

REVISIÓN DE LA SITUACIÓN EN ESPAÑA

Cristina Calvo (1), Carlos Rodrigo (2), María Cabrerizo (3), Inmaculada Casas (4)

- (1) Servicio de Pediatría Hospitalaria, Enfermedades Infecciosas y Tropicales.
Hospital Infantil La Paz. Madrid. Sociedad Española de Infectología Pediátrica.
- (2) Servicio de Pediatría, Hospital Universitario Vall d'Hebrón. Unidad Docente
Germans Trias i Pujol, Universidad Autónoma de Barcelona. Barcelona. Sociedad
Española de Infectología Pediátrica.
- (3) Laboratorio de Enterovirus. Centro Nacional de Microbiología. Majadahonda.
Madrid
- (4) Laboratorio de Virus respiratorios. Centro Nacional de Microbiología.
Majadahonda. Madrid.

INTRODUCCIÓN

Los enterovirus (EV) son importantes patógenos para el hombre pertenecientes a la familia *Picornaviridae* que, en la actualidad, cuenta con más de 300 sero/genotipos agrupados en 28 especies y 12 géneros. Los EV forman parte del género *Enterovirus*, en el que también han sido recientemente incluidos los rinovirus. 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 -D¹. Los EV, como el resto de picornavirus, son virus pequeños (30nm) sin envuelta, cuyo genoma es un RNA de cadena sencilla y polaridad positiva.

Los EV son los principales agentes víricos productores de meningitis linfocitaria, generalmente de curso benigno. También pueden causar encefalitis o meningoencefalitis habitualmente con buen pronóstico, cuadros respiratorios (infecciones respiratorias de vías altas, bronquitis, bronquiolitis, neumonías), exantemas, enfermedad mano-boca-pie (HFMD) y conjuntivitis hemorrágica aguda. No son agentes causales de diarrea. Menos frecuentemente pero más graves, miocarditis y pericarditis y sepsis en neonatos, a menudo de curso fatal^{2,3,4}.

POLIOVIRUS

Los virus prototipo de los EV son los poliovirus (PV), descritos en 1909 como causantes de la poliomielitis. Puede producir formas leves como síndromes gripales o meningitis, siendo la poliomielitis paralítica o parálisis flácida aguda (PFA) la forma más grave de la infección por PV, y que puede ser permanente e incluso mortal si afecta a los músculos del sistema respiratorio. Las PFA se producen principalmente en niños menores de 5 años. Menos de 1% de los casos causan parálisis irreversible (5-10% de ellos afectan a la musculatura respiratoria)².

España se considera “libre de polio” desde 2002 cuando la OMS lo certificó junto al resto de la región europea. La Iniciativa Global de Erradicación de la Polio (GPEI) que comenzó en 1988 ya ha certificado como “libre de polio” además de a Europa, a las regiones de las Américas (en 1994), del Pacífico Occidental (en 2000) y a la región del Sudeste Asiático (en 2014). Desde 1988 cuando comenzó la GPEI, la detección de PV ha descendido desde 350.000 casos estimados entonces a 74 notificados en 2015. Actualmente, sólo en 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 en otras áreas por los conflictos bélicos y el descenso de las coberturas vacunales en estas zonas. Por todo ello, entre 2010 y 2014 hemos asistido a la presencia de casos importados y brotes en Rusia, China, Siria, Somalia, Egipto e Israel, entre otros. Así, en la actual etapa de pre-erradicación, la OMS insiste a través la GPEI, en mantener altas coberturas vacunales y extremar la vigilancia activa de los casos.

El Laboratorio Nacional de Poliovirus (LNP) del Centro Nacional de Microbiología (CNM) es el laboratorio de referencia en España para el estudio virológico de los casos a través del programa de Vigilancia de PFA en menores de 15 años. Está acreditado anualmente por la OMS-Euro. Los casos de PFA son de declaración obligatoria y requieren de la recogida de muestras de heces para el estudio de PV que confirme que dichos casos no son producidos por estos virus y por tanto no hay circulación de PV en nuestro país.

ENTEROVIRUS NO POLIO

La vigilancia clínica de casos de PFA, se complementa con la Vigilancia de otros EV no polio detectados en otros síndromes clínicos distintos a la PFA. La vigilancia virológica de EV la realiza una red de laboratorios primarios (de las CCAA de Cataluña, Andalucía, Canarias, Galicia y Aragón) coordinados por el LNP del CNM, y no es obligatoria ni se extiende a todo el territorio nacional. El LNP recibe muestras clínicas en las que se ha identificado un EV, que proceden fundamentalmente de pacientes hospitalizados con cuadros neurológicos. El LNP caracteriza los EV que tienen importancia clínica y epidemiológica^{5,6}.

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 país⁷. El 20% de ellas 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 ellos, echovirus (E)-30, E-5 y E-6 fueron detectados con más frecuencia. Los tipos coxsackievirus (CV)-B3, CV-B4, CV-B5 fueron significativamente más frecuentes en neonatos ($p < 0.05$). E-18, E-25, CV-A6, CV-A16 y enterovirus (EV)-A71 fueron principalmente detectados en niños entre 1 mes y dos años ($p < 0.05$), mientras que E-6, E-21 y E-30 fueron predominantes en niños > 2 años ($p < 0.02$). Clínicamente, la meningitis fue más frecuente en niños > 2 de años. Los CV-B causaron el 80% de las miocarditis en lactantes < 2 años y los CV-A fueron asociados con la enfermedad mano-pie-boca (HFMD) en niños > 1 mes ($p < 0.0005$). La sepsis neonatal no se asoció significativamente a ningún tipo específico. Entre 2013 y 2015, los casos estudiados son similares a los anteriormente referidos. El EV-A71 se encuentra presente en torno al 3% de las muestras analizadas⁸.

ENTEROVIRUS A71 (EV-A71)

El EV-A71 Pertenece a la especie EV-A. Puede causar síndrome febril, enfermedad mano pie boca (HFMD), herpangina y también enfermedades neurológicas que incluyen meningitis, encefalitis y PFA. En Europa y EEUU se habían descrito casos esporádicos y pequeños brotes desde que en 1969 se aisló por primera vez este serotipo. En Asia, desde finales de los años 90 se han detectado grandes brotes de HFMD (en niños < 5 años) con una alta incidencia de afectación neurológica grave; encefalitis bulbar con alta mortalidad⁹. Pueden 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 una enfermedad de declaración obligatoria. De hecho, al EV-A71 se le denomina “el nuevo PV” y en estas áreas del planeta el desarrollo de antivirales y vacunas es prioritario. Se desconoce con que se asocia la mayor severidad, considerándose que puede deberse a mutaciones en regiones específicas. En concreto parece que el subgenotipo C4 es el implicado en estos casos más severos.

En Europa se ha objetivado un aumento de circulación en los últimos años del subgenotipo C4 (que es el que circula mayoritariamente en Asia), reportándose casos neurológicos severos asociados a este serotipo. Así, en Francia en 2012¹⁰ se reportó el fallecimiento de un adulto inmunodeprimido con encefalitis y en Rusia^{11,12} se ha comprobado un incremento del EV-A71 que supone entre el 18-80% de los detectados, si bien se trata del subgenotipo C2 y no del C4, que se detecta escasamente. 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 severos¹³.

En España hasta ahora era muy infrecuente, y se asociaba sobre todo a síndromes febriles. Desde 2012 se ha triplicado asociado a síndrome febril y HFMD, pero hasta ahora no a patología neurológica grave¹⁴. En un estudio prospectivo llevado a cabo entre 2013 y 2015, de un total de 448 niños menores de 3 años se ha detectado únicamente en 5 casos en Canarias (meningitis linfocitarias), y otro en Zaragoza (síndrome febril)⁹. No se ha asociado a ninguna parálisis flácida. Se ha encontrado en algunos pacientes en la actual acumulación de casos que está ocurriendo en Cataluña. No se detecta habitualmente en LCR.

ENTEROVIRUS D68 (EV-D68)

El EV-D68 se describió por primera vez en 1962 en niños con infección respiratoria y fue inicialmente clasificado como RV por sus características antigénicas. Se transmite por vía respiratoria. Posteriormente fue reclasificado como EV de la especie D. Se consideraba 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 Canadá¹⁵. El pico de edad fue entre 6-16 años y un porcentaje importante requirió ingreso en UCIP. Afectó 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.

En Europa se habían descrito casos desde 2008-2009, asociados a patología respiratoria, principalmente en Holanda y Francia¹⁶. Dado que hasta la fecha no estaban incluidos en los sistemas de vigilancia de EV de la mayoría de los países, los datos son escasos, aunque parece que es un virus con circulación habitual en nuestros países. Hasta el inicio del brote de EEUU no había descritos casos de patología neurológica, y el ECDC pensaba que en Europa existía un moderado riesgo de infección por EV-D68. Pero desde la emergencia del brote, prácticamente todos los países europeos han reportado series de casos de infecciones respiratorias por EV-D68, con características similares¹⁶.

EV-D68 y patología respiratoria

En España se han publicado diversas series de infecciones por EV-D68. La más numerosa, se llevó a cabo entre 2012-2013 en niños hospitalizados, controles sanos y niños con infecciones respiratorias ambulatorias, detectándose en un 2,5% de los niños hospitalizados con infección respiratoria (un total de 10/399), pero también en una infección leve y en un niño asintomático¹⁷. Ninguno de estos pacientes requirió ingreso en UCIP y clínicamente el cuadro se caracterizó por afectar a niños en edad preescolar, con episodios de sibilancias o crisis asmática, de inicio brusco, asociados generalmente a hipoxia y con una duración corta en el tiempo. Los cuadros clínicos de estos pacientes no difirieron de los causados por otros virus como el rinovirus. Estos datos son muy similares a los publicados por otros autores en San Louis, con una serie superponible durante el brote de 2014¹⁸.

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 (cuadro catarral, neumonía, broncoespasmo/asma, distress respiratorio, bronquiolitis, bronquitis) en los que se había detectado EV. La caracterización del sero/genotipo ha reflejado que, desde octubre 2014 hasta mayo 2016, el tipo de EV más frecuentemente detectado en infección respiratoria ha sido el EV-D68 con un 13% (26 de los 198 enterovirus genotipados), seguido de CV-A6 (10%) y E-6 (6%) (datos no publicados).

Otros grupos han reportado casos, principalmente en Barcelona y Madrid, y algunos de los niños han requerido ingreso en la unidad de cuidados intensivos, pero han

tenido en todos los casos una evolución favorable^{19,20,21}. En Europa se ha referido un caso fatal asociado a clínica respiratoria en un paciente inmunodeprimido¹⁶.

EV-D68 y PFA

En EEUU se ha publicado una revisión de los casos con PFA, habiéndose descrito 59 casos, con una mediana de edad de 9 años, siendo 50 de ellos menores de 21 años²². El cuadro cursa con pródromos respiratorios o gastrointestinales y fiebre. Después parálisis flácida y afectación de pares craneales. En el líquido cefalorraquídeo (LCR) se objetiva pleocitosis y en la resonancia magnética (RM) señales hiperintensas en la sustancia gris. No se realizó aislamiento en LCR y el EV-D68 se identificó en muestras respiratorias o heces. Fallecieron 2 adultos inmunodeprimidos. Da lugar a debilidad muscular persistente.

En Europa hay al menos 1 caso en Francia, y 2 casos en Noruega en 2014 y cuatro casos en Reino Unido entre 2015-2016²³; en ninguno de ellos se ha detectado en LCR. Si bien sí que se ha identificado en LCR en 1 caso en Australia²⁴ y dos en Italia²⁵. Las causas por las que el EV-D68 no se detecta en LCR no están claras en los casos de PFA, por lo que se debe investigar más profundamente el neurotropismo de este EV.

En España y gracias al Sistema de Vigilancia de casos de PFA en niños menores de 15 años, implantado en 1998 dentro del “Plan nacional para mantener el territorio libre de polio”, en 5 de los 43 casos de PFA notificados entre enero de 2015 y mayo 2016 se ha detectado un EV en heces, siendo identificado como EV-D68 en 3 de ellos, según datos del CNM/CNE²⁶. En el cuadro se presentan las características epidemiológicas, clínicas y de laboratorio de estos 5 casos EV-positivos.

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 / Sind 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

BROTE DE CASOS DE ENFERMEDAD NEUROLÓGICA AGUDA RELACIONADA CON ENTEROVIRUS EN CATALUÑA*

A lo largo de 2016 se ha detectado en Cataluña un aumento del número de pacientes pediátricos con enfermedad neurológica aguda en los que se ha identificado la presencia de EV. El primer caso significativo ocurrió en febrero de 2016, con una parálisis flácida en una niña (ver cuadro página 6); el cuadro empezó con dificultad respiratoria y evolucionó a una grave tetraplejia; la resonancia magnética (RM) evidenció una extensa mielitis longitudinal. Se identificó la presencia de enterovirus en muestra nasofaríngea y en heces, posteriormente caracterizado como un EV-D68.

A partir de finales de marzo y primeros de abril empezaron a diagnosticarse pacientes con cuadros clínicos de rombencefalitis. Lo más habitual eran temblores, mioclonias y ataxia, a menudo en el contexto de una aparente meningitis aséptica; en ocasiones hay manifestaciones de afectación de motoneurona bulbar: parálisis de pares craneales con trastornos de la deglución o del habla, abolición del reflejo nauseoso, alteración del ritmo respiratorio o apneas; e incluso algún caso de fracaso cardio-respiratorio con edema agudo pulmonar neurogénico. El común denominador ha sido la ausencia de identificación del EV en el LCR con las técnicas habituales de amplificación (RT-PCR para la detección de EV comerciales o “in house”) pero sí en muestras respiratorias (naso u orofaríngeas) y fecales, y la existencia de rombencefalitis, con o sin mielitis, en la RM. En todos estos casos se ha descartado que el EV fuera un EV-D68 mediante PCR específica. La escasa cantidad de EV en las muestras clínicas ha dificultado mucho la identificación del tipo concreto de EV presente en los pacientes, aunque los primeros resultados de los análisis mediante técnicas de secuenciación genómica identifican la mayoría de los EV como de la especie A, alguno ya caracterizado como EV-A71, como sugería desde el principio la presentación clínica de los pacientes.

En estos momentos hay más de 60 casos que cumplen los criterios de “cuadro clínico y RM de afectación rombencefálica o mielitis y detección de un EV”. La gravedad ha sido variable, con una mayoría de casos leves, algunos casos de intensidad moderada, pocos cuya gravedad ha exigido asistencia de cuidados intensivos para soporte respiratorio o cardíaco. Coincidiendo en el tiempo con el inicio de estos casos,

* Información personal. Servicios de Pediatría, Radiodiagnóstico pediátrico y Microbiología del Hospital Universitario Vall d’Hebron de Barcelona

hubo un fallecimiento sin diagnóstico etiológico precisado, pero que tuvo un curso clínico y un estudio necrópsico de rombencefalitis muy grave con edema agudo de pulmón; no se ha podido identificar la existencia de EV ni de otro agente infeccioso en las muestras clínicas ni necrópsicas.

Con respecto a los estudios de neuroimagen, se considera que se debe realizar una RM craneo-espinal urgente en las formas con clínica de rombencefalitis moderada y grave (a partir de la existencia de manifestaciones clínicas de afectación franca de motoneurona bulbar) o dePFA. En las formas más leves se puede diferir según criterio médico. El protocolo de estudio de RM craneal en estos casos debe incluir secuencias T1, T2, FLAIR y estudio de difusión en planos axiales, FLAIR en plano coronal, con opcional secuencia T1 postcontraste, seguido de secuencias T2 en plano sagital con estudio de difusión de todo el eje medular opcional. La existencia de un patrón de restricción en el estudio de difusión en la sustancia gris del tronco cerebral, indicativo de edema citotóxico, es muy sugestivo de afectación grave.

Basados en datos de la bibliografía y las características clínicas de estos procesos, tras confirmar la imposibilidad de disponer de fármacos antivirales ni como uso compasivo, se recomienda proponer la administración de inmunoglobulinas endovenosas a dosis inmunomoduladoras (1 g/kg/24 h, 2 dosis) en los casos diagnosticados de rombencefalitis de intensidad moderada y añadir megadosis de metilprednisolona (30 mg/kg/24 h, 3 días) en las graves por criterios clínicos o de RM.

RECOMENDACIONES DE RECOGIDA DE MUESTRAS EN LAS SOSPECHAS DE ROMBENCEFALITIS RELACIONADA CON ENTEROVIRUS

Ante la sospecha de cuadros de encefalitis asociados a EV se recomienda recoger muestra de LCR para testar EV y, dado que no en todos los casos se detecta EV en LCR, además se recogerá muestra de aspirado nasofaríngeo o frotis faríngeo (en este caso en torunda con medio para virus tipo Viralpack) e igualmente un exudado o frotis rectal recogido de los márgenes del ano e introduciendo la torunda con medio para virus en recto. Las muestras de heces son también adecuadas para el estudio.

Aquellos centros con la prueba de detección de EV por PCR realizarán la primera determinación y se recomienda enviar al Laboratorio de Enterovirus del Centro Nacional de Microbiología las muestras positivas para su genotipado posterior.

Los centros que no dispongan de detección propia de EV podrían enviar las muestras directamente al CNM.

El genotipado de enterovirus solo está recomendado en casos de encefalitis y no sería necesario en las meningitis linfocitarias, ni en otros cuadros asociados a infección por EV, aunque el CNM ofrece este servicio a todos los centros pertenecientes al SNS que así lo requieran, dentro del Programa de Vigilancia de Enterovirus.

BIBLIOGRAFÍA

1. 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.
2. Rodrigo Gonzalo de Liria C. Poliomiелitis y otras infecciones causadas por enterovirus. En: Medicina Interna. Farreras-Rozman, 18ª ed. Barcelona, Elsevier 2016 (en prensa)
3. 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.
4. 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.
5. 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.
6. 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.

7. Calvo C, Muñoz Almagro C, Rabella N, Romero MP, Rey Cao S, Moreno-Docón A, et al. Epidemiologic and clinical characteristics of enterovirus and parechovirus in pediatric population over a 4-year period in Spain. 33 Annual meeting of the European Society for Pediatric Infectious Diseases. Leipzig. 2015.
8. Calvo C, Martín del Valle F, Romero MP, Pena MJ, Gonzalez-Durán ML, Portugués MM, Valero L, Menasalvas AI, Omeñaca M, Cilla A, Reis-Iglesias L, Martí N, Cabrerizo M. 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.
9. 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.
10. 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.
11. Akhmadishina LV¹, Ereemeeva TP¹, Trotsenko OE², Ivanova OE¹, Mikhailov MI¹, Lukashev AN¹. Seroepidemiology and molecular epidemiology of enterovirus 71 in Russia. *PLoS One*. 2014 May 12;9(5):e97404.
12. 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.
13. Badran SA¹, 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.
14. Cabrerizo M, Tarragó D, Muñoz-Almagro C, Del Amo E, Domínguez-Gil M, Eiros JM, López-Miragaya I, Pérez C, Reina J, Otero A, González I, Echevarría JE, Trallero G. 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.
15. Skowronski DM, Chambers C, Sabaiduc S, Murti M, Gustafson R, Pollock S, Hoyano D, Rempel S, Allison S, De Serres G, Dickinson JA, Tellier R, Fonseca K, Drews SJ, Martineau C, Reyes-Domingo F, Wong T, Tang P, Kraiden M. Systematic community- and hospital-based surveillance for enterovirus-D68 in three Canadian provinces, August to December 2014. *Euro Surveill.* 2015;20(43).
 16. 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 Oct;71:1-9.
 17. Calvo C, Cuevas MT, Pozo F, García-García ML, Molinero M, Calderón A, Gonzalez-Esguevillas M, Pérez-Sautu U, Casas I. Respiratory infections by enterovirus D68 in outpatient and inpatient children. *Pediatr Infect Dis J* 2016;35:45–49.
 18. Orvedahl A, Padhye A, Barton K, O'Bryan K, Baty J, Gruchala N, Niesen A, Margoni A, Srinivasan M. 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.
 19. Launes C, Armero G, Anton A, Hernandez L, Gimferrer L, Cisneros C, Jordan I, Muñoz-Almagro C. 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. doi: 10.1016/j.cmi.2015.04.021. Epub 2015 May 8.
 20. Gimferrer L, Campins M, Codina MG, Esperalba J, Martin Mdel C, Fuentes F, Pumarola T, Anton A. 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 Nov;33(9):585-9. doi: 10.1016/j.eimc.2015.01.008. Epub 2015 Feb 28.
21. Rojo-Rello S, Sanz-Muñoz I, Ortiz de Lejarazu-Leonardo R. D68 enterovirus does exist in Spain. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2016 Feb 2. pii: S0213-005X(16)00014-8. doi: 10.1016/j.eimc.2015.12.011.
22. Greninger AL, Naccache SN, Messacar K, Clayton A, Yu G, Somasekar S, Federman S, Stryke D, Anderson C, Yagi S, Messenger S, Wadford D, Xia D, Watt JP, Van Haren K, Dominguez SR, Glaser C, Aldrovandi G, Chiu CY. A novel outbreak enterovirus D68 strain associated with acute flaccid myelitis cases in the USA (2012-14): a retrospective cohort study. *Lancet Infect Dis*. 2015 Jun;15(6):671-82.
23. Williams CJ, Thomas RH, Pickersgill TP, Lyons M, Lowe G, Stiff RE, Moore C, Jones R, Howe R, Brunt H, Ashman A, Mason BW. Cluster of Atypical adult Guillain-Barré syndrome temporally associated with neurological illness due to EV-D68 in Children, South Wales, United Kingdom, October 2015, January 2016. *Eurosurveillance*, Volume 21, Issue 4, 28 January 2016.
24. Levy A, Roberts J, Lang J, Tempone S, Kesson A, Dofai A, Daley AJ, Thorley B, Speers DJ. Enterovirus D68 disease and molecular epidemiology in Australia. *J Clin Virol*. 2015 Aug;69:117-21.
25. Esposito S, Lunghi G, Zampiero A, Tagliabue C, Orlandi A, Torresani E, Niesters H, Principi N. Enterovirus-D68 in the Cerebrospinal Fluid of Two Children with Aseptic Meningitis. *Pediatr Infect Dis J*. 2016 May;35(5):589-91.
26. 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.

Agradecimientos

Alfons Macaya, Sección de Neurología pediátrica, Servicio de Pediatría; Tomás Pumarola, Servicio de Microbiología; Élida Vazquez, Servicio de Radiodiagnóstico pediátrico. Hospital Universitario Vall d'Hebron, Barcelona