatovirus*, *Kobuvirus*, *Parechovirus*, *Rosavirus*, *Salivirus* y los *Enterovirus*<sup>2</sup>.

Los EV forman parte del género *Enterovirus*, en el que también han sido recientemente incluidos los *Rhinovirus*. La actual clasificación taxonómica basada en sus propiedades biológicas y genómicas, agrupa a los 93 serotipos distintos conocidos de EV en cuatro especies EV-A, -B, -C y -D<sup>3</sup>.

Esta nueva clasificación se basa en las distintas conformaciones de la Proteína Vírica 1 (VP1)<sup>4</sup> y dentro de cada especie se pueden encontrar *Enterovirus* pertenecientes a distintos grupos de la clasificación tradicional<sup>5</sup>.

## 1.2.ESTRUCTURA VIRAL EV

Los EV, como el resto de *Picornavirus*, son virus pequeños (30 nm). Su cápside tiene forma icosaédrica y carece de envoltura. Su material genético está constituido por un ARN de cadena única y de polaridad o sentido positivo. De esta forma, nada más infectar la célula hospedadora, iniciarán la traducción de su secuencia genética en el citoplasma, evitando así tener que atravesar el núcleo celular, acoplarse al genoma y depender del ciclo celular para reproducirse. Actúan por lo tanto como un ARN mensajero<sup>6</sup>.

El genoma vírico se encuentra dividido en cuatro regiones que codifican proteínas estructurales y otras dos regiones reguladoras no codificadoras. Estas proteínas estructurales son la VP1 ya mencionada anteriormente, la VP2, VP3 y VP4, y son sintetizadas como una poliproteína. Inicialmente ésta poliproteína será metabolizada por las proteínas virales 2A y C3, fragmentándola así en las cuatro proteínas estructurales antes vistas y otras siete no estructurales, entre las que se encuentra la nueva cadena de ARN vírico<sup>6,7</sup>.

### 1.3.PATOGÉNESIS, TRANSMISIÓN Y CLÍNICA EV

Presentan una tendencia natural a la agregación espontánea que los defiende del efecto de los agentes externos. Se inactivan rápidamente a más de 50°C, por la luz ultravioleta y en condiciones de desecación. La mayoría son estables a pH ácido, característica que los diferencia de los Rhinovirus. Ésta última es la razón por la que el hábitat común y lugar de replicación de los Enterovirus sea, por lo general, el tracto digestivo<sup>6</sup>.

El receptor con el que se unen a las células es de tipo Inmunoglobulina y se presenta en diferentes órganos diana. Según el tipo de virus su órgano diana será uno u otro<sup>6</sup>.

La transmisión es fecal-oral y respiratoria. También se han dado casos en los que la transmisión se ha visto producida mediante un vector, siendo los fómites y moscas los responsables. Hay muchos portadores sanos y pueden aparecer en forma endémica o en brotes epidémicos, sobretodo en la

época estival. Cabe resaltar los grandes brotes de Poliomiелitis que se producían previamente a los programas de vacunación<sup>6</sup>.

Al contraerlos, el periodo de incubación oscila entre los 2 y 40 días. En ese tiempo el virus se multiplica en el tejido linfoide laríngeo y se propaga por el organismo. La enfermedad puede ser el resultado de la destrucción de tejidos o de la respuesta inmune a la infección<sup>6</sup>.

Son los virus más comunes que causan meningitis linfocitaria, generalmente de curso benigno. También pueden causar encefalitis o meningo-encefalitis con buen pronóstico, así como cuadros respiratorios, exantemas, enfermedad mano-boca-pie (HFMD) y conjuntivitis hemorrágica aguda. Y de forma menos frecuente, pero más grave, miocarditis y pericarditis y sepsis en neonatos, a menudo de curso fatal<sup>8, 9, 10</sup>.

#### 1.4 POLIOVIRUS

Los poliovirus (PV) constituyen el prototipo de EV. Fueron descritos en 1909 como los causantes de la poliomiелitis. Pueden dar patologías leves como síndromes gripales o meningitis, siendo la poliomiелitis parálitica o parálisis flácida aguda (PFA) la forma más grave, y que puede ser permanente e incluso mortal si afecta a la musculatura del sistema respiratorio. Las PFA se producen principalmente en niños menores de 5 años, siendo los casos irreversibles menos del 1%<sup>8</sup>. España se considera “libre de polio” desde el año 2002, cuando la OMS lo certificó junto al resto de países europeos<sup>11</sup>.

#### 1.5 ENTEROVIRUS NO POLIO

##### 1.5.1. ENTEROVIRUS A71 (EV-A71)

El EV-A71 pertenece a la especie A. Puede causar síndrome febril, enfermedad mano-boca-pie (HFMD), herpangina y también enfermedades neurológicas (meningitis, encefalitis y PFA). En Europa y EEUU se habían descrito casos esporádicos y pequeños brotes desde que se aisló por primera

vez en 1969. En Asia, desde finales del siglo pasado se han detectado grandes brotes de HFMD en niños menores de 5 años con una alta incidencia de afectación neurológica grave<sup>12</sup>.

### 1.5.2. ENTEROVIRUS D68 (EV-D68)

El Enterovirus D68 (EV-D68) fue descubierto en 1962, cuando fue aislado a partir de unas muestras de esputo de niños de California, Estados Unidos<sup>13</sup>.

Se desarrolla y reproduce a bajas temperaturas (33°C) y no tolera los ambientes ácidos. Esto explicaría su presencia en el tracto respiratorio, de tal forma que se asemeja mucho más a los *Rhinovirus* que al resto de Enterovirus. Por esta razón, recién descubierto se le llamaba Rhinovirus 87 (RV-87), hasta que al comparar las secuencias de la Proteína Vírica 1 se le asignó el género actual<sup>14</sup>.

Por otra parte el hecho de que se encuentre en las vías respiratorias se debe a la sobreexpresión de los receptores formados por ácido siálico en este tejido<sup>14</sup>. El ácido siálico de la superficie celular es esencial para la intromisión del virus. Cuando el EV-D68 se une al ácido siálico se produce una cascada de cambios conformacionales que inducirán la expulsión de una molécula de ácido graso que envolverá al virus regulando su estabilidad en el citoplasma<sup>15</sup>. También se ha observado que puede unirse a la Molécula de Adhesión Intercelular (ICAM-5), la cual es neuroespecífica<sup>16</sup>.

Los EV-D68 se dividen en tres subespecies o subtipos. Estos subtipos son A, B y C, y su origen se debe a la diversificación del material genético del virus<sup>14</sup>. Hace poco se descubrió una nueva a la que se llamó D<sup>7</sup>.

No suele manifestarse muy a menudo<sup>17</sup>, pero por lo general, es la causa de enfermedades respiratorias que pueden ir de leves a graves. Afecta sobretudo a niños, y si éstos presentan asma o antecedentes de sibilancias, pueden sufrir patologías severas con el consiguiente ingreso en unidades hospitalarias de cuidados intensivos. Los síntomas leves pueden incluir tos, estornudos, secreción nasal, fiebre y dolores musculares. En definitiva, una

enfermedad de curso gripal<sup>18</sup>. Es capaz de inhibir la inmunidad natural antiviral del organismo mediante la inactivación del factor de regulación 7, proceso que depende de la Proteasa 3C del virus<sup>13</sup>.

Su diagnóstico puede realizarse mediante análisis de laboratorio específicos, como la transcripción inversa de PCR en tiempo real<sup>19</sup>, realizados en muestras recogidas de la nariz y la garganta del paciente. De este modo se garantiza un diagnóstico preciso y por ende un mejor manejo de la infección.

No existe un tratamiento específico, por lo que en caso de observarse manifestaciones de tipo respiratorio sería conveniente tratar los síntomas con anticatarrales. De momento, tampoco existe una vacuna contra él, pero se está trabajando en inhibidores de la Proteasa 3C, que podrían evitar que la infección proliferara en el organismo, así como en inhibidores de la  $\alpha$ -ketoamida proteasa<sup>20, 21</sup>.

Ha sido considerado un EV de baja circulación asociado a cuadros respiratorios leves o moderados. Sin embargo, entre agosto y septiembre de 2014, se reportó un aumento de casos de infección respiratoria por EV-D68 en EEUU y Canadá, evolucionando en algunos pacientes a afecciones de tipo neurológico<sup>22</sup>. Aun no siendo casos mayoritarios, se ha observado un cierto número de pacientes que desarrollaron Parálisis Flácida Aguda, detectándose el EV-D68 en sus muestras de fluidos respiratorios y líquido cefalorraquídeo. Así como casos de Mielitis Flácida o incluso Meningitis Aséptica en los que éste virus ha sido aislado<sup>7</sup>.

Y así, tras la aparición del brote en Estados Unidos, se empezaron a dar casos similares en todo el mundo. Recientemente, la Organización Panamericana de Salud, publicó una alerta epidemiológica de Mielitis Flácida Aguda asociada a EV-D68 dentro del contexto de la vigilancia de la Parálisis Flácida Aguda<sup>23</sup>.

Anteriormente, en otros países ya se habían producido brotes, siendo el EV-D68 considerado como el principal agente causal de enfermedades respiratorias en China entre el 2009 y el 2012<sup>24</sup>. Otro ejemplo es Holanda, donde desde 2010 se producían brotes estacionales cada año, pero en el 2014 averiguaron, tras analizar la variación que sufría la secuencia de la

VP1 en el genoma, que los virus que dieron lugar al brote de Estados Unidos se asemejaban a los que había en Holanda<sup>25</sup>.

Se han producido situaciones similares en otros países de Europa, como en Francia, Alemania y Dinamarca, con casos de niños con enfermedad respiratoria. En lo que respecta a éste último país no se observaron pacientes con ningún síntoma neurológico<sup>26, 27</sup>. También ha llegado a España, donde sí ha habido pacientes menores con Parálisis Flácida, dando lugar a cierto interés mediático que ha alarmado a la población<sup>11</sup>.



## **2. OBJETIVOS**

En el presente trabajo se ha planteado como objetivo principal realizar una revisión bibliográfica sobre las características principales, fundamentalmente epidemiológicas, de los enterovirus relacionados con la parálisis flácida aguda.

Para cumplir este objetivo principal, se plantearon una serie de objetivos específicos:

- la situación epidemiológica del EV-D68 en nuestro entorno más cercano, en el contexto europeo y mundial.
- comparar la situación del EV-D68 con otros virus como el EV-A71
- describir en qué tipo de pacientes este virus ha dado lugar a enfermedades con sintomatología neurológica.
- comprobar si estamos ante una alerta real, saber si en efecto el EV-D68 es el agente causal de estos cuadros neurológicos o su detección en las muestras de pacientes con estas afecciones deriva de un mayor control diagnóstico.

### **3. MATERIAL Y MÉTODOS Y RESULTADOS**

Se trata de un estudio descriptivo de los trabajos seleccionados en una búsqueda bibliográfica.

Todos los documentos que se revisaron en este estudio fueron obtenidos de la consulta directa y acceso, vía internet, a la literatura científica indizada en estas bases de datos: MEDLINE (a través de PubMed), The Cochrane Library, Scopus y Web of Science.

Se trataron los artículos de cualquier país, siempre y cuando estuviesen disponibles al menos en inglés o español, y para definir los términos de búsqueda se utilizó el *Medical Subject Headings* (MeSH), un *thesaurus* desarrollado por la *U. S. National Library of Medicine*.

El descriptor (MeSH) empleado fue «*Enterovirus D, Human*» utilizado seguidamente en formato texto para interrogar al campo de registro de cada base de datos. La fórmula de búsqueda en PubMed fue:

*"Enterovirus D, Human"[Mesh]*

obteniéndose 188 resultados que quedaron reducidos a 178 al aplicársele el filtro *Humans*, para concretar la búsqueda a artículos sobre seres humanos.

En The Cochrane Library la ecuación de búsqueda fue:

*MeSH descriptor: [Enterovirus D, Human] explode all tres*

no obteniéndose ningún resultado.

El Servicio de Bibliotecas de la Universidad Miguel Hernández facilitó el acceso a The Web of Science y a Scopus. En la primera base de datos la ecuación fue:

*Tema: ("Enterovirus D, human")*

obteniéndose solo un resultado y en Scopus fue:

*(TITLE-ABS-KEY ("Enterovirus D, human"))*

En este caso el número de artículos recuperados fueron 165.

Se determinaron los siguientes criterios de inclusión que debían cumplir todos los artículos a estudiar: Los documentos deberían ser originales y adecuados a los criterios de búsqueda. Tratar sobre los Enterovirus D68, su

epidemiología, y sus manifestaciones neurológicas. Carecer de obsolescencia, la cual queda definida con un máximo de 6,8 años de antigüedad según el estudio de Fidas G. Arias<sup>28</sup>. En definitiva, se descartarían los trabajos publicados antes del año 2011. Además se debería poder acceder al texto completo del artículo y que no esté duplicado, así como que esté disponible, como ya se ha mencionado, en español o en inglés.

Tras realizar las búsquedas, se recopilaron un total de 343 artículos. Éste número se redujo a 312 cuando fueron descartados aquellos que se consideraban obsoletos. Una lectura ligera de los títulos de los mismos permitió eliminar de la lista los que se encontraban repetidos, quedándose en 157. Fueron descartados 73 al no ser posible acceder al texto completo o estar en un idioma distinto a los nombrados en los criterios de inclusión. De los 84 que quedaban, tras leer detenidamente los abstracts de cada uno, sólo fueron seleccionados 20, los cuales quedaban dentro de los criterios establecidos.

El tutor también proporcionaría tres abstracts extraídos de la web de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC) pertenecientes al XXI Congreso de dicha institución celebrado en Málaga en el año 2017. También proporcionó diecisiete artículos de gran relevancia para la realización de este trabajo. Todo lo anteriormente desarrollado se encuentra resumido en el **Diagrama 1**.

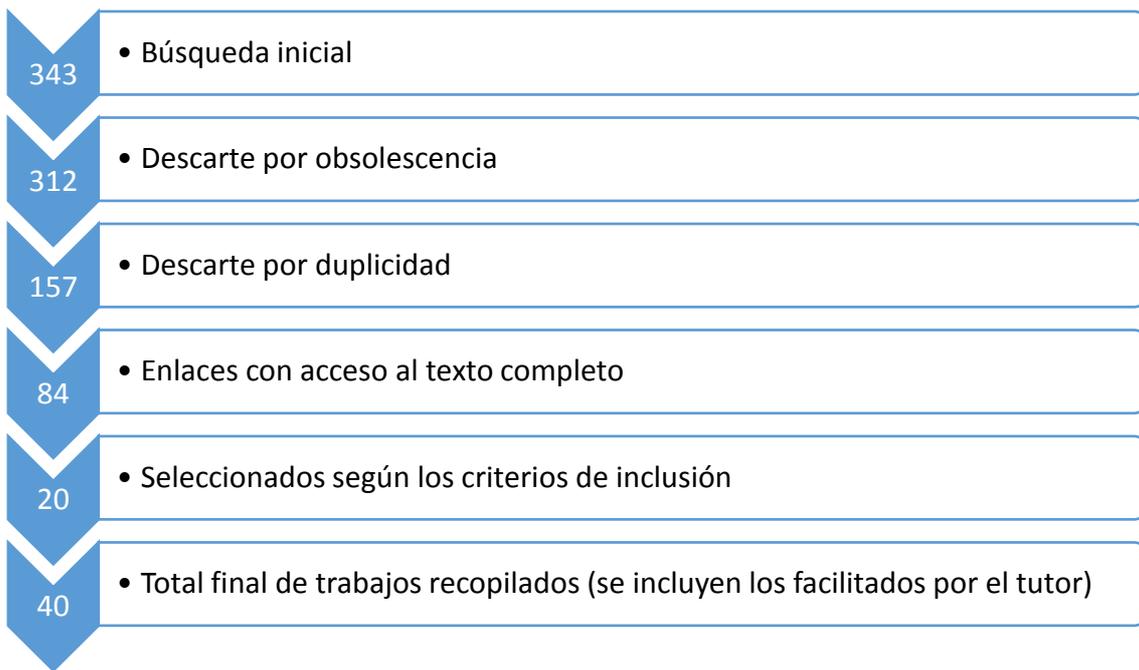


DIAGRAMA 1



## **4. DISCUSIÓN**

Durante varias décadas el conocimiento sobre los enterovirus estuvo enfocado en la investigación para la erradicación del virus de la polio<sup>29</sup>. Una vez que la gran mayoría de países del hemisferio norte quedaron libres de los poliovirus en los 90, los casos de Parálisis Flácida Aguda (PFA) que se dieron desde entonces se asociaban al Síndrome de Guillain-Barré, los Herpes virus, los adenovirus, los flavovirus (donde se encuentra el West Nile) y algunos enterovirus no polio como el EV-A71 y el EV-D68<sup>30</sup>.

España está “libre de polio” desde 2002. La Iniciativa Global de Erradicación de la Polio (GPEI), creada en 1988, ya ha certificado como “libre de polio” además de Europa, al continente americano (en 1994), el oeste del Pacífico (en 2000) y al Sudeste Asiático (en 2014). Desde el 88, la detección de PV ha descendido desde 350.000 casos a 37 en todo el mundo, siendo estos últimos notificados en 2016. De las tres cepas de poliovirus salvaje (1, 2 y 3), el poliovirus tipo 2 se erradicó en el 99, y no se han dado casos debidos al tipo 3 desde el último notificado en Nigeria en 2012. Actualmente, sólo en éste país, Pakistán, y Afganistán la circulación de PV es endémica. Sin embargo, en los últimos años ha habido un resurgimiento de los casos de polio en más de 20 países no-endémicos por diversos motivos. En África, por las bajas coberturas vacunales y los conflictos bélicos. Por todo ello, entre 2010 y 2014 hemos presenciado casos importados y brotes en Rusia, China, Siria, Somalia, Egipto e Israel, entre otros. Así, ahora que estamos en una etapa de pre-erradicación, la OMS insiste, en mantener altas coberturas vacunales y extremar la vigilancia de los casos<sup>31</sup>.

La vigilancia de casos de PFA, se complementa con la Vigilancia de otros EV no polio detectados en otras afecciones. En España la vigilancia de EV la realiza una red de laboratorios primarios (en las CCAA de Cataluña, Andalucía, Canarias, Galicia y Aragón) coordinados por el Laboratorio Nacional de Poliovirus (LNP) del Centro Nacional de Microbiología (CNM), el laboratorio de referencia en nuestro país para el estudio virológico de los casos a través del programa de Vigilancia de PFA en menores de 15 años<sup>32, 33</sup>.

El LNP del CNM lleva a cabo continuos estudios sobre la epidemiología molecular de los distintos EV, como el realizado entre 2010 y 2013. Analizó 1251 muestras positivas para EV de niños menores de 4 años en nuestro país. El 20% de las mismas correspondieron a neonatos, el 47% a niños entre 1 mes y dos años y el resto a niños por encima de 2 años. Se identificaron un total de 33 tipos diferentes. De entre todos ellos el EV-A71 fue principalmente detectado en niños entre 1 mes y dos años. El resto eran en su mayoría Coxsackievirus. Entre 2013 y 2015, los casos estudiados fueron similares a los ya mencionados, encontrándose el EV-A71 presente en torno al 3% de las muestras<sup>34</sup>.

#### 4.1 ENTEROVIRUS A71 (EV-A71)

Como ya se ha indicado, el EV-A71 puede ocasionar una parálisis que recuerda a la producida por PV (*polio-like disease*). En concreto en China, entre 2008 y 2010, se han detectado más de 4 millones casos, con casi 900 muertes, considerándolo desde entonces como una enfermedad de declaración obligatoria. De hecho, al EV-A71 se le denomina “el nuevo poliovirus” y en estas zonas el desarrollo de antivirales y vacunas es prioritario. Se desconoce con qué se asocia la mayor severidad. Se ha considerado que puede deberse a mutaciones en determinadas regiones. En concreto parece que el subgenotipo C4 es el implicado en estos casos más severos<sup>11</sup>.

En Europa se ha detectado un aumento de circulación del subgenotipo C4 en los últimos años (que es el que circula mayoritariamente en Asia), reportándose casos neurológicos severos asociados a este serotipo. Así, en Francia en 2012<sup>35</sup> se registró la muerte de un adulto inmunodeprimido con encefalitis y en Rusia<sup>36, 37</sup>, se ha comprobado un incremento del EV-A71, suponiendo entre el 18-80% de los detectados. Si bien se trata del subgenotipo C2 y no del C4. En Dinamarca entre 2009 y 2013 también se han incrementado los casos de EV-A71 con aumento también de los subgenotipos C4. A pesar de lo cual, los casos no han sido más severos<sup>38</sup>.

En España hasta ahora era muy infrecuente, y se asociaba a síndromes febriles. Desde 2012 se ha triplicado, asociado a síndrome febril y HFMD, pero hasta ahora no a patología neurológica grave<sup>39</sup>. En un estudio prospectivo realizado entre 2013 y 2015, de un total de 448 niños menores de 3 años, se ha detectado únicamente en 5 casos en Canarias ( tenían meningitis linfocitarias), y otro en Zaragoza (síndrome febril)<sup>34</sup>. No se ha asociado a ninguna parálisis flácida y no se detecta habitualmente en LCR.

#### 4.2 ENTEROVIRUS D68 (EV-D68)

Desde su descubrimiento en 1962, la detección del EV-D68 era anecdótica. La secuencia aislada aquel año fue replicada y almacenada en el Banco de Genes bajo el nombre de “cepa Fermon”, siendo desde entonces la cepa de referencia para detectar este virus<sup>40, 41</sup>. De 1970 a 2005 sólo se registraron 26 casos en los que el EV-D68 estuvo involucrado<sup>42</sup>.

La alarma generada en torno al EV-D68 vino promovida por el gran brote que se produjo en los Estados Unidos y Canadá durante el verano y el otoño de 2014. Los pacientes oscilaban entre los 6 y los 16 años, y un porcentaje importante requirió ingreso en UCI, afectando especialmente a asmáticos. Además del cuadro respiratorio más severo, empezaron a detectarse casos de enfermedad neurológica con parálisis flácida y ocasionalmente muerte, que han contribuido a la preocupación surgida por la emergencia de este virus<sup>43</sup>. Además de este brote, también contribuyó a la emergencia sanitaria, aunque con menor repercusión, el que se produjo en niños hospitalizados de Filipinas con neumonía entre Octubre de 2008 y Marzo de 2009. Desde ese momento, es considerado como un patógeno reemergente<sup>42</sup>. Pero esta no fue la primera ocasión en la que el EV-D68 se hizo notar en la comunidad sanitaria. Se conoce un caso en 2006 de un adolescente con PFA en cuyo líquido cefalorraquídeo (LCR) pudo aislarse el EV-D68<sup>29</sup>. Dos años después ocurría algo parecido con un niño de 5 años, en el que el virus fue aislado también en el LCR. En este caso el niño acabaría perdiendo la

vida<sup>44</sup>. Pero estos casos, como se detallará más adelante, resultan ser excepcionales, pues es raro hallar este virus en el LCR.

Como se explica en el trabajo de Cristina Calvo et. al., entre los años 60 y los 90 la secuencia de la región espaciadora de la VP1 ha ido sufriendo reordenamientos consistentes en dos deleciones que presentan un efecto significativo al inicio de la translación de la secuencia. Los trabajos de Cristina Calvo et. al. muestran que en su origen, la región espaciadora se constituía de 150 a 180 nucleótidos y hoy en día ha quedado reducida de 130 a 115<sup>40</sup>. Estas mutaciones han podido modificar la virulencia, así como contribuir a las manifestaciones clínicas y a la gravedad de la enfermedad, como ocurre con el EV-A71 y otros virus<sup>42</sup>. El tropismo respiratorio, entendido como la afinidad del virus por el tejido del tracto respiratorio, también se ve aumentado a causa de estas deleciones, como pasa con los Rhinovirus, cuya región espaciadora es mucho más corta<sup>40</sup>. Algo que ha podido motivar un incremento de la presencia del virus en la comunidad es que las infecciones respiratorias por Enterovirus y Rhinovirus no son de declaración obligatoria en la Unión Europea, además de subestimarlos al considerar bajo su riesgo de transmisión.

En 2016 el trabajo de Yu-Nong Gong permitió el análisis filogenético y de diversidad genética en todas las secuencias disponibles del D68 del Banco de Genes, así como 11 cepas aisladas en 2014 en Taiwán. En el Banco hay secuencias aisladas de la gran mayoría de brotes que se han producido en la última década y de él fueron extraídos 1.248 genomas parciales y 147 enteros. A partir de ellos se determinaron 169 cepas de EV-D68. Con ellas se generó un árbol filogenético en el que se encontraban los Subtipos ya conocidos A, B (subdividido en B1 y B2), C y D, añadiéndose uno nuevo, el B3, el subtipo que predomina en Asia Oriental y al que se le asocian varios casos severos en otros puntos del mundo<sup>42</sup>.

#### 4.2.1 EV-D68 EN PATOLOGÍAS NO NEUROLÓGICAS

En España se registraron varias series de infecciones por EV-D68. La más numerosa, se realizó entre 2012-2013 en niños hospitalizados, niños

con infecciones respiratorias ambulatorias y controles sanos. El virus se detectó en el 2,5% de los niños hospitalizados con infección respiratoria, pero también en uno con infección leve y en otro asintomático<sup>45</sup>. Ninguno de estos pacientes fue ingresado en la UCI y el cuadro se caracterizó por afectar a niños en edad preescolar, con episodios de sibilancias o crisis asmática. Inicio brusco y corta duración. Los cuadros no difirieron de los causados por otros virus como el Rhinovirus. Estos datos son muy similares a los publicados por otros autores en San Louis durante el brote de 2014<sup>46</sup>.

Por otro lado, el LNP, desde finales del año 2014, está recibiendo un número creciente de muestras clínicas procedentes de pacientes con diferentes patologías respiratorias en los que se había detectado EV. La caracterización del sero/genotipo demostró que, desde octubre 2014 hasta mayo 2016, el EV más frecuentemente detectado en infección respiratoria ha sido el D68 con un 13%, seguido de CV-A6 y E-6<sup>11</sup>.

Otros grupos han reportado casos en Barcelona y Madrid, y algunos de los niños han requerido ingreso en la UCI, pero con resultado favorable<sup>47-49</sup>. En Europa se ha referido un caso fatal de enfermedad respiratoria en un paciente inmunodeprimido<sup>50</sup>.

#### 4.2.2 EV-D68 y PFA

Cabe recordar que este tipo de virus, por lo general, es asintomático, por lo que muchos casos pueden pasar inadvertidos. Y el aumento de casos de enfermedad no tiene por qué sugerir una modificación de la patogenia del virus, sino un mayor número de gente infectada, a consecuencia del incremento de la virulencia.

Si hay algo que hace que el resurgimiento de este virus como patógeno de gran virulencia en todo el mundo sea considerado como un problema sanitario es su vinculación con casos de afecciones neurológicas, como la PFA o la Meningitis Aséptica. El tropismo neurológico está descrito especialmente en los Poliovirus y en el EV-A71, además de otros virus antes mencionados<sup>51</sup>. En cada uno de los brotes producidos, los pacientes con estas

patologías han sido los más minoritarios, pero su situación no deja de ser preocupante.

El caso de 2008 de un niño de cinco años descrito por Justin D. Kreuter et. al. es uno de los primeros en los que se estableció la asociación entre el EV-D68 y patologías neurológicas. El suceso se produjo en New Hampshire (EE.UU.) y resultó, como ya se ha comentado, en el fallecimiento del menor. Los hallazgos post-mortem detectaron el virus en el LCR, neumonía aguda con hemorragia e inflamación de los pulmones, bazo y encéfalo. Presentaba un excesivo infiltrado linfocitario en el núcleo motor, siendo sus neuronas positivas para la perforina, sustancia citotóxica producida por los linfocitos T. Este fenómeno es debido a que los linfocitos B impiden la replicación del virus y lo aíslan con la ayuda de los macrófagos. Los linfocitos T llegan al punto donde se encuentran aislados los virus y lo intentan destruir produciendo daño tisular y muerte celular<sup>44</sup>.

Durante el brote de EE.UU. se registraron 120 pacientes con Mielitis Flácida Aguda, un tipo de PFA, y de todos ellos, solamente en uno se detectó el D68 en el LCR. En el resto, el virus pudo ser detectado en muestras respiratorias, pero solo en un 20% de las mismas. La enfermedad neurológica se caracterizaba por la debilidad flácida asimétrica de las extremidades con alteraciones en la materia gris. Todo muy parecido a la Parálisis Flácida de la Polio<sup>30</sup>.

Es difícil saber si hubo un incremento de casos de este tipo porque en EE.UU. la vigilancia de la MFA y la PFA no es común. El aumento de los casos de MFA vino acompañado del aumento de los casos de enfermedad respiratoria por EV-D68 y bajaron cuando éstos últimos disminuyeron, a mediados de Diciembre. Esta situación dio a suponer que se trató de una asociación temporal, puesto que en 2015 no se observó. Eso y que sólo se detectase el virus en una sola muestra de LCR, la cual presentaba glóbulos rojos. Este detalle hace pensar que el D68 llegó al LCR por la sangre y no por haber provocado la enfermedad neurológica. Se sabe que el virus puede infectar los linfocitos y de este modo llegar a otros puntos del organismo<sup>29</sup>.

El trabajo de James J. Sejvar et. al. muestra que el EV-D68 es necesario pero no suficiente para provocar la MFA, en lugar de ser verdaderamente invasivo. Es posible que otros factores, junto con el propio virus, sean los desencadenantes. También se planteó la etiología autoinmune, pero se rechazó por los hallazgos, que señalan a un patógeno neuroinvasivo, sugerido por el comienzo abrupto de la debilidad, la afección de la materia gris y la falta de respuesta a la terapia inmunosupresora<sup>30</sup>.

Tampoco era la primera vez que se estudiaba la MFA en EE.UU. Antes y durante el brote, entre 2012 y 2015 se reportaron 59 casos de un síndrome distinto de PFA con mielitis anterior, que era como se denominaba anteriormente a la MFA, y englobaba a casos con debilidad flácida aguda, lesiones en la sustancia gris de la médula espinal y en la neurona motora<sup>52</sup>.

La mayoría de afectados eran niños varones de entorno a los 7 años, sólo habiendo 9 pacientes con más de 21 años. Casi todos tenían como enfermedad subyacente el asma. En todos los casos, previamente a las afecciones neurológicas, había enfermedad respiratoria. Éste fenómeno de neuropatía precedida por cursos gripales o catarrales era conocido como Síndrome de Hopkins, que fue descrito en 1972. Con los datos descubiertos a raíz del brote de 2014, es posible que este Síndrome, y por lo tanto, estos casos producidos entre 2012 y 2015 estén muy relacionados con lo ocurrido en Estados Unidos en 2014 y en otras partes del mundo. Nuestro EV-D68 puede estar detrás de este Síndrome<sup>52</sup>.

Una situación que cabe reseñar, y que también ocurrió durante el brote de EE.UU., fue el de un caso con PFA en el que el virus aislado no fue el EV-D68, sino el Enterovirus C105 (EV-C105)<sup>53</sup>. La niña que presentaba dicho virus tenía 6 años y tenía debilidad muscular. A penas dos semanas antes tanto ella como varios miembros de su familia tuvieron enfermedad respiratoria. El virus fue detectado solamente en muestras nasofaríngeas. El EV-C105 fue descubierto en 2010 en pacientes peruanos y en la República Democrática del Congo. Es miembro de la especie C de Enterovirus (recordar que hay A, B, C y D) la cual incluye los Poliovirus y 11 serotipos de Coxsackievirus A. Sólo se asociaba con enfermedad respiratoria, salvo un caso fatal con PFA visto en el

país africano. Por otro lado, en la paciente en cuestión no se detectó el EV-D68 en ninguna muestra. No se ha visto ningún caso similar desde este último en 2014, por lo que no podemos considerar todavía al C105 como una amenaza real.

Mientras que eso ocurría en Norteamérica, en Francia se produjo el primer caso de un paciente con PFA en cuyas muestras se aisló un EV-D68 que era genéticamente muy parecido al que circulaba por EE.UU. (Subtipo B)<sup>51</sup>. El niño en cuestión tenía 4 años y no había salido de Francia ni había tenido contacto con ningún americano. Su LCR no contenía enterovirus, pero sí presentaba pleocitosis (células en el LCR) y las pruebas de imagen revelaron que, a nivel neurológico, sólo estaba dañada la vía motora.

Éste es uno de los tres casos de esta índole vistos durante el 2014 en Europa. Los otros dos se dieron en Noruega<sup>41, 54</sup>.

Volviendo a EE.UU. uno de los pocos casos en los que estas alteraciones neurológicas asociadas al D68 afectó a un adulto, fue el descrito por R. K. Wali et. al. Se trata de un hombre de 45 años que pasadas ocho semanas de un trasplante de riñón, desarrolló enfermedad respiratoria detectándose el virus en sus muestras nasofaríngeas. Al poco tiempo desarrolló una diplopía binocular que evolucionó a disfunciones del nervio craneal (Síndrome Bulbar Agudo). Le siguió Parálisis Flácida asimétrica del brazo izquierdo y retención urinaria. Mostraba alteraciones en la materia gris de la médula espinal y en las células del cuerno anterior del mesencéfalo<sup>55</sup>. En el estudio desarrollado en torno a este paciente se sospechó que su enfermedad se debía a que se encontraba inmunodeprimido por el reciente trasplante, considerándose entonces como grupos de riesgo para el D68 a los niños y los adultos inmunocomprometidos. Se llegó a la posibilidad de que en éste paciente y en los niños hubiera una infección concomitante de un *Picornavirus* con neurotropismo y, como ya se ha mencionado, la presencia del D68 en el organismo contribuya a su diseminación hasta el SNC. También se elaboró otra teoría consistente en que el D68 presente una afinidad por el receptor del Poliovirus humano, imitando de esta manera las patologías de la poliomiелitis<sup>55</sup>.

Todas estas lesiones descritas se asemejan a las que causan el A71 y los Poliovirus, así como el West Nile. Prácticamente todos los casos coinciden en los síntomas, el curso y los resultados de analíticas, siendo muy pocas las veces en las que el EV-D68 fue aislado en el LCR, sólo detectándose en las muestras respiratorias. Por lo general, cuando los pacientes quedan curados, no se conserva en ellos ningún signo de enfermedad neurológica, salvo excepciones como una niña noruega que perdió gran parte de su movilidad<sup>56</sup>.

Sin embargo, ciñéndonos a los resultados de laboratorio es difícil establecer una asociación real entre el virus y la enfermedad neurológica. Es su ausencia en el LCR lo que desmonta las teorías. En 2016 se realizó un estudio de casos-controles retrospectivo en 11 niños de Colorado (EE.UU.) que desarrollaron MFA en 2014 teniendo 10 un pródromo respiratorio con EV-D68 en las muestras de cuatro<sup>57</sup>. Éstos niños fueron comparados con un grupo con enfermedad respiratoria aguda y otro infectado por *Bordetella pertussis*. Los análisis ajustados indicaron que, para los niños con MFA, las probabilidades de tener infección por EV-D68 eran 10.3 veces mayores que las de aquellos con pruebas de infección respiratoria aguda y 4.5 veces mayores que los examinados por infección por *B. pertussis*. Por lo tanto existe una asociación estadística entre el virus y las enfermedades neurológicas, además de plausibilidad biológica<sup>57</sup>.

H C Pfeiffer et. al. indican que lo que haría definitiva la relación entre el EV-D68 y la MFA sería detectar anticuerpos anti EV-D68 intratecales (dentro del LCR), indicando de esta manera que el patógeno es neurotrófico<sup>56</sup>. Cada vez hay más casos de MFA asociada a D68, pero puede que esto no sea por el neurotropismo del virus, sino por un mayor número de infectados, como ya se ha descrito previamente. Dentro del trabajo de H C Pfeiffer et. al. se plantea que ciertas mutaciones en regiones concretas del genoma vírico puede que sean las responsables del tropismo neurológico, o que haya factores relacionados con los hospedadores que determinen el curso de la enfermedad. Esto último se propuso al encontrarse una secuencia idéntica del VP1 en el

D68 hallado en una de las pacientes noruegas con MFA y en el D68 de un niño de enfermedad exclusivamente respiratoria<sup>56</sup>.

Pasado el brote de 2014, en el 2015 se registraron casos de D68 involucrados en enfermedades nerviosas en España, y en 2016 en otros países de Europa. En Holanda se detectaron 25 pacientes con enfermedad respiratoria por D68, siendo 20 de las secuencias obtenidas pertenecientes al subgrupo de reciente descubrimiento B3. Las muestras en las que fue aislado eran de esputo y nasofaríngeas. Seis de los ocho adultos implicados eran trasplantados y cursaban con sintomatología gripal. Veintiuno tenían una enfermedad subyacente o recurrente, sólo un niño de 4 años presentaba MFA. Todos eran de distintos puntos de los Países Bajos por lo que no había un enlace epidemiológico entre ellos. Hubo más ingresos en UCI que en los brotes producidos de 2010 a 2014. Se pensaba que el niño tenía el Síndrome de Guillain-Barré, pero fue descartado al verse alteraciones del axón motor y de la célula del cuerpo anterior, así como el conjunto del cuadro clínico<sup>58</sup>.

La situación fue muy parecida en otros países europeos, como se recoge en la comunicación de Antona D. et. al. publicada en 2016, registrándose en Francia un incremento de las enfermedades neurológicas graves, informando a todos los países europeos de esta amenaza. Allí fueron detectados 52 niños con síntomas neurológicos. En 8 de ellos se aisló el D68, pero en 21 el virus hallado fue el EV-A71. Como ya se sabe es uno de los enterovirus no polio más neuropático en humanos y 18 de ellos pertenecían al subgenotipo C1. El subgenotipo más común de A71 en Francia es el C2. El C1 nunca había sido visto y éstos estaban muy estrechamente relacionados con un EV-A71-C1 detectado en Alemania en 2015<sup>59</sup>.

En España los primeros pacientes con Parálisis Flácida severa asociada al D68 se produjeron entre Enero de 2015 y Mayo 2016. En 5 de los 43 casos de PFA notificados durante ese periodo se detectó un EV en heces, siendo identificado como EV-D68 en 3 de ellos<sup>60</sup>. En el **Cuadro 1** se presentan las características epidemiológicas, clínicas y de laboratorio de estos 5 casos.

Casos de Parálisis Flácida Aguda (PFA) notificadas al Sistema de Vigilancia de PFA en los que se ha identificado Enterovirus, años 2015-2016									
Año	CCAA	Fecha de Inicio de la Parálisis	Edad	Sexo	Localización de la Parálisis	Enterovirus	Diagnóstico de laboratorio	Diagnóstico clínico	Enfermedad residual a los 60 días
2015	Murcia	31/10/2015	1 año	H	Miembros	Coxsackievirus A22	Heces: PCR+ LCR: PCR (-)	Síndrome de Guillén Barré	Parálisis Residual
2015	Aragón	03/12/2015	4 años	H	Miembros	Enterovirus D68	Exudado respiratorio: PCR + Heces: PCR+ LCR: PCR (-)	Rombencefalitis con tetraparesia flácida	Parálisis Residual
2016	Cataluña	11/02/2016	2 años	M	Miembros y Bulbar	Enterovirus D68	Exudado respiratorio: PCR + Heces: PCR+ LCR: PCR (-)	Polirradiculoneuritis / Sínd. Guillén/Barré	Parálisis Residual
2016	Galicia	22/03/2016	22 meses	H	Miembros	Enterovirus D68	Exudado respiratorio: PCR + Heces: PCR+ LCR: PCR (-)	Mielitis transversa aguda	Parálisis residual
2016	C Valenciana	15/02/2016	4 años	M	Miembros y Bulbar	Coxsackievirus A6	Heces: PCR+	Síndrome de Miller Fisher	Sin Parálisis

CUADRO 1. Datos del trabajo de Mesa Calle J et al. (60)

Otro estudio<sup>61</sup>, se centró en los casos de tres niños de entre 20 meses a cuatro años con cuadros similares a los producidos en otros países: enfermedad respiratoria que derivó en debilidad muscular de los miembros superiores. En la niña de 4 años los síntomas empeoraron después de tratarla con antimicrobianos ante la sospecha de una meningitis bacteriana. Todos mostraban leucocitosis con neutrofilia, pleocitosis y cultivos fecales víricos negativos. Dieron positivo en muestras fecales y respiratorias tras realizar una RT-PCR en cada una de ellas. Los 3 pacientes estaban vacunados según el calendario vacunal de cada región y no habían salido del país. Los EV-D68 de los tres pacientes eran del Subgrupo B, pero la del paciente de 2015 era B2 y los dos de 2016 del B3<sup>61</sup>.

La comunicación presentada en el XXI congreso de la SEIMC en Málaga describe un brote en Guipúzcoa en la primavera de 2016, siendo detectado el D68 en las muestras nasofaríngeas de 44 niños y 7 adultos (2 de ellos inmunodeprimidos). Sólo una niña de 3 años desarrolló MFA, no detectándose el virus en el LCR. Todos los demás pacientes presentaban síntomas respiratorios. La mayoría de los EV-D68 aislados pertenecían al Subgrupo B3<sup>62</sup>.

En Burgos y en Elche se producía un incremento de enfermedades neurológicas asociadas a EV-A71, siendo el primer brote de estas características en la ciudad alicantina<sup>63, 64</sup>. En Cataluña también se produjo un brote de éste virus casi al mismo tiempo que en Francia<sup>59</sup>.

El A71 está perfectamente reconocido como agente causal de patologías neuronales desde hace tiempo y tiene una característica llamativa, y es que no puede ser detectado en el LCR<sup>61</sup>. En este sentido cabe destacar la dificultad en la detección del EV-D68 en el LCR, que constituye el motivo principal por el que la asociación entre el D68 y la PFA aun no está del todo aceptada.

En 2016 un estudio analizó los requerimientos para que un receptor fuese afín al D68, mediante un cribado genético haploide<sup>65</sup>. Se realizó una pantalla haploide en todo el genoma para la cepa Fermon y así obtener una visión general de los factores celulares que promueven la infección por D68. Se comprobó que el virus presenta afinidad por el ácido siálico de superficie celular (Sia), tanto el unido por  $\alpha 2,6$  como el  $\alpha 2,3$  (éste segundo es más abundante en el tejido respiratorio inferior). Pero algunas cepas de las que han ido surgiendo desde su descubrimiento podían infectar células carentes de Sia, por lo que podrían utilizar un receptor alternativo no sialilado. Aun así estas cepas aun pueden unirse al Sia de los eritrocitos humanos. Todo esto aumenta la posibilidad de que estos virus usen receptores múltiples, apoyando la idea antes explicada de la capacidad del virus de presentar afinidad por el receptor de Poliovirus humano<sup>55</sup>. También se observó que la afinidad por el Sia puede estar determinada por los residuos cercanos al sitio de unión del virus a la molécula. Unas pocas sustituciones de aminoácidos en esa zona podrían alterar la afinidad por el Sia, algo que es muy probable que se haya producido debido a las sucesivas mutaciones que ha ido sufriendo la especie desde 1962<sup>40</sup>.

Pero aun existen dudas para establecer definitivamente la asociación entre el D68 y la enfermedad neurológica, y por ello en 2016 se desarrolló un modelo animal mediante cribado de 7 cepas de EV-D68 para la capacidad de inducir la enfermedad en ratones neonatales<sup>66</sup>. De las cinco

cepas del brote de 2014, cuatro produjeron una enfermedad parálitica en los ratones similar a la MFA humana. Mientras, la cepa remanente de dicho brote y las cepas del prototipo Fermon de 1962 no produjeron, o raramente produjeron parálisis en los ratones<sup>66</sup>.

El examen de la parálisis causada por una cepa de 2014, reveló virus infeccioso, partículas víricas y genoma viral en la médula espinal de los ratones paralizados. La parálisis se produjo tras una enfermedad intramuscular, intracerebral, intraperitoneal e intranasal, y se asoció con infección y muerte de neuronas motoras en los cuernos anteriores de la médula espinal, igual que en algunos casos en humanos. Se elaboró un suero inmune al EV-D68 y se les administró a algunos ratones. A otros se les inyectó un suero normal. Cuando el virus aislado de la médula de ratones infectados fue inyectado en los ratones que no habían recibido el suero inmune acabaron contagiados y padeciendo la misma enfermedad, cumpliendo, según se explica en el artículo, con los postulados de Koch. Los que sí tenían el suero inmune al virus quedaron protegidos contra el desarrollo de la parálisis<sup>66</sup>.

El estudio de Kevin Messacar et. al. publicado en Febrero de 2018 respalda la asociación virus-enfermedad con la aplicación de los criterios de Bradford-Hill<sup>67</sup>. Según el artículo los criterios de fuerza, consistencia, temporalidad, verosimilitud, coherencia, experimento y analogía se cumplen. En cambio, los criterios de especificidad y gradiente biológico son insuficientes, pero, como se explica, estos mismos criterios no se cumplen para muchas condiciones infecciosas que se consideran reales como con el EV-A71 y la MFA asociada al virus West Nile. Si existe una relación causal, por la falta de especificidad, la MFA sería una manifestación infrecuente del EV-D68 y éste es solo uno de los muchos patógenos que pueden provocarla<sup>67</sup>.

#### 4.3 SITUACIÓN EPIDEMIOLÓGICA

Previamente al brote de 2014, en Europa se dieron algunos esporádicos. Se tiene constancia de uno en España en 2010 y de la presencia de al menos 12 pacientes con enfermedad respiratoria en los que se detectó el

D68 entre 2012 y 2013 en el Hospital Severo Ochoa de Madrid. En Francia entre 2009 y 2010 se detectaron 10 cepas de D68. En los Países Bajos, desde 2011, existe una circulación estable del virus durante los periodos de otoño e invierno, afectando en mayor medida a niños menores de 10 años. Y en Italia entre 2008 y 2009 fueron detectados 12 pacientes con el virus<sup>40</sup>. Unos años después, se registraron los casos de dos niños italianos con Meningitis Aséptica (MA) en cuyos LCR fue detectado el D68<sup>68</sup>.

Una vez se produjo la emergencia en Norteamérica en el 2014, el Centro Europeo de Control y Prevención de Enfermedades avisó a los países de Europa de vigilar con mayor detención las muestras destinadas al screening de enterovirus y los casos de enfermedad respiratoria grave. Un estudio<sup>54</sup> con el objetivo de determinar la epidemiología en Europa del EV-D68 recogió datos del 1 de Julio al 1 de Diciembre de 2014 para secuenciar la VP1. De 17.248 especímenes, sólo 389 eran positivos para EV-D68 en 14 países, dándose más en niños y adultos inmunocomprometidos.

Los virus vistos en Europa fueron genéticamente similares a los de EE.UU. y la mayoría fueron asignados al Subtipo B2. Las mayores tasas de detección se dieron en los países escandinavos (Dinamarca, Noruega y Suecia) y en Centroeuropa, habiendo menos en España e Italia. Esta disgregación en el continente con mayor presencia en el norte y menor en el sur puede deberse a que, como ya se sabe, el virus no sobrevive a temperaturas mayores de 33°C, y los países del norte tienen veranos más frescos que en el sur. En Noruega no llegó a haber muertes, pero los casos más graves ocurrían en pacientes con antecedentes de asma y alergias<sup>54</sup>.

Durante el 2016 en Cataluña se detectó un aumento del número de pacientes pediátricos con enfermedad neurológica aguda en los que se ha detectado EV. El primer caso ocurrió en Febrero de 2016, con una parálisis flácida en una niña que empezó con dificultad respiratoria y evolucionó a una grave tetraplejia; el virus se identificó como el D68<sup>11</sup>.

A partir de finales de marzo y primeros de abril empezaron a diagnosticarse pacientes con cuadros clínicos de rombencefalitis e incluso algún caso de fracaso cardio-respiratorio con edema agudo pulmonar

neurogénico. El factor común en todos los casos ha sido la ausencia de EV en el LCR pero sí en muestras respiratorias y fecales, y la existencia de rombencefalitis en la RM. En todos el D68 se identificó gracias a la PCR específica. La escasa cantidad de EV en las muestras dificultó la identificación del virus, aunque los primeros resultados se identificaron la mayoría como de la especie A, siendo alguno caracterizado como el EV-A71, como sugería desde el principio la sintomatología de los pacientes<sup>11</sup>.



## **5. CONCLUSIONES**

1. El EV-D68 es un patógeno que desde hace una década está incrementando su virulencia y patogenicidad en todo el mundo.

2. Las mutaciones que ha ido sufriendo desde su descubrimiento han contribuido a este proceso, hasta el punto de dar lugar a nuevos subgrupos como el B3 cuya peligrosidad aun está por investigar, pero pueden ir ligadas al incremento de los casos de enfermedades neurológicas.

3. Es muy probable que el aumento de PFA, MFA y Meningitis Asépticas asociadas al D68 sea debido a que el contagio de este virus está creciendo en la población mundial y estos sucesos, aun siendo minoritarios, ya suponen un número preocupante de pacientes.

4. La patogenicidad de la enfermedad neurológica se asemeja en muchos aspectos a la que provocan algunos familiares del D68, entre ellos los Poliovirus.

5. Aunque son pocos los pacientes que han sufrido secuelas con parálisis o movilidad reducida tras la enfermedad (algo que contrasta con el virus de la polio), la similitud del transcurso de la enfermedad y el hecho de pertenecer a la misma familia vírica, podría indicar una posible evolución del virus como patógeno con tropismo neurológico, al igual que el A71, que también se está haciendo notar en varias regiones de Europa. O incluso que estemos ante un conjunto de virus (en el que se incluiría el D68) que podrían considerarse como los causantes de un nuevo tipo de poliomielitis. Algo así como una Polio del siglo XXI, que por su virulencia y contagio alrededor del mundo, podría tratarse de la perfecta sucesora de la ya casi extinta enfermedad.

6. Es importante llevar un control exhaustivo de los EV-D68 aislados de muestras respiratorias y de los pacientes con MFA y otras alteraciones neuronales, así como fomentar el desarrollo de estrategias preventivas y terapéuticas.

7. Las múltiples cepas podrían complicarlo, pero el hallazgo de una vacuna eficaz contra este virus y otros con tropismo neurológico podrían prevenirnos de un posible peligro potencial en la salud pública mundial.



## **6. BIBLIOGRAFÍA**

1. G Reina-González. Estudio clínico-epidemiológico de Enterovirus no polio y optimización del cultivo celular [Tesis Doctoral]. Granada: Universidad de Granada; 2007. 186 p.
2. F Martín-Del Valle. Infecciones pediátricas por parechovirus. Estudio prospectivo y multicéntrico de ámbito nacional, comparación con infecciones por enterovirus [Tesis Doctoral]. Madrid: Universidad Autónoma de Madrid; 2017. 206 p.
3. Knowles NJ, Hovi T, Hyypia T, AMQ King, M Lindberg, MA Pallansch et al. Picornaviridae. In: King AMQ, Adams MJ, Carstens EB, Lefkowitz EJ, eds. Virus Taxonomy: Classification and Nomenclature of Viruses: Nintyh Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. San Diego: Elsevier; 2011: 855-80.
4. O Hellferscee, FK Treurnicht, S Tempia, E Variava, H Dawood, K Kahn, et al. Enterovirus D68 and other enterovirus serotypes identified in South African patients with severe acute respiratory illness, 2009–2011. *Influenza Other Respi Viruses*. 2017;11:211–219.7
5. CM Oermann, JE Schuster, GP Connors, JG Newland, R Selvarangan, MA Jackson. Enterovirus D68 a Focused Review and Clinical Highlights from the 2014 US Outbreak. *Ann Am Thorac Soc*. 2015;12(5):775–781.
6. M Lerma-Sánchez, A Farga-Martí. Enterovirus: Características y diagnóstico. Hospital Clínico Universitario de Valencia; 2000. 5 p.
7. Du J, Zheng B, Zheng W, Li P, Kang J, Hou J, et al. (2015) Analysis of Enterovirus 68 Strains rom the 2014 North American Outbreak Reveals a New Clade, Indicating Viral Evolution. *PLoS ONE*. 2015;10(12):1-13.
8. Rodrigo Gonzalo de Liria C. Poliomieltis y otras infecciones causadas por enterovirus. En: *Medicina Interna*. Farreras-Rozman, 18ª ed. Barcelona, Elsevier 2016 (en prensa)
9. de Ory F, Avellón A, Echevarría JE, Sánchez-Seco MP, Trallero G, Cabrerizo M, Casas I, Pozo F, et al. Viral infections of the central

- nervous system in Spain: a prospective study. *J Med Virol.* 2013 Mar;85(3):554-62.
10. Cabrerizo M, Trallero G, Echevarría JE, Moreno-Docón A, Pena MJ, Pérez-Ruiz M, Avellón A, de Ory F; Meningitis, Encephalitis Spanish Study Group. Molecular characterization of enteroviruses associated with neurological infections in Spain, 2008. *J Med Virol.* 2013 Nov;85(11):1975-7.
  11. C Calvo, C Rodrigo, M Cabrerizo, I Casas. Infecciones por enterovirus, revisión de la situación en España. *Sociedad Española de Infectología Pediátrica.* 2016.
  12. Yang B, Wu P, Wu JT, Lau EH, Leung GM, Yu H, Cowling BJ. Seroprevalence of Enterovirus 71 Antibody Among Children in China: A Systematic Review and Meta-analysis. *Pediatr Infect Dis J.* 2015 Dec;34(12):1399-406.
  13. Xiang Z, Liu L, Lei X, Zhou Z, He B, Wang J. 2016. 3C Protease of enterovirus D68 inhibits cellular defense mediated by interferon regulatory factor 7. *J Virol.* 2016;90:1613–1621.
  14. S Esposito, S Bosis, H Niesters, N Principi. Enterovirus D68 Infection. *Viruses.* 2015;7:6043–6050.
  15. Yue L, Ju S, Jim B, Geng M, Chuan X, HJ Thibaut et al. Sialic acid-dependent cell entry of human enterovirus D68. *Nature Communications.* 2015;6:1-7.
  16. Wei W, Guo H, Chang J, Yu Y, Liu G, Zhang N et al. ICAM-5/Telencephalin Is a Functional Entry Receptor for Enterovirus D68. *Cell Host Microbe.* 2016 Nov 9;20(5):631-641.
  17. R Tokarz, C Firth, SA Madhi, SRC Howie, W Wu, AA Sall et al. Worldwide emergence of multiple clades of enterovirus 68. *Journal of General Virology.* 2012;93:1952–1958.
  18. Departamento de Salud Pública de Alabama Infectious Diseases & Outbreaks Division, 201 Monroe St, Montgomery, AL 36104 800-338-8374 [www.adph.org/epi](http://www.adph.org/epi)

19. Piralla A, Girello A, Premoli M, Baldanti F. A new real-time reverse transcription-PCR assay for detection of human enterovirus 68 in respiratory samples. *J Clin Microbiol.* 2015 May;53(5):1725-6.
20. Sun L, Meijer A, Froeyen M, Zhang L, Thibaut HJ, Baggen J et al. Antiviral Activity of Broad-Spectrum and Enterovirus-Specific Inhibitors against Clinical Isolates of Enterovirus D68. *Antimicrob Agents Chemother.* 2015 Dec;59(12):7782-5.
21. Y Kim, AC Galasiti Kankanamalage, VC Damalanka, PM Weerawarna, WC Groutas, KO Chang. Potent Inhibition of Enterovirus D68 and Human Rhinoviruses by Dipeptidyl Aldehydes and  $\alpha$ -Ketoamides. *Antiviral Res.* 2016;125:84–91.
22. Skowronski DM, Chambers C, Sabaiduc S, Murti M, Gustafson R, Pollock S, et al. Systematic community- and hospital-based surveillance for enterovirus-D68 in three Canadian provinces, August to December 2014. *Euro Surveill.* 2015;20(43).
23. Organización Panamericana de la Salud / Organización Mundial de la Salud. Alerta Epidemiológica: Mielititis Flácida Aguda (MFA) asociada a la infección por enterovirus humano D68 en el contexto de la vigilancia de la Parálisis Flácida Aguda, 1 de noviembre de 2017, Washington, D.C. OPS/OMS. 2017
24. Qing-Bin L, Ying W, Hong-Yu W, Mao-Ti W, Lei Z, Hong Y, et al. Detection of enterovirus 68 as one of the commonest types of enterovirus found in patients with acute respiratory tract infection in China. *Journal of Medical Microbiology.* 2014;63:408–414.
25. Meijer A, Benschop KS, Donker GA, van der Avoort HG. Continued seasonal circulation of enterovirus D68 in the Netherlands, 2011–2014. *Euro Surveill.* 2014;19(42):1-6.
26. Böttcher S, Prifert C, Weißbrich B, Adams O, Aldabbagh S, Eis-Hübinger AM, Diedrich S. Detection of enterovirus D68 in patients hospitalised in three tertiary university hospitals in Germany, 2013 to 2014. *Euro Surveill.* 2016;21(19):1-9.

27. Midgley SE, Christiansen CB, Poulsen MW, Hansen CH, Fischer TK. Emergence of enterovirus D68 in Denmark, June 2014 to February 2015. *Euro Surveill.* 2015;20(17):1-6.
28. Fidiás G. Arias. Obsolescencia de las referencias citadas: un mito académico persistente en la investigación universitaria venezolana. *e-Ciencias de la Información.* 2017;7(1):14p.
29. Foster CB, Friedman N, Carl J, Piedimonte G. Enterovirus D68: a clinically important respiratory enterovirus. *Cleve Clin J Med.* 2015;82(1):26-31.
30. Sejvar JJ, Lopez AS, Cortese MM, Leshem E, Pastula DM, Miller L, et al. Acute Flaccid Myelitis in the United States, August-December 2014: Results of Nationwide Surveillance. *Clin Infect Dis.* 2016;63(6):737-745.
31. Organización Mundial de la Salud, Centro de Prensa, Notas descriptivas, Detail, Poliomiелitis [Internet]. Ginebra, Suiza: Organización Mundial de la Salud; 2018. [Actualizado 14 Mar 2018; citado 1 May 2018]. Disponible en: <http://www.who.int/es/news-room/factsheets/detail/poliomiелitis>
32. Trallero G, Casas I, Tenorio A, Echevarria JE, Castellanos A, Lozano A, Breña PP. 2000. Enteroviruses in Spain: virological and epidemiological studies over 10 years (1988-97). *Epidemiol Infect* 124: 497-506.
33. Trallero G, Avellon A, Otero A, De Miguel T, Pérez C, Rabella N, Rubio G, Echevarria JE, Cabrerizo M. 2010. Enteroviruses in Spain over the decade 1998-2007: virological and epidemiological studies. *J Clin Virol* 47: 170-176.
34. Calvo C, Martín del Valle F, Romero MP, Pena MJ, Gonzalez-Durán ML, Portugués MM, et al. Prospective study of enterovirus and parechovirus infections in children under 3 years-old in Spain. 34 Annual meeting of the European Society for Pediatric Infectious Diseases. Brighton. 2016.
35. Kassab S, Saghi T, Boyer A, Lafon ME, Gruson D, Lina B, Fleury H, Schuffenecker I. Fatal case of enterovirus 71 infection and rituximab therapy, france, 2012. *Emerg Infect Dis.* 2013 Aug;19(8):1345-7.

36. Akhmadishina LV<sup>1</sup>, Ereemeeva TP<sup>1</sup>, Trotsenko OE<sup>2</sup>, Ivanova OE<sup>1</sup>, Mikhailov MI<sup>1</sup>, Lukashev AN<sup>1</sup>. Seroepidemiology and molecular epidemiology of enterovirus 71 in Russia. *PLoS One*. 2014 May 12;9(5):e97404.
37. Akhmadishina LV, Govorukhina MV, Kovalev EV, Nenadskaya SA, Ivanova OE, Lukashev AN. Enterovirus A71 Meningoencephalitis Outbreak, Rostov-on-Don, Russia, 2013. *Emerg Infect Dis*. 2015 Aug;21(8):1440-3.
38. Badran SA<sup>1</sup>, Midgley S, Andersen P, Böttiger B. Clinical and virological features of enterovirus 71 infections in Denmark, 2005 to 2008. *Scand J Infect Dis*. 2011 Aug;43(8):642-8.
39. Cabrerizo M, Tarragó D, Muñoz-Almagro C, Del Amo E, Domínguez-Gil M, Eiros JM, et al. Molecular epidemiology of enterovirus 71, coxsackievirus A16 and A6 associated with hand, foot and mouth disease in Spain. *Clin Microbiol Infect*. 2014 Mar;20(3):O150-6.
40. Calvo C<sup>1</sup>, Cuevas MT, Pozo F, García-García ML, Molinero M, Calderón A, et al. Respiratory Infections by Enterovirus D68 in Outpatients and Inpatients Spanish Children. *Pediatr Infect Dis J*. 2016 Jan;35(1):45-9.
41. Poelman R, Schuffenecker I, Van Leer-Buter C, Josset L, Niesters HG, Lina B. European surveillance for enterovirus D68 during the emerging North-American outbreak in 2014. *J Clin Virol*. 2015;71:1-9.
42. Gong YN, Yang SL, Shih SR, Huang YC, Chang PY, Huang CG. Molecular evolution and the global reemergence of enterovirus D68 by genome-wide analysis. *Medicine (Baltimore)*. 2016 Aug;95(31):e4416.
43. Skowronski DM, Chambers C, Sabaiduc S, Murti M, Gustafson R, Pollock S, et al. Systematic community- and hospital-based surveillance for enterovirus-D68 in three Canadian provinces, August to December 2014. *Euro Surveill*. 2015;20(43).
44. Kreuter JD, Barnes A, McCarthy JE, Schwartzman JD, Oberste MS, Rhodes CH et al. A fatal central nervous system enterovirus 68 infection. *Arch Pathol Lab Med*. 2011;135(6):793-6.

45. Calvo C, Cuevas MT, Pozo F, García-García ML, Molinero M, Calderón A, et al. Respiratory infections by enterovirus D68 in outpatient and inpatient children. *Pediatr Infect Dis J* 2016;35:45–49.
46. Orvedahl A, Padhye A, Barton K, O'Bryan K, Baty J, Gruchala N, et al. Clinical Characterization of Children Presenting to the Hospital with Enterovirus D68 Infection During the 2014 Outbreak in St. Louis. *Pediatr Infect Dis J*. 2016 May;35(5):481-7.
47. Launes C, Armero G, Anton A, Hernandez L, Gimferrer L, Cisneros C, et al. Molecular epidemiology of severe respiratory disease by human rhinoviruses and enteroviruses at a tertiary paediatric hospital in Barcelona, Spain. *Clin Microbiol Infect*. 2015 Aug;21(8):799.e5-7.
48. Gimferrer L, Campins M, Codina MG, Esperalba J, Martin Mdel C, Fuentes F, et al. First Enterovirus D68 (EV-D68) cases detected in hospitalised patients in a tertiary care university hospital in Spain, October 2014. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2015;33(9):585-9.
49. Rojo-Rello S, Sanz-Muñoz I, Ortiz de Lejarazu-Leonardo R. D68 enterovirus does exist in Spain. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2016. pii: S0213-005X(16)00014-8.
50. Poelman R, Schuffenecker I, Van Leer-Buter C, Josset L, Niesters HG, Lina B; ESCV-ECDC EV-D68 study group. European surveillance for enterovirus D68 during the emerging North-American outbreak in 2014. *J Clin Virol*. 2015;71:1-9.
51. Lang M, Mirand A, Savy N, Henquell C, Maridet S, Perignon R, et al. Acute flaccid paralysis following enterovirus D68 associated pneumonia, France, 2014. *Euro Surveill*. 2014;19(44). pii: 20952.
52. Messacar K, Schreiner TL, Van Haren K, Yang M, Glaser CA, Tyler KL, et al. Acute flaccid myelitis: A clinical review of US cases 2012-2015. *Ann Neurol*. 2016;80(3):326-38.
53. Horner LM, Poulter MD, Brenton JN, Turner RB. Acute Flaccid Paralysis Associated with Novel Enterovirus C105. *Emerg Infect Dis*. 2015;21(10):1858-60.

54. Bragstad K, Jakobsen K, Rojahn AE, Skram MK, Vainio K, Holberg-Petersen M, et al. High frequency of enterovirus D68 in children hospitalised with respiratory illness in Norway, autumn 2014. *Influenza Other Respir Viruses*. 2015;9(2):59-63.
55. Wali RK, Lee AH, Kam JC, Jonsson J, Thatcher A, Poretz D, et al. Acute Neurological Illness in a Kidney Transplant Recipient Following Infection With Enterovirus-D68: An Emerging Infection?. *Am J Transplant*. 2015;15(12):3224-8.
56. Pfeiffer HC, Bragstad K, Skram MK, Dahl H, Knudsen PK, Chawla MS, et al. Two cases of acute severe flaccid myelitis associated with enterovirus D68 infection in children, Norway, autumn 2014. *Euro Surveill*. 2015 Mar 12;20(10):21062.
57. Aliabadi N, Messacar K, Pastula DM, Robinson CC, Leshem E, Sejvar JJ, et al. Enterovirus D68 Infection in Children with Acute Flaccid Myelitis, Colorado, USA, 2014. *Emerg Infect Dis*. 2016;22(8):1387-94.
58. Knoester M, Schölvinck EH, Poelman R, Smit S, Vermont CL, Niesters HG, et al. Upsurge of Enterovirus D68, the Netherlands, 2016. *Emerg Infect Dis*. 2017;23(1):140-143.
59. Antona D, Kossorotoff M, Schuffenecker I, Mirand A, Leruez-Ville M, Bassi C, et al. Severe paediatric conditions linked with EV-A71 and EV-D68, France, May to October 2016. *Euro Surveill*. 2016;17;21(46). pii: 30402.
60. Mesa Calle J, Cabrerizo Sanz M. Enterovirus identificados en los casos de Parálisis Flácida Aguda notificados al Sistema de Vigilancia de PFA y a la Vigilancia de Enterovirus. Informe del 19 de mayo de 2016. Centro Nacional de Epidemiología.
61. Cabrerizo M, García-Iñiguez JP, Munell F, Amado A, Madurga-Revilla P, Rodrigo C, et al. First Cases of Severe Flaccid Paralysis Associated With Enterovirus D68 Infection in Spain, 2015-2016. *Pediatr Infect Dis J*. 2017;36(12):1214-1216.
62. Montes-Ros, A, Muguruza, M, López-Olaizola, I, Martí-Carrera, Y, Salicio-Bermejo, G, Cilla-Eguiluz. Enterovirus D68 en Guipúzcoa, 2016.

- En: XXI Congreso de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica, 11-12 May 2017. Málaga (España): Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC); 2017.
63. G Megías-Lobón, L Álvarez-Paredes, C Labayru-Echeverría, J Valencia-Ramos, B Sánchez-Borge, MP Ortega-Lafont, et al. Cuadros Neurológicos Por Enterovirus (EV) A71 En Población Pediátrica En El Hospital Universitario De Burgos (HUBU) Durante 6 Meses. En: XXI Congreso de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica, 11-12 May 2017. Málaga (España): Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC); 2017.
64. I Prats-Sánchez, J Delgado de los Reyes, M Martínez-Copete, M Parra-Grande, C López-Fernández, F Gómez-Romero, et al. Brote De Enfermedad Neurológica Aguda Asociada a Enterovirus en Niños del Departamento De Salud De Elche-Hospital General (Comunidad Valenciana) (De Mayo A Julio De 2016). En: XXI Congreso de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica, 11-12 May 2017. Málaga (España): Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC); 2017.
65. Baggen J, Thibaut HJ, Staring J, Jae LT, Liu Y, Guo H, et al. Enterovirus D68 receptor requirements unveiled by haploid genetics. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2016;2;113(5):1399-404.
66. Hixon AM, Yu G, Leser JS, Yagi S, Clarke P, Chiu CY, et al. A mouse model of paralytic myelitis caused by enterovirus D68. *PLoS Pathog*. 2017;13(2):e1006199.
67. Messacar K, Asturias EJ, Hixon AM, Van Leer-Buter C, Niesters HGM, Tyler KL, et al. Enterovirus D68 and acute flaccid myelitis-evaluating the evidence for causality. *Lancet Infect Dis*. 2018. pii: S1473-3099(18)30094-X.

68. Esposito S, Lunghi G, Zampiero A, Tagliabue C, Orlandi A, Torresani E, et al. Enterovirus-D68 in the Cerebrospinal Fluid of Two Children with Aseptic Meningitis. *Pediatr Infect Dis J.* 2016;35(5):589-91.

