

# UTILIDAD DE LA TÉCNICA DE REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA EN SANGRE DE ENTEROVIRUS Y PARECHOVIRUS EN EL MANEJO DE LOS LACTANTES MENORES DE 90 DÍAS CON FIEBRE SIN FOCO

## EQUIPO INVESTIGADOR

### **Investigadores principales:**

- José Antonio Alonso Cadenas. Pediatra. Adjunto del Servicio de Urgencias de Pediatría. Hospital Infantil Universitario Niño Jesús. Madrid.  
E-mail: [jalonsoc@salud.madrid.org](mailto:jalonsoc@salud.madrid.org)
- Borja Gómez Cortés. Pediatra. Adjunto del Servicio de Urgencias de Pediatría. Hospital Universitario Cruces. Barakaldo (Vizcaya).  
E-mail: [borjagomezcortes@osakitdetza.eus](mailto:borjagomezcortes@osakitdetza.eus)
- Roberto Velasco Zúñiga. Pediatra. Adjunto del Servicio de Urgencias de Pediatría. Hospital Universitario Río Hortega. Valladolid.  
E-mail: [robertovelascozuniga@gmail.com](mailto:robertovelascozuniga@gmail.com)

### **Otros investigadores:**

- Se incluirá un investigador por cada centro participante en el estudio. Estos investigadores aparecerán listados como autores del mismo en las posibles publicaciones que de él se deriven, siempre que las normas de la revista en la que se publiquen lo permitan. Si las normas no lo permitieran, se listaría como autor al Grupo de Estudio de enterovirus-parechovirus en el lactante febril menor de 3 meses de RISeuP-SPERG, enumerando todos los participantes en la sección de agradecimientos.

## 1.- ANTECEDENTES Y RELEVANCIA PARA LA PEDIATRÍA DE URGENCIAS

La fiebre es un motivo de consulta muy frecuente en los servicios de urgencias pediátricos (SUP) siendo las infecciones virales su principal causa. Atendiendo a la edad, los menores de 90 días con fiebre suponen un reto en la aproximación diagnóstica por presentar esta habitualmente sin foco (FSF) y por ser la población pediátrica con mayor riesgo de presentar una infección bacteriana potencialmente grave (IBPG), debido a la inmadurez inmunológica y la falta de vacunación. La prevalencia de infección bacteriana invasiva (IBI) se estima en el 2-4% debida fundamentalmente a *E. coli* y *S. agalactiae*<sup>1,2</sup>.

En los últimos años, se han publicado nuevas estrategias de manejo de estos pacientes, entre ellas el Step-by-Step<sup>3, 4</sup>, que incluyen biomarcadores como la PCR y la PCT que no se tenían en cuenta en las aproximaciones más clásicas (Rochester, Lab-score, etc.) pero ninguna de ellas ha integrado el uso de pruebas de detección rápida de infecciones virales en la estratificación del riesgo de estos pacientes de presentar una IBI. En los últimos años, han surgido distintas investigaciones orientadas en este sentido donde algunos de los virus más prevalentes se determinan mediante diagnóstico molecular en distintos tipos de líquidos [secreciones respiratorias, sangre y/o líquido cefalorraquídeo (LCR)]: *Rinovirus* (RV), *Metapneumovirus*, *Bocavirus*, *Enterovirus* (EV) o *Parechovirus* (HPeV).

El RV es el patógeno más frecuentemente asociado a infección respiratoria en el lactante febril y no disminuye el riesgo de presentar una IBI concomitante especialmente en los neonatos<sup>5</sup>.

En cuanto al EV, existen más de 100 tipos reconocidos y causan un alto número de infecciones en la edad pediátrica. Se asocian a distintas entidades clínicas como FSF en neonatos y lactantes, infección respiratoria, infecciones del sistema nervioso central y sepsis viral. Estudios recientes muestran que los lactantes con un diagnóstico molecular para EV positivo en LCR tienen un bajo riesgo de presentar una IBI asociada<sup>6</sup> y además la positividad de esta prueba se relaciona con menor estancia hospitalaria y una duración menor de tratamiento antibiótico en aquellos lactantes que han precisado ingreso<sup>7, 8</sup>. Estos hallazgos serían sin embargo solo aplicables a aquellos pacientes en que se realiza una punción lumbar. Existen sin embargo muy pocos estudios que analizan la utilidad de esta técnica en sangre y aquellos publicados han utilizado muestras heterogéneas de pacientes<sup>8</sup>.

El 80% de los casos de HPeV se diagnostican en niños menores de 2 meses, especialmente en neonatos. Los HPeV-1, 2 y 6 son los tipos más frecuentemente asociados a cuadros leves con clínica gastrointestinal o respiratoria, pero es el HPeV-3 el que se relaciona con cuadros de mayor gravedad, como meningitis o sepsis neonatal<sup>9, 10</sup>.

Los autores del presente estudio nos planteamos realizar un estudio multicéntrico que aporte mayor evidencia sobre la prevalencia de IBI en lactantes febriles menores de 3 meses atendidos en SUP con tira reactiva de orina normal y que tengan un diagnóstico molecular para EV o a HPeV<sup>11</sup> positivo en sangre y/o LCR.

## **2.- HIPÓTESIS**

La prevalencia de IBI en lactantes menores de 3 meses de edad con FSF, tira reactiva de orina (TRO) normal y una reacción en cadena de la polimerasa (PCR) positiva para EV o HPeV en sangre es menor que en aquellos con FSF, TRO normal y resultado de PCR para EV o HPeV en sangre negativo.

## **OBJETIVOS**

### **Principal**

- Comparar la prevalencia de IBI en pacientes menores de 3 meses con FSF con TRO normal según sea el resultado de la PCR para EV y/o HPeV (positivo o negativo) en sangre.

### **Secundarios**

- Comparar la prevalencia de IBI en pacientes menores de 3 meses con FSF con TRO normal según sea el resultado de la PCR para EV y/o HPeV (positivo o negativo) en LCR.
- Comparar la duración de la hospitalización y del tratamiento antibiótico en pacientes ingresados en función del resultado de la PCR para EV y/o HPeV en sangre y LCR.

## **3.- MATERIAL Y MÉTODOS**

### **Definiciones**

- Fiebre

Elevación de la temperatura rectal o axilar  $\geq 38^{\circ}\text{C}$  en una determinación aislada.

- Fiebre sin foco

Proceso febril de menos de 72 horas de evolución en el que no se identifica la causa con la anamnesis y la exploración.

- Infección bacteriana invasiva

Aislamiento de una bacteria patógena en un líquido estéril (sangre, líquido cefalorraquídeo, pleura, líquido articular).

- Infección bacteriana potencialmente grave

Cualquier IBI, además de la infección del tracto urinario (ITU) y la gastroenteritis aguda bacteriana.

- Tira de orina alterada

Se considerará tira de orina alterada aquella que presente un test de leucoesterasa positivo ( $\geq 2$  cruces) y/o un test de nitritos positivo. La tira de orina se realizará en una muestra recogida en condiciones estériles por sondaje vesical, punción suprapúbica o micción espontánea.

- Urocultivo positivo

Se considerarán positivos los cultivos de orina en los que crezcan  $>10.000$  ufc/ml de un solo patógeno. El urocultivo se realizará en una muestra recogida en condiciones estériles por sondaje vesical, punción suprapúbica o micción espontánea.

- Infección del tracto urinario

Se considerará diagnóstico de infección del tracto urinario la presencia de una tira de orina alterada con un urocultivo positivo.

- Reacción en cadena de la polimerasa

Técnica de biología molecular que permite amplificar un fragmento de ADN para poder identificar con una muy alta probabilidad, virus o bacterias causantes de una enfermedad entre otras muchas indicaciones. El método de procesamiento de la PCR multiplex EV-HPeV es el siguiente: la sangre completa anticoagulada con EDTA se trata previamente mezclando 100 µl de muestras con 100 µl de tampón de lisis de tejidos, mientras que los fluidos cerebrospinales se procesan directamente. La purificación automática de ácido nucleico se realiza mediante cartuchos EZ1 Virus Mini Kit v2.0 y Biorobot EZ1 Advanced XL (Quiagen NV; Hilden, Alemania), siguiendo las instrucciones del fabricante. La amplificación por PCR en tiempo real y la detección cualitativa de EV y ARN de HPeV se establece a través del kit RealCycler EVPA (Progenie Molecular; Valencia, España) y se ejecuta en el equipo de PCR SmartCycler Dx (Cepheid, Sunnyvale; CA, EE. UU.). La tipificación molecular de las muestras positivas se logra mediante secuenciación VP1 para EV<sup>12</sup> y VP3 / VP1 para HPeV<sup>13</sup>.

### **Tipo de estudio**

Estudio transversal (observacional, descriptivo), multicéntrico.

### **Intervención**

Ninguna

### **Población de estudio**

- Criterios de inclusión
  - Pacientes menores de 90 días con fiebre sin foco a los que se les solicita analítica de sangre y tienen tira reactiva de orina normal con PCR para EV y/o HPeV realizada en sangre.
- Criterios de exclusión
  - Tratamiento antibiótico actual o previo (últimas 48 horas) a dosis terapéuticas.
  - TRO alterada.
  - Pacientes en que no se disponga del resultado del hemocultivo.
  - Denegación del consentimiento informado.

## **Desarrollo del estudio**

Durante el desarrollo del estudio los lactantes menores de 90 días que consulten en el SUP por FSF serán atendidos según el protocolo de cada centro. Si cumplen los criterios de inclusión, el médico responsable que lo está atendiendo solicitará la participación en el estudio. Se informará a los padres (anexo I), facilitándoles el consentimiento informado por escrito (anexo II).

Se registrarán los datos indicados en el Anexo III y se solicitará la prueba en cadena de la polimerasa multiplex EV-HPeV en sangre y, en caso de realizarse punción lumbar, en LCR.

Todos los datos serán introducidos por el investigador de cada hospital en una base de datos informatizada de Google Drive® a la que solo tendrán acceso los investigadores principales. Las bases de datos no incluirán nombre u otros datos del paciente que permitan su identificación y cumplen con la nueva ley de protección de datos (LOPD 3/2018) y el reglamento (RGPD 2017/679). Esos datos estarán localizados fuera de la Unión Europea.

Los investigadores principales serán los responsables del control de la base de datos y asegurarán el cumplimiento de los principios de confidencialidad y seguridad.

Además, se recogerán los siguientes datos una vez al mes por hospital participante (anexo IV):

- Hospital.
- Mes/año.
- Número de lactantes menores de 90 días atendidos con FSF.
- Número de lactantes menores de 90 días atendidos con FSF en los que no se dispone del resultado de la tira reactiva de orina o no se realiza la técnica de diagnóstico molecular para EV-HPeV en sangre.
- Número de lactantes menores de 90 días atendidos con FSF, técnica de diagnóstico molecular para EV-HPeV en sangre realizada y tira reactiva de orina normal.
- Número de lactantes menores de 90 días atendidos, técnica de diagnóstico molecular para EV-HPeV en sangre realizada y tira reactiva de orina normal con FSF excluidos y causa de exclusión.

## **Requisitos de participación**

Para garantizar la calidad de los datos recogidos, cada centro debe cumplir los siguientes requisitos para participar en el estudio:

- En cada hospital habrá un responsable, encargado de recoger los casos y registrar los datos en Google Drive®. Será la persona de contacto para responder a las dudas que surjan en las revisiones periódicas de las bases de datos.
- Para asegurar que la muestra incluida por cada hospital sea representativa, el porcentaje de lactantes menores de 90 días con FSF no reclutados deberá ser inferior al 20%. Dicho porcentaje de pérdidas incluirá a los lactantes:
  - En los que no se realice tira reactiva de orina o no se disponga de su resultado.
  - En los que no se realice PCR para EV-HPeV o no se disponga de su resultado.
  - En los que no se realice hemocultivo o no se disponga de su resultado.

### **Consideraciones éticas**

El estudio está pendiente de aprobación por el Comité Ético del centro hospitalario coordinador del estudio.

La utilización de los datos se hará cumpliendo lo establecido en las Leyes vigentes en España de protección de datos: Reglamento (UE) 2016/679 del Parlamento europeo y del Consejo de 27 de abril de 2016 (RGPD).

Los pacientes y sus familiares podrán ejercer sus derechos ARCO, de acceso, cancelación, rectificación y oposición a los datos recogidos en el estudio con lo previsto en el Reglamento (UE) 2016/679 del Parlamento europeo y del Consejo de 27 de abril de 2016 (RGPD), comunicándose al médico responsable del estudio en el centro que le ha atendido.

Los resultados de este estudio podrán utilizarse para publicarlos en revistas científicas o comunicarlos en Congresos y Reuniones científicas.

## **4.- ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

### **Tamaño muestral**

Asumiendo que la prevalencia de IBI en lactantes menores de 90 días con fiebre sin foco y diagnóstico molecular positivo para EV y/o HPeV es del 0%, con un  $\pm 2\%$  de error serían necesarios 190 pacientes con PCR positiva en sangre para EV y/o HPeV.

Dado que en estudios previos la prevalencia de PCR positiva para EV es del 30% en estos pacientes, se calcula una muestra de 594 pacientes para una precisión del 3% y un nivel de confianza del 95%. Teniendo en cuenta unas posibles pérdidas del 20%, el tamaño muestral ajustado a las pérdidas es de 713 pacientes.

## **Análisis estadístico**

Los datos extraídos se analizarán con el programa estadístico STATA® 15.3 aplicando pruebas para el estudio de distribución de datos (Kolmogorov-Smirnov) y de comparación de datos cuantitativos (t de Student, U de Mann-Whitney) y cualitativos (Chi-cuadrado, tabla de contingencia, test exacto de Fisher). Las variables continuas se expresarán como media y desviación estándar, o como mediana y rango intercuartílico, en función de su distribución. La normalidad de la distribución de las variables se determinará mediante la prueba de Shapiro-Wilk. Las variables categóricas se expresarán como frecuencias absolutas y relativas (porcentajes).

Se calcularán intervalos de confianza del 95% para proporciones mediante el método de Wilson. Los valores de p menores a 0,05 se consideraran significativos.

Se comparará la prevalencia de IBI entre pacientes con un diagnóstico molecular positivo para EV o HPeV y aquellos con un resultado negativo, diferenciando si el resultado fue positivo en sangre o LCR. Se comparará además en pacientes hospitalizados el número de días ingresados y el número de días que recibieron tratamiento antibiótico en aquellos en que este se inició.

## **5.- CRONOGRAMA Y DURACIÓN PREVISTA**



- 1- Junio - Septiembre 2020 Reclutación centros participantes
- 2- Octubre 2020 - Octubre 2022 Recogida casos
- 3- Octubre 2022 – Enero 2023. Fin seguimiento casos 2022 y análisis estadístico
- 4- Febrero – Junio 2023 Presentación comunicaciones congresos; escritura y envío del manuscrito derivado del estudio.

## **6.- LIMITACIONES**

La principal limitación del estudio es que la técnica de diagnóstico molecular se realice en distintos hospitales y la disponibilidad de la misma en alguno de ellos que condicione una adherencia de un número insuficiente de hospitales y la pérdida de un excesivo número de pacientes que imposibilite el reclutamiento del número de pacientes necesarios.

## **7.- FINANCIACIÓN**

Los autores declaran no presentar ningún conflicto de intereses. Este estudio no tiene ninguna financiación en el momento actual. Si en algún momento durante el desarrollo del estudio los autores recibieran alguna ayuda, beca, o hubiera alguna relación comercial que pudiera constituir algún conflicto de interés, estas circunstancias se comunicarían y se incluirían en el protocolo.

## **8.- POR QUÉ SE DEBE DESARROLLAR EN EL SENO DE LA RED RISEUP-SPERG IMPACTO**

El desarrollo del estudio en un marco como el de la RISEUP-SPERG es esencial para poder incluir un número suficiente de casos en un periodo de tiempo razonable dada la baja tasa de lactantes menores de 90 días con fiebre sin foco en los SUP. El análisis de los resultados del estudio permitirá conocer la prevalencia de EV y HPeV en esta subpoblación pediátrica permitiendo conocer el riesgo de IBI asociado en estos pacientes. Los resultados del estudio pueden servir para disminuir la duración del ingreso y del tratamiento antibiótico. Hasta la fecha no se tiene constancia de un estudio similar multicéntrico.

## **9.- REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

- 1- Gomez B, Hernandez-Bou S, García-García JJ, Mintegi S et al; Bacteraemia Study Working Group from the Infectious Diseases Working Group, Spanish Society of Pediatric Emergencies (SEUP). Bacteremia in previously healthy children in emergency departments: clinical and microbiological characteristics and outcome. *Eur J Clin Infect Dis.* 2015;34:453-60.
- 2- Greenhow TL, Hung YY, Herz AM. Changing epidemiology of bacteriemia in infants aged 1 week to 3 months. *Pediatrics.* 2012;129(3):e590-6.
- 3- Mintegi S, Bressan S, Gomez B, et al. Accuracy of a sequential approach to identify young febrile infants at low risk for invasive bacterial infection. *Emerg Med J.* 2014 Oct;31(e1):e19-2
- 4- Gomez B, Mintegi S, Bressan S, Da Dalt L, Gervais A, Lacroix L; on behalf of the European Group for Validation of the Step-by-Step Approach. Validation of the "Step-by-Step" Approach in the Management of Young Febrile Infants. *Pediatrics.* 2016;138:1-10.

- 5- Blaschke AJ, Korgenski EK, Wilkes J, Presson AP, Thorell EA, Pavia AT et al. Rhinovirus in Febrile Infants and Risk of Bacterial Infection. *Pediatrics*. 2018;141(2):e20172384.
- 6- Martínez Planas A, Muñoz Almagro C, Luaces Cubells C, Noguera Julián A, Selva L, Fernández JP, García García JJ. Low prevalence of invasive bacterial infection in febrile infants under 3 months of age with enterovirus infection. *Clin Microbiol Infect*. 2012 Sep;18(9):856-61.
- 7- Lafolie J, Labbé A, L'Honneur AS, Madhi F, Pereira B, Decobert M, et al. Assessment of blood enterovirus PCR testing in paediatric populations with fever without source, sepsis-like disease, or suspected meningitis: a prospective, multicentre, observational cohort study. *Lancet Infect Dis*. 2018;18(12):1385-96.
- 8- Aronson PL, Lyons TW, Cruz AT, Freedman SB, Okada PJ, Fleming AH et al. Impact of Enteroviral Polymerase Chain Reaction Testing on Length of Stay for Infants 60 Days Old or Younger. *J Pediatr*. 2017 Oct; 189: 169-174.e2.
- 9- Byington CL, Taggart EW, Carroll KC, Hillyard DR. A polymerase chain reaction-based epidemiologic investigation of the incidence of nonpolio enteroviral infections in febrile and afebrile infants 90 days and younger. *Pediatrics*. 1999;103(3):e27.
- 10- Martín Del Valle F, Calvo C, Martínez-Rienda I, Cilla A, Romero MP, Menasalvas AI et al. Epidemiological and clinical characteristics of infants admitted to hospital due to human parechovirus infections: A prospective study in Spain. *An Pediatr (Barc)*. 2018 Feb;88(2):82-88.
- 11- Cilla A, Megias G, Suarez J, Ojeda E, Cabrerizo M, Arnaez J. Human parechovirus and enterovirus in neonates: Distinct infections with overlapping features. *Early Hum Dev*. 2015 Aug;91(8):475-8.
- 12- Cabrerizo M, Calvo C, Rabella N, Muñoz-Almagro C, del Amo E, Pérez-Ruiz M, Sanbonmatsu-Gámez S, Moreno-Docón A, Otero A, Trallero G; study group of Enterovirus and parechovirus infections in children under 3 years-old, Spain (PI12-00904). Design and validation of a real-time RT-PCR for the simultaneous detection of enteroviruses and parechoviruses in clinical samples. *J Virol Methods*. 2014 Nov;208:125-8.
- 13- Cabrerizo M, Echevarría JE, González I, Miguel T, Trallero G. Molecular epidemiological study of HEV-B enteroviruses involved in the increase in meningitis cases occurred in Spain during 2006. *J. Med. Virol.*, 80 (2008), pp. 1018-1024.

- 14- Harvala H, Robertson I, McWilliam-Leitch EC, Benschop K, Wolthers KC, Templeton K, Simmonds P. Epidemiology and clinical associations of human parechovirus respiratory infections. *J. Clin. Microbiol.*, 46 (2008), pp. 3446-3453.

## **ANEXO I**

### **HOJA INFORMATIVA PARA PADRES/TUTORES**

Participación en el estudio: **“UTILIDAD DE LA TÉCNICA DE REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA EN SANGRE DE ENTEROVIRUS Y PARECHOVIRUS EN EL MANEJO DE LOS LACTANTES MENORES DE 90 DÍAS CON FIEBRE SIN FOCO”**.

En el Hospital [nombre de cada hospital], junto con otros hospitales de España, estamos realizando un trabajo de investigación para conocer **la frecuencia de algunas de las infecciones víricas en el niño menor de 90 días con fiebre y cuáles son sus características**.

Las infecciones en los niños menores de 90 días son principalmente víricas pero en un pequeño porcentaje son debidas a bacterias que pueden ser potencialmente graves. Es por este motivo por el cual, el protocolo de actuación en estos niños cuando tienen fiebre, incluye la realización de distintas pruebas complementarias (análisis de sangre, análisis de orina, punción lumbar), con el fin de valorar el grado de infección. Sin embargo, a pesar de la posibilidad de que se trate de una infección vírica, la mayoría de los protocolos no incluyen un análisis de estos microorganismos en sangre y/o líquido cefalorraquídeo, solo en las secreciones nasales.

#### **¿QUÉ ES LO QUE ESTAMOS HACIENDO?**

El objetivo de este estudio es averiguar la frecuencia de una infección vírica en niños que, como su hijo/tutorizado, tienen menos de 90 días con la solicitud de las siguientes pruebas complementarias: reacción en cadena de la polimerasa multiplex de *Enterovirus* y *Parechovirus*.

#### **¿QUÉ ES LO QUE LE PEDIMOS?**

Solicitamos su autorización para extraer 2 ml de sangre adicionales y poder utilizar los datos de la historia clínica de su hijo en este trabajo. En el caso de no obtener muestra suficiente, no se les volverá a pinchar para obtenerla.

#### **¿QUÉ ES LO QUE TIENE QUE HACER?**

Si decide su participación tendrá que firmar en una hoja de consentimiento informado. Esta decisión es voluntaria y su participación no implicará ningún cambio en la práctica habitual que se realiza habitualmente en estos pacientes. La decisión de participar la

podrá revocar en cualquier momento, sin dar explicaciones y sin que tenga consecuencias en la atención médica.

### **¿OBTENDRÁ SU HIJO / TUTORADO ALGÚN BENEFICIO POR PARTICIPAR EN EL ESTUDIO?**

No, ya que es una prueba nueva en la que todavía se desconoce su valor en los niños con fiebre sin foco como el suyo.

### **¿QUÉ PASARÁ CON LOS DATOS DEL ESTUDIO?**

El estudio cumple las normas de la Declaración de Helsinki y ha sido aprobado por el Comité Ético de Investigación Clínica del hospital responsable del estudio.

Los resultados de este estudio podrán utilizarse para publicarlos en revistas científicas o comunicarlos en Congresos y Reuniones científicas. Todos los datos pertenecerán a la historia clínica del niño y aquellos que se extraigan de ella para el estudio estarán codificados para que su nombre no aparezca en ningún documento fuera del hospital.

La utilización de los datos se hará cumpliendo lo establecido en las Leyes vigentes en España de protección de datos: Reglamento (UE) 2016/679 del Parlamento europeo y del Consejo de 27 de abril de 2016 (RGPD).

Usted puede ejercer sus derechos ARCO, de acceso, cancelación, rectificación y oposición a los datos recogidos en el estudio con lo previsto en el Reglamento (UE) 2016/679 del Parlamento europeo y del Consejo de 27 de abril de 2016 (RGPD), comunicándolo al médico que le ha presentado el estudio.

Para cualquier duda que le surja, puede informarse dirigiéndose al investigador principal:

[Datos del investigador de cada centro]

**ANEXO II**

**HOJA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PADRES /TUTORES**

**“UTILIDAD DE LA TÉCNICA DE REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA EN SANGRE DE ENTEROVIRUS Y PARECHOVIRUS EN EL MANEJO DE LOS LACTANTES MENORES DE 90 DÍAS CON FIEBRE SIN FOCO”.**

Yo.....

He leído la hoja de información que el médico que firma esta hoja me ha dado. He tenido tiempo para pensar y le he preguntado las dudas que tenía y me las ha resuelto de forma adecuada; por tanto, entiendo claramente para qué se hace este estudio y doy mi consentimiento para participar.

Comprendo que la participación de mi..... (Relación con el paciente) es voluntaria y que puede retirarse del estudio cuando quiera, sin dar explicaciones y sin que esto cambie su atención médica.

Firma del padre /madre/tutor                      Fecha                      Nombre padre /madre/tutor y DNI

Firma del médico                                      Fecha                      Nombre y N° colegiado

---

**APARTADO PARA LA REVOCACIÓN DEL CONSENTIMIENTO**

Yo ..... revoco el consentimiento de participación de mi ..... (relación con el paciente) en el estudio arriba firmado con fecha.....

Nombre del padre /madre/tutor y DNI

Fecha de la revocación.....

Firma

### **ANEXO III**

**Hoja de recogida de datos. Utilidad de la técnica de reacción en cadena de la polimerasa en sangre de *Enterovirus* y *Parechovirus* en el manejo de los lactantes menores de 90 días con fiebre sin foco.**

- **Hospital:** \_\_\_\_\_
- **Iniciales del investigador de cada hospital (3 primeras iniciales):**\_\_\_\_\_
- **Código del paciente (a rellenar por el investigador de cada hospital):**  
número del paciente (3 cifras, por orden según se van introduciendo en el estudio, por ej., primer paciente de cada hospital: 001): \_\_\_\_\_
- **Fecha de atención:**\_\_\_\_\_

### **ANTECEDENTES PERSONALES**

- **Edad (días):** \_\_\_\_\_
- **Previamente sano<sup>1</sup>:**
  - Sí
  - No
- <sup>1</sup>Nacido a término ( $\geq 37$  semanas de gestación), no hospitalizado más que la madre al nacer (hipoglucemia o hiperbilirrubinemia), sin tratamiento antibiótico previo o en el momento actual, sin hospitalización previa y sin enfermedad crónica o aguda.

### **EVALUACIÓN DEL PACIENTE**

- **Horas de evolución de la fiebre:** \_\_\_\_\_
- **Temperatura máxima en domicilio:** \_\_\_\_\_
- **Método de medida en domicilio:**

- Axilar
- Frontal
- Ótico
- Oral
- Desconocido
- Otros

• **Temperatura rectal a su llegada a urgencias:**\_\_\_\_\_

• **Constantes vitales**

TA:\_\_\_\_\_ Fc:\_\_\_\_\_

• **TEP:**

- Estable
- No estable

• **Síntomas asociados:**

- Ninguno
- Respiratorio
- ORL
- Neurológico
- Irritabilidad
- Vómitos
- Rechazo de tomas
- Dermatológico
- Otro

• **Hallazgos en exploración física:**

- Ninguno
- Respiratorio
- ORL
- Neurológico (irritabilidad, fontanela abombada)
- Digestivo
- Dermatológico
- Otro

## **PRUEBAS COMPLEMENTARIAS**

### **1. Análisis de sangre**

- **Leucocitos (cél/μL):**
- **Neutrófilos (cél/μL):**
  - **Porcentaje:**
  - **Totales:**
- **Cayados (cél/μL):**
  - **Porcentaje**

- Totales
- **Proteína C reactiva (mg/L):**
- **Procalcitonina (ng/ml):**
- **PCR enterovirus:**
  - Positiva
  - Negativa
- **PCR parechovirus:**
  - Positiva
  - Negativa
- **PCR meningococo:**
  - No realizada
  - Positiva
  - Negativa
- **PCR neumococo:**
  - No realizada
  - Positiva
  - Negativa
- **Hemocultivo:**
  - Positivo
  - Negativo
- **Germen aislado en hemocultivo (especificar):**

## 2. Líquido cefalorraquídeo:

- Sí
- No
- Punción realizada pero sin muestra
- **Leucocitos:**
- **Neutrófilos:**
  - Porcentaje:
  - Totales
- **Hematíes:**
- **PCR enterovirus:**
  - Positivo
  - Negativo
- **PCR parechovirus:**
  - Positivo
  - Negativo
- **Cultivo:**
  - Positivo
  - Negativo
- **Germen aislado en cultivo LCR (especificar):**
- **PCR neumococo:**

- No realizada
- Positiva
- Negativa
- **PCR meningococo:**
  - No realizada
  - Positiva
  - Negativa
- **PCR listeria:**
  - No realizada
  - Positiva
  - Negativa

### 3. Urocultivo (método de recogida):

- **Método de recogida:**
  - Sondaje vesical
  - Micción espontánea (“acecho”)
  - Punción suprapúbica
- **Número de colonias/ml:**
  - >10 000
  - > 50 000
  - > 100 000

### 4. Radiografía de tórax:

- No realizada
- Sí, normal
- Sí, alterada

### 5. Ecografía pulmonar:

- No realizada
- Sí, normal
- Sí, alterada

### 6. Otros test de diagnóstico rápido

- **Influenza**
  - No realizado
  - Negativo
  - Positivo
- **VRS**
  - No realizado
  - Negativo
  - Positivo

- **Otros:** especificar

## **EVOLUCIÓN DEL PACIENTE**

- **Destino:**
  - Alta
  - Ingreso en planta
  - Unidad de observación
  - Ingreso en UCIP
- **Horas en Unidad de observación (si el hospital dispone de ella):** \_\_\_\_
- **En los pacientes ingresados en planta/UCIP, horas de ingreso (desde su hora de admisión en urgencias hasta su alta hospitalaria):** \_\_\_\_
- **Tratamiento antibiótico:**
  - No
  - Sí
- **¿Qué antibiótico?**
  - Ampicilina + cefotaxima
  - Ceftriaxona
  - Ampicilina + gentamicina
  - Otro
- **Diagnóstico inicial:**
  - Fiebre sin foco
  - Neumonía<sup>5</sup>
  - Sepsis<sup>3</sup>
  - Gripe<sup>6</sup>
  - Meningitis inespecífica<sup>4</sup>
  - Infección por EV en sangre
  - Meningitis bacteriana
  - Otro
  - Meningitis vírica

<sup>3</sup>**Sepsis:** fiebre  $\geq 38^{\circ}\text{C}$  y alteración del TEP, especialmente si está alterado el lado circulatorio o el de la apariencia.

<sup>4</sup>**Meningitis:** Niños menores de 30 días de vida  $> 30$  leucocitos/ $\text{mm}^3$ , Niños de 31-90 días de vida  $> 10$  leucocitos/campo.

**Meningitis inespecífica:** meningitis con cultivos y PCR para virus y bacterias negativos (sangre y LCR).

**Meningitis bacteriana:** meningitis con cultivos bacterianos o PCR para bacterias positivos (sangre y/o LCR).

**Meningitis vírica:** meningitis con PCR para virus positiva (sangre y/o LCR).

<sup>5</sup>**Neumonía:** evidencia de afectación del parénquima pulmonar por hallazgos radiológicos.

<sup>6</sup>**Gripe:** infección respiratoria con aislamiento microbiológico en aspirado nasofaríngeo y/o sangre de virus *Influenzae*.

- **Diagnóstico final:**

- Fiebre sin foco
- Sepsis<sup>3</sup>
- ITU<sup>7</sup>
- ITU bacteriémica
- Meningitis inespecífica<sup>4</sup>
- Meningitis bacteriana
- Meningitis vírica
- Neumonía<sup>5</sup>
- Gripe<sup>6</sup>
- Infección por EV en sangre
- Infección osteoarticular<sup>7</sup>
- Gastroenteritis inespecífica<sup>8</sup>
- Gastroenteritis bacteriana
- Gastroenteritis vírica
- Otro

<sup>7</sup>**ITU:** tira de orina alterada junto con crecimiento de  $\geq 10.000$  UFC/mL de un único patógeno en orina recogida de forma estéril.

**ITU bacteriémica:** ITU con mismo patógeno aislado también en sangre.

<sup>7</sup>**Infección osteoarticular:** evidencia de afectación ósea por hallazgos radiológicos y/o aislamiento de un único patógeno en líquido articular.

<sup>8</sup>**Gastroenteritis:** aumento de la frecuencia o del volumen de las deposiciones o disminución de su consistencia.

**Gastroenteritis inespecífica:** gastroenteritis con cultivos y pruebas de detección para virus negativos en heces.

**Gastroenteritis bacteriana:** gastroenteritis con cultivos bacterianos positivos.

**Gastroenteritis vírica:** gastroenteritis con pruebas de detección para virus positivas.

- **Días de ingreso:**
- **Días de antibiótico intravenoso:**
- **Días de antibiótico oral:**

#### **ANEXO IV**

**Hoja de recogida de datos mensual. Utilidad de la técnica de reacción en cadena de la polimerasa en sangre de *Enterovirus* y *Parechovirus* en el manejo de los lactantes menores de 90 días con fiebre sin foco.**

- **Hospital** (número del hospital, 2 cifras):
- **Mes/año** (mm/aaaa):
- **Número de lactantes menores de 90 días atendidos con FSF:**
- **Número de lactantes menores de 90 días atendidos con FSF en los que no se dispone del resultado de la tira reactiva de orina o no se realiza la técnica de diagnóstico molecular para EV-HPeV en sangre:**
- **Número de lactantes menores de 90 días atendidos con FSF, técnica de diagnóstico molecular para EV-HPeV en sangre realizada y tira reactiva de orina normal:**
- **Número de lactantes menores de 90 días atendidos, técnica de diagnóstico molecular para EV-HPeV en sangre realizada y tira reactiva de orina normal con FSF excluidos y causa de exclusión** (foco evidente, tratamiento antibiótico

actual o en las últimas 48 horas, datos obligatorios no obtenidos, denegación de consentimiento informado):