

PARECHOVIRUSES – UNDERESTIMATED RISK

Arlleta Krzyszczoszek, Magdalena Wieczorek*

National Institute of Public Health – National Institute of Hygiene, Department of Virology,
Chocimska 24 Str., 00-791 Warsaw

Received in May, accepted in June 2019

Abstract: Parechoviruses are small, non-enveloped, icosahedral-shaped capsid viruses belonging to the *Picornaviridae* family. They are characterized by a single-positive-strand genomic RNA and as others RNA viruses have a great potential for genetic variation, the rapid evolution and adaptation. Genus Parechovirus has been established in the 90s and currently, 19 types of human parechoviruses (HPeV) are discovered. They usually cause mild respiratory or gastrointestinal illness, mainly in young children, but also can cause severe diseases such as encephalitis, meningitis, myocarditis, acute flaccid paralysis and sepsis. Severe HPeV infections in infants are also associated with a risk of long-term complications. Although it is known that HPeV plays a significant role in severe pediatric diseases, routine diagnostics are not performed in clinical practice. No antiviral drugs have been approved for the treatment of HPeV infections, and only symptomatic treatment is available. Increased detection of human parechovirus infection in infants and connection of serious clinical complication with parechovirus infection was the reason why surveillance was established in some countries, while the worldwide extensive surveillance needs to be performed in order to monitor prevalence, genetic diversity, and clinical significance of HPeV. Although the first HPeV strains were discovered 6 decades ago, recognition of HPeV biology, epidemiology, evolution and pathogenicity still requires more research to appreciate the risk for public health that these small viruses can be.

1. Introduction. 2. Classification, structure and replication. 3. Cellular receptors and HPeV variability. 4. Course of infection 5. HPeV types in the world 6. Diagnosis 7. Pathogenesis 8. Summary

PARECHOWIRUSY – NIEDOCENIANE ZAGROŻENIE

Streszczenie: Parechowirusy to małe, bezosłonkowe wirusy o ikosaedralnym kapsydie, należące do rodziny *Picornaviridae*. Ich materiałem genetycznym jest jednoniciowe RNA o dodatniej polarności. Podobnie jak inne RNA wirusy charakteryzują się dużą zmiennością genetyczną, błyskawicznym tempem ewolucji i zdolnością do szybkiej adaptacji. Rodzaj *Parechovirus* został utworzony w latach 90. XX wieku i jak dotąd opisano 19 typów ludzkich parechowirusów (HPeV). HPeV zwykle wywołują łagodne objawy ze strony układu oddechowego lub pokarmowego, głównie u małych dzieci, ale mogą być również przyczyną ciężkich w przebiegu chorób, takich jak zapalenie mózgu, zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych, zapalenie mięśnia sercowego, ostre porażenie wiotkie i sepsa. Często ciężkie zakażenia niemowląt wiążą się z ryzykiem długoterminowych powikłań. Chociaż wiadomo, że HPeV wywołują zagrażające życiu choroby wieku dziecięcego, rutynowa diagnostyka, niestety nadal, nie jest wykonywana w praktyce laboratoryjnej. Nie są dostępne także swoiste leki przeciwwirusowe, stosowane jest jedynie leczenie objawowe. Stale rosnąca liczba przypadków zakażeń parechowirusami u niemowląt i powiązanie etiologii wielu poważnych jednostek chorobowych z HPeV było powodem, dla którego niektóre kraje zdecydowały się na objęcie zachorowań wywoływanych przez parechowirusy stałym nadzorem. Wydaje się, że niezbędny jest monitoring zakrojony na szeroką skalę, który pozwoliłby na zbadanie rozpowszechnienia, różnorodności genetycznej i znaczenia klinicznego HPeV. Chociaż pierwsze szczepy parechowirusów zostały odkryte 6 dekad temu, to poznanie ich biologii, epidemiologii, ewolucji i patogenności wciąż wymaga dalszych badań, które, miejmy nadzieję, pozwolą ocenić jakim zagrożeniem dla zdrowia publicznego mogą być te małe wirusy.

1. Wprowadzenie. 2. Klasyfikacja, budowa i replikacja. 3. Receptory komórkowe i zmienność HPeV. 4. Przebieg zakażenia 5. Typy HPeV na świecie 6. Diagnostyka 7. Patogeneza 8. Podsumowanie

Key words: childhood diseases, parechoviruses, sepsis – like virus illness, meningitis

Słowa kluczowe: choroby wieku dziecięcego, parechowirusy, sepsa w przebiegu chorób wirusowych, zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych

Introduction

In the United States, in 1956, viruses from the faeces of infants with diarrhoea were isolated, they proliferated in the monkey kidney cell cultures; however, did not concurrently infect monkeys or suckling mice. It was also noted that the viruses were neutralised by the human gamma globulin [94]. Based on these proper-

ties, they were classified as enteroviruses (EV), and more specifically as the ECHO (Enteric Cytopathogenic Human Orphan) viruses and were assigned consecutive numbers 22 and 23 (E22, E23). The first strains, named Harris and Williamson (E22 and E23, respectively), differed significantly from other enteroviruses in their growth in the cell cultures, despite meeting the criteria for belonging to the ECHO viruses [75]. Molecular

* Corresponding author: Magdalena Wieczorek, Department of Virology, National Institute of Public Health – National Institute of Hygiene, Chocimska 24 Str., 00-791 Warsaw; phone: (0-22) 542 12 30; e-mail: mwieczorek@pzh.gov.pl

studies have also showed significant homology of both strains, while at the same time having little similarity to the sequences of known enteroviruses. In 1996, detailed studies on the biological properties and recognition of the nucleotide sequence of the viral genome led to the creation of a new genus in the *Picornaviridae* family – *Parechovirus*, which initially included two types, HPeV-1 and HPeV-2 [36, 44, 68, 83].

Infections caused by parechoviruses are common in people all over the world and, like enterovirus infections, are mostly asymptomatic. If the infection occurs, it usually manifests itself through mild symptoms in the digestive and respiratory systems and is almost exclusively limited to the population of young children of up to 5 years of age. Human parechoviruses (HPeV) are also etiological agents of severe diseases, which require hospitalisation, especially in the cases of the central nervous system (CNS) infection. There is also an increasing amount of information on the possible participation of parechoviruses in the development of many different diseases, not only neurological ones. In recent years, numerous independent research groups have reported that parechoviruses are the second factor, after enteroviruses, causing sepsis in infants and viral meningitis in children.

In connection with these findings, there is a growing need to introduce rapid diagnosis differentiating enterovirus and parechovirus infections, especially in relation to severe CNS infection in the youngest patients. It also seems necessary to develop strategies to prevent the spread of the HPeV infections and to expand the therapeutic possibilities. Intensive virological and epidemiological studies will allow this to take place. Similarly to what is done in the case of diseases with enteroviral etiology, certain countries have established parechovirus surveillance. The HPeV infection monitoring program operates, among others, in the USA, the UK, the Netherlands [1, 33, 46], and in Australia where

HPeV was included in the monitoring system used for new pathogens causing severe diseases [66].

The aim of this study is to present parechoviruses as pathogens of growing clinical significance and to assess the state of knowledge about the key issues from the diagnostics, epidemiology and treatment points of view.

2. Classification, structure and replication

The *Parechovirus* genus belongs to the *Picornaviridae* family and includes four virus species (*Parechovirus A-D*), which are mammalian pathogens. The human parechoviruses belong exclusively to the A species (*Parechovirus A*), which currently consists of 19 types, from HPeV-1 to HPeV-19 [99].

They are small (30 nm), non-enveloped, icosahedral-shaped viruses, whose genetic material is a positive-sense single-stranded RNA (+ssRNA), composed of 7.3 thousand nucleotides. A single open reading frame encodes 3 structural proteins (P1 region) and 7 non-structural proteins (P2 and P3 regions) (Fig. 1). Untranslated regions (UTR) involved in the replication process are found at the ends of the RNA strands. The viral VPg protein is covalently bound to the end of the 5' strand, and the 3' end is terminated by the poly(A) sequence. In the 5'UTR region, an IRES (Internal Ribosomal Entry Site) structure is located, which initiates the translation of the viral polyprotein in a manner independent of the cap structure. Similarly to cardio-, afro- and hepatoviruses, parechoviruses have a type II IRES, whereas type I is present in entero- and rhinoviruses. The characteristically folded 5'UTR region also participates in the replication of the viral RNA, and structures such as SLS (stem – loop structure), including SL-A and SL-B, as well as the structure of the pk-C pseudoknot type, are involved in this process. The 3'UTR end, with a single SLS structure, also

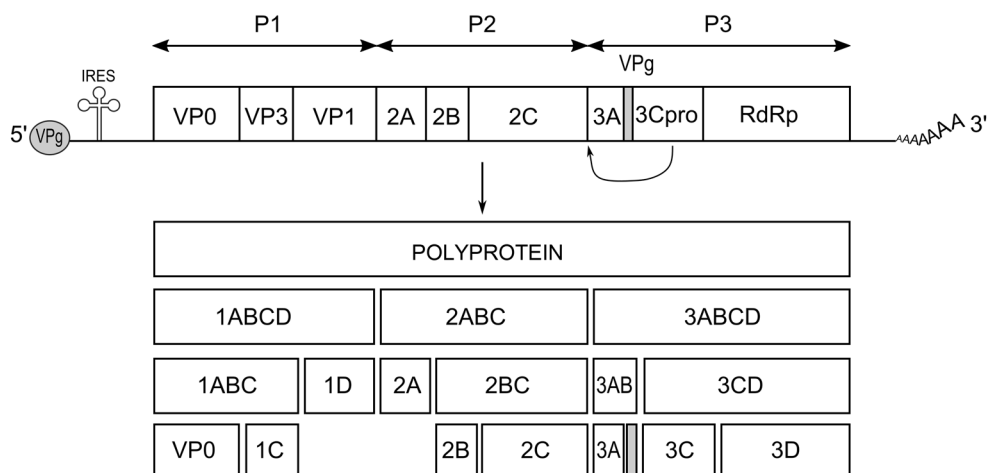


Fig. 1. Genome structure of parechovirus and post-translational polyprotein processing.

participates in the viral replication process [75], similarly to another hairpin structure – CRE (cis-acting replication element), located in the region coding the VP0 capsid protein [4, 36, 75, 83].

Viral RNA functions as mRNA; therefore, translation is possible following the entry of the virus into the cell. The translation is probably initiated by the AUG codon, similarly to cardio- and aftoviruses [36, 83]. The resulting polyprotein is proteolytically cleaved by the 3C viral protease, whereas in contrast to other picornaviruses, the 2A protein has no proteolytic properties [36, 83]. In the first stage, three precursor peptides are formed (P1, P2, P3), the P1 peptide is subsequently cleaved into three structural proteins: VP0, VP1 and VP3, and P2 and P3 peptides are cut into seven non-structural proteins (Fig. 1), which include: RNA-dependent RNA polymerase 3Dpol (RdRp), VPg protein (3B), NTPase/helicase (2C), 3Cpro protease [36, 44, 75, 83].

The spatial structure of the parechovirus capsid is similar to other viruses in the *Picornaviridae* family [36, 42]. The VP1, VP3 and VP0 structural proteins form a protomer – a basic building unit of the capsid, and the entire capsid consists of 60 protomers assembled into 12 pentamers. During maturation of the virion, VP0 protein is not cleaved into VP2 and VP4, as is the case with enteroviruses; therefore, there is no VP4 internal protein in the capsid of parechoviruses (Fig. 2). Also the depression in the protomer, named canyon, is not as deep as in enteroviruses [44, 83, 89]. Comparably to other picornaviruses, parechoviruses' capsid lacks envelope, which determines the stability of the virus inside the host organism and in the environment. The capsid proteins are responsible for binding to the receptor on the surface of susceptible cells. The most immunogenic parechovirus protein is VP1 and its nucleotide sequence is the most variable [30].

Viral RNA replication involves viral proteins, which form a replication complex associated with the endo-

plasmic reticulum (ER) membranes: 2A, 2C, 3A and 3B, with the participation of the SLS and CRE structures, and the viral 3D polymerase. The viral RNA replication process starts with the uridylation of the VPg protein by the viral polymerase on the poly(A) matrix in the presence of the CRE structure, resulting in the formation of VPgpU (pU). This in turn initiates the synthesis of the negative stranded RNA, which is complementary to the genomic RNA, resulting in double-stranded replication forms (dsRNA). The (-) ssRNA strand becomes a template strand, on which numerous copies of genomic RNA are produced [10, 11, 42, 75, 77, 83, 89].

Polyprotein is synthesised directly on the genomic RNA matrix, and the viral proteins are produced by its cleavage. By inhibiting cellular processes, these proteins lead to the lysis of the cell and the release of the resulting virus progeny. The synthesis of the host proteins is not switched off in the cells infected with parechoviruses, as it is the case with enteroviruses. The mechanism of maturation and assembly of virions is not fully understood [10, 42, 44, 83].

3. Cellular receptors and HPeV variability

Following the binding of the virus to the receptor, structural changes of the capsid and the cell membrane occur and, as a result, the genetic material of the virus is released into the cytoplasm. The form of tropism of different types of HPeV depends on the receptor that a given type uses to enter the cell. Some types of parechoviruses (HPeV-1, 2, 4, 5, 6) contain the so-called RGD motif composed of amino acids: arginine, glycine and aspartate at the C-terminus of the VP1 protein. This structure is also responsible for the binding of some enteroviruses (Coxsackie A-9 and E9) to the cellular surface receptors known as integrins [4, 27, 36, 44, 83]. The remaining types of parechoviruses do not have this motif and are thought to bind to another cellular receptor (RGD – independent) or to interact with integrins in another way [3, 31, 45, 49, 54, 72]. HPeV-1, 4 and 5 strains were found, which were exceptionally missing the RGD motif [9, 65].

Parechoviruses are characterised by high genetic variability, which is manifested by the numerous genotypes. Based on the analysis of the gene encoding the VP1 structural protein, currently 19 types of human parechovirus are classified [99]. It has been assumed that sequences belonging to the same genotype are characterised by a nucleotide similarity of min. 77% and amino acids similarity of min. 87%, while for different types it is below 73% and 81%, respectively [64]. The HPeV genome is constantly changing, the rate of the parechovirus mutation is estimated at $2.2\text{--}2.8 \times 10^{-3}$ substitutions per site per year [23]. It has

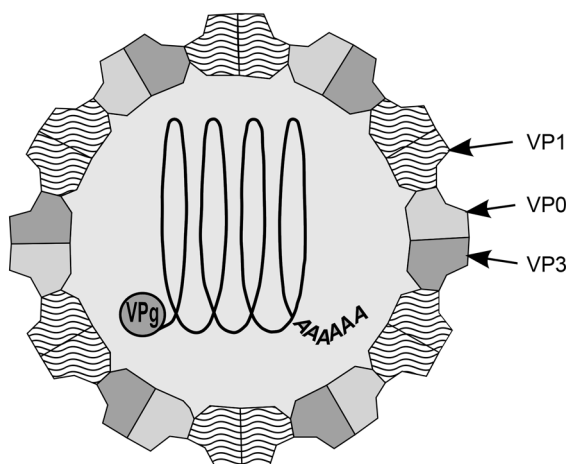


Fig. 2. Structure of parechovirus particle.

been reported that the rate of the HPeV-3 mutation in the most variable region coding VP3/VP1 is estimated at 2.83×10^{-3} substitutions per site per year, which means one nucleotide change per 400 per year, and the HPeV-1 mutation rate is at least twice as large [43].

The reasons for the HPeV variability include numerous mutations, selection pressure of the host immune system and frequent recombination. Recombination occurs when a cell is simultaneously infected by two closely related viruses – belonging to the same type (intratype recombination) or two different types of HPeV (intertype recombination). Recombination contributes to the creation of new variants of the virus, and thus to the increase in the pace of evolution, it leads to the acquisition of genetic differences conditioning the change in virulence. European HPeV-1 isolates recombine on average every 1–3 years [42]. HPeV-3 rarely comes into contact with other parechoviruses in the same cell, hence the limited recombination and lower genetic diversity in comparison to HPeV-1 [10, 40, 98].

The evidence for the participation of recombination in the HPeV evolution process may be the sequence similarity within the 5'UTR region with the *Cardiovirus* and *Aphthovirus* [36]. Two regions are indicated in HPeV: 5'UTR/P1 and P1/P2, in which recombination occurs frequently [23]. Also based on the analysis of the VP3/VP1 and 3Dpol regions, the phenomenon of recombination has been observed in many HPeV types [4, 5, 6]. Sequence similarity was also found in the P2 and P3 regions in HPeV-1 and HPeV-7 [20], as well as in HPeV-3 and HPeV-4 [4]. The possibility of recombination between HPeV-4 and types 1, 2, 3 and 15 [8, 65], as well as between HPeV-1 and types 3 and 6 has been demonstrated [5]. HPeV-1 strains with sequences similar to types 6 and 7 in the non-coding region [98] and strain HPeV-5, which is a recombinant resulting from recombination of three types 1, 3 and 4 [85], were isolated. The highest recombination rate was demonstrated in the HPeV-1B strains [22, 23].

Canadian studies on HPeV-1 showed that the isolates from 1985–2004 differed significantly from the prototype sequence (available at <http://www.picornaviridae.com>) [42]. A large similarity to the Harris prototype strain (1956) were showed by the strains isolated in Bolivia in 2002–2003 and in India in 2006–2010 [65, 70], as well as most strains detected in China in the years 2012–2013 [21, 22]. Based on the VP1/VP3 region sequence analysis, genotype 1 was divided into two clades 1A (Harris-like), whose representative is the prototype strain and 1B [9]. It appeared that clad 1B belongs to the majority of presently isolated HPeV-1, including the Canadian isolates [8, 9, 20, 23, 98].

HPeV-2 is closely related to type 1. It has 87.9% amino acid identity with HPeV-1; the highest values of nucleotide sequence divergence were observed in the

regions of the capsid proteins, and the highest identity in the 3B region [36]. For the type 3 prototype sequence, nucleotide and predicted amino acid similarities were 77.6% and 86.8% with type 1 and 77.2% and 84.7% with type 2, respectively [45]. Type 4 showed the highest similarity of the nucleotide sequence with type 2 (72.2%) [11], and type 5 with type 4 [4]. Type 6 is the most similar to type 1, while the similarities of the nucleotide and amino acid sequences to other known HPeV types are 76.7–79.5% and 85.9–90.7%, respectively [93]. The type 7 prototype strain is most related to type 3 and its similarity to the other prototype strains was determined at 75.6–80.8% for the nucleotide sequence and 84.8–89.1% for the amino acid sequence [54]. Type 8 has the highest amino acid sequence identity with type 7 (76.3%) and its close relationship to types 1 and 6 has also been shown [31]. The type 10 prototype sequence was most closely related to type 3, showing 69.1% homology in the nucleotide sequence and 82.8% in the amino acid sequence [49]. Type 11 showed the highest nucleotide and amino acid similarity with type 10 (64.7% and 73.6%, respectively) [72]. Analyses revealed close identity of HPeV-12 prototype sequence with type 10 (80% in the nucleotide sequence and 80.5% in the amino acid sequence) [3], while for type 17, the similarity of the nucleotide sequences with the remaining prototype strains was determined at 79–82% [15]. HPeV-17 from Thailand showed the highest similarity with type 3 (74–78%) [25].

4. Course of infection

Human is the host for human parechoviruses; however, there is a high probability that some mammals may act as reservoirs for these pathogens. The support for this theory comes from the detection of HPeV in the faeces of macaques (*Macaca* sp.) in China [80] and domestic pigs (*Sus scrofa domestica*) in Bolivia [65].

Parechoviruses spread mainly through the faecal-oral route, less frequently respiratory routes [42, 43, 75]. In utero transmission of HPeV is also suspected, which is evidenced by the occurrence of infections in newborns in the first two days of life [79]. Viruses enter the host organism through the mouth and pass into the lymphatic vessels of the upper respiratory tract and/or the stomach, and then into the intestines. They multiply in the epithelial cells of the oropharyngeal mucosa, as well as in the intestinal mucosa in the so-called Peyer's patches [25, 27]. The infection at this stage is often asymptomatic [42, 45, 75, 79]. Viremia occur in some of the infected people and, as a result, viruses multiply in numerous organs (liver, heart, lungs), penetrate the skin, mucous membranes and further lymph nodes, and sometimes into the nervous system, which is asso-

ciated with the systemic symptoms [27, 43]. To reach the central nervous system, the virus uses the retrograde axonal transport or crosses the blood-brain barrier [52]. A hypothesis exists, according to which the parechoviral CNS inflammation is not a result of a direct infection, but is a consequence of the infection of meningeal vascular smooth muscle cells, resulting in hemorrhage and disturbances in vascular flow in the brain [13].

Parechovirus infections are usually manifested by mild symptoms in the digestive and respiratory systems. The most frequently mentioned symptoms include: diarrhea, fever, vomiting, wheezing and tachypnea, apnea, cough and coryza [42, 72, 75, 83, 95, 97]. Studies done in Sweden demonstrated that the percentage of intestinal symptoms was twice as high as the percentage of respiratory symptoms in the course of the parechovirus infection [40, 41].

Diseases of the nervous system are more severe in their course, in which case patients absolutely require hospitalisation [75]. In the case of the CNS infections, fever, loss of appetite and irritability (“red, hot and angry”) [16], neurological symptoms (seizures, paralysis, generalized hypotonia, decreased tendon reflexes, peripheral neuropathy), respiratory and gastrointestinal symptoms, rash [14, 32, 43, 48, 75, 93] and a syndrome similar to sepsis, the so-called “Sepsis-like viral illness” [97] are most commonly observed. CNS infection of the parechovirus etiology is associated with many disease entities (Tab. I): meningitis [13, 34, 51, 73, 93, 95], encephalitis [18, 24, 29, 51, 59, 61, 74], encephalomyelitis [52], acute flaccid paralysis (AFP) [3, 34, 54, 65, 81, 93], transient paralysis [45], neonatal sepsis [8, 14, 16, 18, 47, 53, 73, 84, 92, 95], Guillain-Barré syndrome [55, 71] and Reye’s syndrome [43, 79, 93]. A case of a five-year-old girl from Germany is known for the occurrence of acute disseminated encephalomyelitis (ADEM) in the two weeks after the parechoviral respiratory tract infection, as until recently enteroviruses were considered a potential factor for this disease [67]. Severe cases of neurological infections with parechoviruses may end in death [35, 78].

Multifocal changes occurring in the CNS as a result of parechovirus infection are polymorphous and involve mainly the white matter of the brain, where the periventricular and subcortical leukomalacia, as well as gliosis and the formation of cavities in the neural tissue may occur. The consequences of the past disease often include: epilepsy, hypotonia, visual impairment, cerebral palsy, as well as developmental delay [10, 32, 43, 75, 79]. The parechoviral infection of the CNS manifests itself in a similar manner to the bacterial one; however, without causing an increase in the parameters of the inflammation in the cerebrospinal fluid (CSF) and blood [91].

Sepsis in the course of the HPeV infection (“sepsis-like viral illness”) was defined by Wolthers *et al.* as

a fever or hypothermia with symptoms of circulatory or respiratory disorders in the form of tachycardia and bradycardia, as well as low blood pressure and decreased saturation; however, it can also proceed with a broad spectrum of respiratory, intestinal (jaundice) and life-threatening neurological symptoms [10, 43, 97]. In addition, sepsis of HPeV etiology may be accompanied by a maculo-papular or erythematous rash on the hands and feet [32, 92, 97].

The following diseases are associated with parechovirus infections (Tab. I): necrotizing enterocolitis [12, 56], pneumonia [98], otitis media [14, 30, 87], myocarditis and cardiomyopathies [58, 59, 96], conjunctivitis and uveitis [14, 28], haemolytic-uremic syndrome (HUS) [69], lymphadenitis [7, 21, 93], myositis and myalgia [60, 82, 93], hemophagocytic lymphohistiocytosis [39], hemorrhagic hepatitis syndrome (hepatitis with coagulopathy) [53], TORCH syndrome (congenital infection syndrome, TORCH is an acronym meaning: T – toxoplasmosis, O – others, R – rubella, C – cytomegaly, H – Herpes) [43]. There have been reports of sudden infant death syndrome associated with the HPeV infection [78]. Kolehmainen did not exclude HPeV as a risk factor for the development of gender-related type 1 diabetes [32].

It has been noticed that certain types of the virus preferentially cause more of the certain disease entities. Type 1 is associated with intestinal infections more than type 3 [90, 95]. CNS diseases are mainly caused by types 1, 3 and 6 [48, 75], but in the cases of paralysis, the presence of types 2, 4, 5, 7, 9 and 12 was also detected. The types 1, 5 and 6 are correlated with Reye’s syndrome [43, 79, 93]. In the respiratory infections, the most frequently detected types are HPeV-1 and HPeV-6 [23, 41]. Newly discovered types usually cause mild respiratory and gastrointestinal symptoms [10].

Symptoms of the parechovirus infections are non-specific; therefore, they are often assigned the enteroviral etiology due to the similarity of the clinical manifestations [52, 68, 75]. The distinction is possible only after the use of diagnostic methods [43]. According to the Dutch research, in comparison to enteroviruses, parechoviruses are associated with a lower incidence of meningitis and a higher incidence of intestinal and respiratory infections [79].

Parechoviruses multiply in the host cells even after the symptoms disappear. They are isolated from swabs from the upper respiratory tract up to 3 weeks after the onset of symptoms [41] and from faeces for a period of several weeks to 5 months (average 51 days) [32, 84, 86]. The viruses achieve high titres in the faeces [75], and the long shedding translates into a wide HPeV transmission. They enter the environment through the waste and they have repeatedly been detected in surface waters [57] and in wastewater [88].

Table I
HPeV types and associated disease

HPeV type	Disease entities/symptoms	HPeV type	Disease entities/symptoms	
HPeV-1	diarrhoea [21, 23, 25, 37, 72, 76, 94]	HPeV-4	fever [11]	
	acute enteritis [5]		diarrhoea [23, 37]	
	necrotizing enterocolitis [12, 56]		gastroenteritis [21, 22, 23, 37, 38, 49, 70, 72, 74]	
	gastroenteritis [8, 21, 22, 31, 38, 40, 41, 49, 56, 70, 72, 74, 93, 95]		sepsa [47]	
	upper respiratory tract infection [8, 38, 40, 41, 56, 93]		influenza-like illness [23]	
	bronchitis [93]		lymphadenitis [7, 21, 93]	
	pneumonia [98]		TORCH syndrome (a cluster of symptoms caused by congenital infection) [43]	
	AFP (acute flaccid paralysis) [34, 54, 65]		AFP [65]	
	Guillain-Barré syndrome [55]		HPeV-5	fever [18, 68]
	Reye syndrome [79]	diarrhoea [21, 23, 37, 72]		
	meningitis [34, 51]	gastroenteritis [21, 22, 31, 61, 70, 72, 85]		
	encephalitis [51, 74]	AFP [54]		
	encephalomyelitis [52]	Reye syndrome [43]		
	epilepsy [48]	HPeV-6	fever [30]	
	sepsis [8, 47]		diarrhoea [21, 23]	
	influenza-like illness [23]		gastroenteritis [5, 21, 22, 70, 93]	
	uveitis [28]		upper respiratory tract infection [41]	
	otitis media [87]		AFP [54, 93]	
	HUS (haemolytic uraemic syndrome) [69]		Reye syndrome [93]	
myocarditis/cardiomyopathy [58, 96]	Guillain-Barré syndrome [71]			
HPeV-2	diarrhoea [23, 37, 94]	influenza-like illness [23]		
	gastroenteritis [70]	otitis media [30]		
	uveitis [28]	rash [93]		
	AFP [65]	HPeV-7	diarrhoea [37]	
HPeV-3	fever [18]		AFP [54, 65]	
	diarrhoea [21, 23, 35, 72]	HPeV-8	diarrhoea [37]	
	gastroenteritis [21, 22, 61, 62, 70, 72]		gastroenteritis [22, 31, 70]	
	hemorrhage-hepatitis syndrome [53]	encephalitis [61]	HPeV-9	diarrhoea [37]
	respiratory illness [19, 41, 93]	AFP [65]		
	AFP [65, 81]	HPeV-10	diarrhoea [61]	
	transient paralysis [45]		gastroenteritis [2, 49, 61, 70, 72]	
	facial palsy [61]		influenza-like illness [23]	
	meningitis [13, 35, 73, 93, 95]	HPeV-11	gastroenteritis, diarrhoea [70, 72]	
	encephalitis [18, 24, 29, 59]		HPeV-12	gastroenteritis, diarrhoea [3]
	sepsis [8, 14, 16, 18, 40, 46, 47, 53, 73, 84, 90, 92, 95]	AFP [3, 65]		HPeV-13
	influenza-like illness [93]	HPeV-14	diarrhoea [21, 23, 25, 37]	
	otitis media [14]		gastroenteritis [9, 21, 22, 70]	
	conjunctivitis and uveitis [14, 28]		fever [2]	
	rash [14, 48, 93]	HPeV-15	gastroenteritis, diarrhoea [2]	
	myositis/myalgia [60, 82, 93]		HPeV-16	enteritis [70]
	hemophagocytic lymphohistiocytosis (HLH) [39]	HPeV-17		diarrhoea [37]
sudden infant death syndrome (SIDS) [78]	enteritis [25]		HPeV-18	diarrhoea [37]
myocarditis [59]	HPeV-19	-		
hypothyroidism [29]				

5. HPeV types in the world

Infections caused by HPeV are noted worldwide, but the occurrence of the individual types is limited to certain geographical regions and time intervals (Tab. II).

Infections caused by type 1 occur all over the world, they are most often asymptomatic or in the form of

mild gastrointestinal symptoms and respiratory diseases [8, 41, 95, 98] accompanied by influenza-like illness [23]. This type is responsible for the development of pneumonia and bronchitis (China, Japan) [93, 98]. It has been isolated from the cases of gastrointestinal and respiratory infections in Japan [93], South Korea [38], the UK [40] and Croatia [56]. Moreover, it has been

Table II
Distribution of HPeV types throughout the world

	1950–1969	1970–1979	1980–1989	1990–1999	2000–2009	2010–2019
Africa						
Ghana					1, 2, 4, 5, 7–9, 14, 17, 18	
Côte d'Ivoire						17
South and North America						
Bolivia					1–4, 7, 9, 12	
Brazil					1, 5, 6, 8	1, 5, 6
Jamaica			1			
Canada			1		3	1, 3
USA	1, 2	4	1, 2, 4, 5	1, 2, 5	1–7, 9–14	1, 3
Australia and Oceania						
Australia						3
New Zealand						3
Asia						
Bahrain					1	
China						1, 3–6, 8, 14
India					1–8, 10, 11, 14, 16	1–8, 10, 11, 14, 16
Israel				1		4
Japan				3	1, 3, 4, 6	1, 3
South Korea					1, 4	1, 4
Pakistan					1, 3, 5–7, 10, 13, 15	12
Sri Lanka					1, 3–5, 10, 11	
Thailand					1–6, 10, 14	1–6, 10, 14, 17
Taiwan					3	1
Europe						
Austria						3
Belgium						3
Bulgaria						3, 5, 8, 10
Croatia					1	
Denmark					1, 3–6	1, 3–6
Finland			1	1	1	1
France					1	1, 3, 4
Spain						3, 5
Netherlands					1–6, 14	1, 3, 4
Germany					1, 3, 6	1, 3, 6
Norway					1–3, 6	
Sweden				1	1–4, 6	
Hungary				1, 4	1, 4	
United Kingdom					1, 3, 6	3
Italy						3, 6

detected in patients with gastrointestinal infections in many distant places of the world (the Netherlands, Hungary, Germany, Thailand, China, India, Brazil, Sri Lanka, Ghana) [5, 8, 21–23, 25, 31, 37, 49, 70, 72, 74, 76, 95], including the necrotising enterocolitis (Israel, Croatia) [12, 56]. It has also been detected in the acute infections of the central nervous system e.g., in encephalitis and meningitis (Finland, Hungary, Jamaica) [34, 51, 74], encephalomyelitis (Persian Gulf) [52], acute flaccid paralysis (Pakistan, Bolivia, Jamaica) [34, 54, 65], epilepsy (Germany) [48] and sepsis (the Netherlands, France) [8, 47]. Some infections were associated with the Guillain-Barré syndrome [55], Reye's syndrome [79], uveitis [28], myocarditis and cardiomyopathy [58, 96], otitis media [87], HUS syndrome [69].

Type 2 is rarely detected, and is most often associated with mild gastrointestinal tract and respiratory system infections [6, 68, 90]. It was identified in people with AFP in Bolivia [65], uveitis in the Netherlands [28], it was also isolated from the cases of diarrhea and gastroenteritis in Ghana, India and Thailand [23, 37, 70], as well as from healthy children in Norway [86].

Type 3 is a commonly detected genotype globally and regarded second only to HPeV1 [10, 46]. It was first isolated in Japan in 1999 from the faeces of a one-year-old child with transient paralysis [45]. It was detected in Canada in newborns with sepsis in 2001 [14]. It was also detected in Europe (Bulgaria, Denmark, the Netherlands, the UK, France, Italy, Spain, Austria, Germany) and other parts of the world (USA, Australia, Taiwan, Japan) in patients with sepsis and CNS infections [1, 8, 9, 13, 14, 16, 18, 19, 35, 40, 46–48, 53, 61, 73, 84, 90–93, 95]. Type 3 has been associated with cases of AFP in Pakistan [81] and Bolivia [65]. It was also isolated from patients with gastrointestinal infections (Sri Lanka, China, India, New Zealand, Thailand) [21–23, 62, 70, 72] and respiratory tract infections (Taiwan, the UK, Japan) [19, 41, 93]. It is considered as a risk factor for the sudden infant death syndrome (SIDS) [78]. In Japan, the correlation between the type 3 infection and hemophagocytic lymphohistiocytosis (HLH) [39] was observed, and in the USA with hepatitis with coagulopathy [53]. HPeV-3 has been detected in patients with otitis media and conjunctivitis [14], uveitis (the Netherlands) [28], myositis, myalgia and myocarditis (USA, Japan) [59, 60, 82, 93], but also in healthy children in Norway [86], as well as patients with fever in Spain [18] and in Sweden [63].

The type 4 parechovirus has been circulating since the seventies of the last century [4]; however, it was only described in 2006 in the Netherlands after its detection in the faeces of a neonate with fever [11]. In the case of infection with this type, a wide spectrum of symptoms is observed, from influenza-like illness (Thailand) [23], diarrhea and gastroenteritis (Thailand, India,

Ghana, South Korea, China, Hungary, Sri Lanka) [21–23, 37, 38, 49, 70, 72, 74], to AFP and sepsis (Bolivia, France) [47, 65]. HPeV-4 infection was associated with the TORCH syndrome [43] and lymphadenitis (Japan) [7, 21, 93].

The HPeV-5 prototype strain was isolated in the USA in 1986 from the faeces of a 2-year-old child with a fever, categorising it on the basis of serological research to EV [4, 68]. Presence of type 5 was indicated in patients with AFP in Pakistan [54] and Reye's syndrome in the USA [43]. It was detected in the cases of gastrointestinal infections in Thailand, India, Ghana, Brazil, China and Sri Lanka [21–23, 31, 37, 70, 72, 85]. Symptomatically similar cases were reported in Europe, including the Netherlands [9, 30], Spain [18], Bulgaria [61] and Denmark [35].

HPeV-6 was isolated for the first time from the cerebrospinal fluid of a one-year-old child with Reye's syndrome in Japan in 2000 [93]. After HPeV-1, it is the second type, most commonly causing respiratory infections (the UK) [41]. It was detected in patients with influenza-like illness (Thailand) [23] and with otitis media (the Netherlands) [30]. In the course of the infection, gastroenteritis, diarrhea [5, 21–23, 70, 93] and rash are primarily observed [93]. However, HPeV-6 may also result in CNS infections (the Netherlands) [7], including acute flaccid paralysis (Pakistan, Japan) [54, 93] and Guillain-Barré syndrome (Italy) [71].

The most often detected types are HPeV-1 to HPeV-6 and they are, therefore, considered to be the most important in the diagnosis of clinical cases, the remaining genotypes are rarely isolated.

HPeV-7 was detected in 2009 in the faeces of a healthy Pakistani child, who came into contact with a person affected with AFP [54], similar cases of association with AFP were observed in Bolivia [65]. HPeV-7 was also isolated from patients with diarrhea in Ghana [37], in the USA [64] and in India [70].

HPeV-8 was found in the faeces of children with gastroenteritis in Brazil in 2009 [31]. HPeV-8 was first isolated in 2011 in Europe from a nearly one-year-old child with encephalitis in Bulgaria [61]. The eighth type was also detected in the faeces of children with gastroenteritis in Ghana [37], India [70] and China [22].

Reference strains of relatively recently discovered types, from HPeV-9 to HPeV-19 were described by: Nix (2013), Böttcher (2017), Benschop (2008) and Graul (2017) [99]. Type 9 was detected in patients with AFP in Bolivia [65] and patients with diarrhea in Ghana [37]. Type 10 was isolated from patients with influenza-like illness in Thailand [23], from patients with AFP in Bolivia [64], and patients with enteritis and diarrhea (Bulgaria, Pakistan, India, Sri Lanka) [2, 49, 61, 70, 72]. Similarly, type 11 was detected in patients with gastroenteritis in Sri Lanka [49, 72] and in India [70].

The discovery of another HPeV type was reported in 2012. HPeV-12 was detected in Pakistan in an 18 month-old-child with gastroenteritis and AFP [3], and was subsequently also isolated from a child with AFP contact in Bolivia [65]. Types 13 and 15 were detected in patients with gastroenteritis in Pakistan [2] and India [70]. HPeV-14 was identified in the material obtained from patients with diarrhoea and gastroenteritis in the Netherlands, China, Ghana, India and Thailand [9, 21–23, 25, 37, 70], as well as patients with fever in Pakistan [2]. HPeV-16 was detected in patients with enteritis in India [70]. Similarly, type 17 was identified in patients with enteritis and diarrhea in Thailand [25] and Ghana [37], as well as in a healthy child in Côte d'Ivoire [15]. HPeV-18 was detected in the faeces of patients with diarrhoea in Ghana [37].

HPeV-1 is the most frequently detected type of parechovirus in the world, which is confirmed by numerous European and Asian studies. The second type of parechovirus in terms of detection frequency is HPeV-3, followed by HPeV-4, 5 and 6 [5, 6, 8–10, 22, 30, 45, 46, 86, 93]. There are exceptions when type 3 is identified with a similar or higher frequency to type 1, [30, 93] e.g. in Amsterdam [9]. In Denmark, HPeV-3 was detected five times more often than HPeV-1 [35]. In the USA in the years 1983–2005, the dominant type was HPeV-2 [23], while in the years 2009–2013 HPeV-3 [1].

Parechovirus infections are reported worldwide. The observed differences in the circulation of particular types are of geographical nature, also the seasonality of cases is related to geographical latitude. In Ghana, for instance, a country in the equatorial climate zone, no differences in the incidence rates depending on the season of the year were observed [37]. Cases of diseases of parechovirus etiology coincide with the enterovirus pattern in a moderate climate (summer and autumn to early winter) [6, 21–23, 35, 41, 43, 75, 79, 83, 86]. Parechoviruses are detected with the highest frequency in the autumn and winter [6, 8–10, 72, 90, 93, 95], less frequently in the spring [52, 83] or in the summer [33, 52]. In Europe, HPeV-3 was detected in the spring [18, 90], in the summer [8, 10, 18, 46, 90, 95] and in the autumn [18, 92, 95]. Circulation of more than one HPeV genotype is often observed in a specific region [2, 5, 45, 72, 75, 86].

Parechoviruses, which cause CNS infections appear every 2–3 years [10]. It is noted that HPeV-3 exhibits a two-year cycle in Europe, starting in 1988 [6, 8, 9, 40, 42, 46, 90, 91, 97]; however, this is not confirmed by some European and Japanese studies [45, 73, 92, 95]. In Denmark, type 3 was detected every year during the investigated period (2009–2012), which suggests endemic circulation of the virus [35]. In contrast, in North America and Australia, it appears in odd years, mainly in the summer months [10, 16,

95]. In Asia, “intermittent” circulation of type 3, characterised by some enteroviruses (E9 and E30), was observed [10, 93].

6. Diagnosis

Diagnosis of parechoviral infections, similarly to enterovirus infections, is based on the isolation of viruses in the cultures of sensitive cells and/or on the detection of the virus genom (RNA) in the investigated material using molecular biology methods. Diagnosis based on clinical symptoms alone is not possible [32]. In the diagnosis of HPeV, various types of clinical materials are used: faeces, cerebrospinal fluid (CSF), serum, plasma, throat and nasopharyngeal swabs, tissue biopsies, bronchoalveolar lavages (BALF) [79]. In the case of CNS infections, the best diagnostic material is CSF, in which the HPeV detection clearly confirms the etiology of the infection. In the case of neuroinfections, identification of the virus in the faeces and/or throat swab is very helpful in the diagnosis, but does not clearly identify the cause of the disease [5, 9, 63, 86]. In the gastrointestinal and respiratory infections, the appropriate materials are faeces and throat swab; however, the presence of the virus in these materials does not definitively confirm the etiology of the infection [75]. Faeces and swab are the best diagnostic materials, regardless of the nature of clinical symptoms, because large amounts of the virus are shed by the infected people in the faeces and respiratory secretions for a long time after recovery [10, 41]. Type 1 is most frequently detected in the faeces and type 3 in CSF, exceptionally in China, HPeV-1 was detected in 90% of CSF samples from patients with the parechovirus CNS infection [46, 79].

Parechoviruses are isolated in cell lines sensitive to infection, among which the epithelial cell line of African green monkey (*Chlorocebus aethiops*) kidney epithelial cells – Vero is optimal; it allows multiplication of many diagnostically relevant HPeV types (including 1, 3, 4, 6) [6, 10, 14, 20, 45, 93, 98]. Other cell lines of importance in the diagnosis of HPeV are: HT29 (human colon carcinoma cells) [6, 10], A549 (human lung adenocarcinoma cells) [6, 20], tMK (*Cynomolgus* monkey kidney cells) [6, 30], LLCMK2 (*Rhesus* monkey kidney epithelial cell) [10], T84 (human colon carcinoma cells) [20], DBTRG-5MG (human glioblastoma cells) [20], and commonly used in the diagnosis of infections towards EV: RD (human rhabdomyosarcoma cells) [6] and L20B (mouse fibroblasts with the polio virus receptor) [3].

As in the case of enteroviruses, no cell line allows isolation of all HPeV types. Moreover, different types of parechovirus have varying ability to multiply in particular cell lines [10]. Therefore, as in the case of EV

diagnostics, several different cell lines are considered, although this does not guarantee isolation of all HPeV types present in the tested material.

Observation of the infected cell cultures lasts from a few to several days [14], and the cytopathic effect (CPE) indicating the presence of the virus in the material is similar to that caused by EV [6, 75]. Obtained isolates are then serotyped (serological methods) or genotyped (molecular methods) to identify the type of virus. Serological methods are rarely used due to the limited availability of polyclonal sera (available only for HPeV-1 and HPeV-2) [4, 10, 42, 79]. The traditional method of virus isolation in cell cultures is used in epidemiological studies, as it provides data on the types circulating in the population, and also allows monitoring of the dominant clinical and environmental types [42]. This method has numerous limitations; oftentimes observation for several days greatly prolongs the waiting time for the result, which is why HPeV isolation in cell cultures is of no value from the rapid diagnostics point of view (CNS infection, sepsis). Low isolation sensitivity in cell cultures associated with low viral titer in some types of clinical material (e.g. CSF) or the inability of certain types of virus to multiply in some cell lines may result in false negatives [10]. Isolation of types 7 to 19 is often difficult [10]. Today, the isolation method in cell lines is used to multiply viruses from selected PCR positive materials, which are then assigned a type. Serological methods are used in the "late diagnosis" and are based on the detection of antibodies appearing in response to a past infection [10, 14].

Increasingly, molecular biology methods are used to diagnose HPeV infections. These approaches are based on the detection of viral RNA in the examined clinical material. The highest sensitivity is obtained by examining faeces [91], but in the case of neuroinfections, it is necessary to study CSF in order to confirm the etiology of the infection. Molecular biology methods also allow identification of new types. Due to the fact that the genetic material of parechovirus is RNA, diagnostic molecular methods are based on reverse transcription PCR (RT-PCR). Most often, the highly conserved 5'UTR region is amplified. The PCR technique is currently the gold standard in the diagnosis of parechoviral infections enabling the identification of all HPeV types [6, 27, 42]. It requires different primers than the reaction identifying EV, since the sequences of the 5'UTR regions of both types are very different [68]. The first tests based on RT-PCR detected only types 1 and 2. With time, the PCR methods for subsequent types were determined [7, 27, 40, 41, 63]. Numerous studies show that the molecular diagnostics of HPeV is faster, simpler and more sensitive than isolation in cell lines [10].

Currently, different types of RT-PCR are used for the diagnostic purposes. Multiplex-PCR techniques

with high specificity and sensitivity have been used in diagnostics differentiating e.g. the HPeV/EV infection. Reactions of this type can identify up to several pathogens in one sample, allow for quick diagnostics of CNS and sepsis infections, which can contribute to shortening of the hospitalisation time and rapid implementation of treatment [17]. The multiplex reaction works well in the diagnosis of material with low virus titre (e.g. CSF) and allows for detection of the most common types of HPeV (1–6) [7, 10]. Real-time RT-PCR reduces the risk of non-specific reactions compared to typical RT-PCR [7, 63]. It is successfully used for rapid diagnostics, while simultaneously detecting EV and HPeV in clinical material [18, 92]. Many HPeV detection reactions have been established and their efficiency is adjusted based on the tested material e.g., stool, CSF, blood or swab [9, 86]. Real-time RT-PCR is a method even a thousand times more sensitive than isolation in cell lines [5, 63]. In turn, nested PCR relies on a two-stage amplification of the VP3/VP1 region and allows to reduce the risk of amplification of a non-specific fragment of the genetic material. It is a method suitable for the diagnosis of CNS infections, which improved the HPeV typing from CSF [40, 92]. It is also useful in molecular epidemiology in the study of geographical distribution of genotypes and for the identification of new HPeV types [40, 41].

The new diagnostic method, VIDISCA, is based on the use of cDNA-AFLP, so the polymorphism of the length of amplified cDNA fragments and allows faster detection of RNA or DNA of viruses amplified in cell lines. It is used to identify types when the classical PCR technique fails (e.g. HPeV-5) [30, 81].

HPeV typing is also carried out using molecular methods. Genotyping uses a PCR technique based on the amplification and sequencing of the highly variable region encoding the VP1 protein [6, 40, 43, 64, 75]. In recent years, the direct genotyping method has become popular, allowing the identification of the type directly from the clinical material, which avoids the difficult isolation of the virus in cell lines, e.g. CSF. Conducted from faeces, it allows HPeV detection with even greater sensitivity [6, 9, 10, 40].

7. Pathogenesis

Age is the main risk factor for parechovirus infection and the development of severe disease. Children aged from 6 months to 5 years are particularly at risk. Among people infected with parechovirus, it is young children that constitute the majority (approx. 90%), and a significant proportion of them is less than a year old [1, 35, 83]. It is mainly boys who become ill, although this relationship is usually not statistically significant.

Among the cases of parechovirus 1 and 2 infections registered in the USA in the years 1970–2005, children below 1 year constituted 73% and 68% of the total number respectively, while children up to 5 years 95% and 88%, respectively [10, 43, 75]. Studies on the level of anti-HPeV antibodies in Norway showed that parechovirus infection had 43% of children up to 1 year of age, 86% up to 2 years of age, and 94% of children up to 3 years of age [86]. It is estimated that over 90% of children under 2 years old were infected with at least one type of HPeV [27, 43]. In China, among patients with gastrointestinal infection of the parechovirus etiology, children up to 2 years of age constituted 97.7% [21].

Infants are particularly vulnerable to parechovirus infections because they have an immature immune system [42]. In the case of children up to 6 months of age, protection is provided by maternal antibodies, the level of which falls rapidly after 6 months of life [10]. The number of people with immunity and HPeV antibodies increases with age. Low levels of antibodies in young children translate into high incidence. Seroprevalence studies in Finland from 1998 and 2007 showed that as many as 95% of newborns had HPeV antibodies [42, 83], whereas only 20–30% of children aged 2–12 months, while seroprevalence significantly increases in the age range of 1–2 years (89%), reaching 98% in children up to 3 years of age [42, 45, 79, 86]. In a Norwegian study, children up to 1 year old had twice as many anti-HPeV-1 antibodies (43%) as children from Finland. Similar results were obtained in the remaining age groups [86]. It is estimated that 92–99% of the adult population have the anti-HPeV antibodies [10, 42, 83, 95].

The issue of protection against type 3 is different from protection against other types of HPeV. Only 15% of children up to 1 year of age have the anti-HPeV antibodies. This number increases to 45% for children in the age range of 2–3 years, to 85% in children aged 4–6 and to 90% in adolescents. In the second and third decades of life, the percentage of people with antibodies falls and interestingly, among women of child-bearing age in Japan (20–39 years), lower levels of anti-HPeV-3 antibodies (57–74%) have been demonstrated compared to the standard group [45]. In Finland and the Netherlands, respectively, only 10% and 13% of the subjects had antibodies against type 3 [13, 79, 95]. Low level of type 3 antibodies in adults may result in low level of maternal antibodies, and thus ineffective protection of infants in the early months of life. This may be a possible explanation for the serious course of infection with type 3 compared to HPeV-1 [10, 32, 42, 43, 95].

There is a clear differentiation in the age of children infected with individual types of HPeV. The average age of children infected with type 1 is approx. 6 months,

while for type 3 the average is 1–2 months [8, 35, 42, 46, 90]. Severe parechoviral infections (CNS, respiratory), often caused by type 3, are almost exclusively limited to infants up to 3 months of age [9, 10, 13, 40, 41, 47, 73, 75, 84, 91, 92]. In 2016 in the UK, among children with severe parechovirus infections, 92% were infants up to 3 months old, of which as much as 43% were newborns [33]. In Switzerland, 66% of children infected with HPeV were under 3 months [26]. In Spain, types 3 and 5 were isolated in newborn infants with fever without a source (FWS), sepsis and encephalitis [18].

In comparison to enteroviruses, parechoviruses are rarely detected in older children and adults and usually constitute only a small percentage of the studied subjects (a few percent) [10, 23]. Exceptionally, in 2008 and 2014 in Japan, myositis and myalgia in adults with HPeV etiology were observed [32, 60]. A similar case was a pregnant woman with myalgia and muscle weakness in whom HPeV-3 was detected [82]. In the Netherlands, parechoviruses have been detected in adults with uveitis (28), whereas in Thailand in adults with gastroenteritis [76]. Other known cases include myocarditis in a 16-year-old girl in the USA and a 26-year-old man in Australia [50, 59]. An incidence of meningoencephalitis in an adult has also been reported in Australia [24].

Coinfections may affect the course of diseases with parechovirus etiology. In the respiratory tract infections, up to two-thirds of the patients exhibited HPeV coinfection with at least one respiratory virus, e.g. adenovirus and RS virus (RSV, *respiratory syncytial virus*) [32, 41]. In Sri Lanka, 67% of gastroenteritis cases were a result of a mixed infection with HPeV and viruses resulting in diarrhea (rotavirus, norovirus and adenovirus) [72]. Similarly, in China, in half of the people with gastroenteritis, in addition to parechoviruses, other diarrheal viruses (rotaviruses, noroviruses, adenoviruses, astroviruses, sapoviruses) were identified, among which the most common pathogen were rotaviruses [21, 22]. Coinfections with noroviruses and enteroviruses have been observed in diarrhea cases in Thailand [25] and Ghana [37]. In addition, in the Netherlands mixed infections with HPeV and EV accounted for between 1% and 3% of the studied cases [6, 9].

In a Norwegian study, 11% of children were diagnosed with HPeV, regardless of symptoms [42, 86]. A similar result (11.6%) was obtained in Germany among children with pathological symptoms, which did not significantly differ from the result in the group of healthy children. Interestingly, one of the highest viral titers was marked in the material from a healthy child. In a German study no significant association between HPeV and gastroenteritis was observed [5]. No correlation between viral load and disease severity was found either [95]. The above observations suggest that the course of the disease depends on additional factors.

The role of TLR7 and TLR8 receptors in the pathogenesis of encephalitis and damage to white matter in response to the HPeV infection has been suggested [10, 27, 32]. TLRs are transmembrane proteins, which when bound to specific antigens, induce the secretion of pro-inflammatory cytokines. They play the role of so-called sensors (host sensors) for HPeV. Following the binding of viral RNA by TLR, the immune response is initiated, and the pro-inflammatory cytokines and reactive oxygen species are released, leading to cell death [10, 27, 32]. The presence of a large number of TLR8 receptors in a developing nervous system may affect a serious course of infection, associated with neuronal apoptosis and irreversible changes in the brain.

HPeV-3 is considered to be the most pathogenic type of parechovirus [27]. The reasons for this may be the differences in viral biology (lack of RGD), involving the use of a different receptor than the other types [9, 10, 32, 40–43]. It was noticed that HPeV-3 proliferates significantly more efficiently in neural cells than HPeV-1, which may indicate greater neurotropism and explain the serious course of infections with this type [9, 27, 32]. It is the most frequently detected parechovirus in CNS infections and sepsis in newborns, and is associated with meningitis, sepsis, fever and rash more than type 1 [27, 90, 95]. It also causes more severe disease course in younger children [8, 9, 47, 48, 84, 92, 95]. It is also the second cause of viral meningitis, encephalitis and newborn sepsis after enteroviruses, and is responsible for 3 to 17% of cases of meningitis and encephalitis [10, 27, 75, 97]. Other types sporadically cause severe forms of the disease [93]. After an infection, a reinfection with another type almost always occurs within the following three years [86].

Patients with parechovirus infections receive symptomatic treatment, and a more severe course of the disease requires hospitalisation and monitoring of vital signs. There is no effective antiviral treatment. Patients with myocarditis have been successfully treated with intravenous immunoglobulin (IVIG), which is commonly used on patients with enterovirus infections. Immunoglobulin reduces inflammation by affecting a network of cytokines involved in the inflammatory reaction in response to an infection [32, 43, 59, 89, 96]. Some researchers find it unlikely that immunoglobulin therapy would be effective in the cases of severe disease caused by HPeV-3 due to low seroprevalence. Higher IVIG efficacy was observed in HPeV-1 infections than in other types [10, 27, 79]. So far, the effectiveness of drugs used to treat enterovirus infections has not been confirmed. This includes pleconaril (blocks the receptor binding site of the capsid), rupintrivir and SG85 (3C protease inhibitors), as well as helicase/ATPase 2C inhibitors (e.g. GuHCl and HBB), which is probably due to differences in the capsid structure and genetic dif-

ferences between EV and HPeV. Nonetheless, the most promising drugs appear to be preparations from the group of capsid inhibitors and 3C protease inhibitors, as well as substances targeting the host factors used by the virus during replication, as in the case of anti-HCV therapy [32, 89]. Monoclonal antibodies and ribavirin (nucleotide analogue) may turn out to be a promising form of therapy [10, 32, 43, 89].

8. Summary

Parechoviruses are pathogens, which commonly occur throughout the world. Most often, they cause harmless infections of the gastrointestinal and respiratory tracts in young children. However, some infected people develop acute symptoms and severe forms of disease. The key factor in the development of severe stages of the disease is age, which makes young children particularly susceptible to parechovirus infections.

Numerous reports describe the connection of parechoviruses with many disease entities. Also the observed spectrum of symptoms is broad and unspecific, and the fact that the course of the parechovirus and enterovirus infections is similar, makes the differential diagnosis a big challenge, especially in the area of standardisation of diagnostic methods. Many research groups are observing the trend of parechoviruses rising to a second place after enteroviruses in the ranking of etiological factors of viral meningitis and sepsis, especially in newborns and infants. In spite of this, only few laboratories carry out diagnostics for parechovirus infections, which is performed mainly in reference laboratories.

Currently, 19 genotypes of HPeV are known, which differ in biological properties, the range of geographical occurrence, pathogenicity, as well as in the frequency of detection. Although six decades have passed since the discovery of the first parechovirus, our knowledge of these variable pathogens is still incomplete. An increasing number of research groups, including European ones, are aware of the need to conduct more extensive research into the biology of parechovirus and to supervise the incidence of HPeV infections. Monitoring the circulation of genotypes in the population is of particular importance, as well as collecting data from clinical history. The current knowledge on parechovirus shows the need for further virological and epidemiological studies in order to understand and assess the threat of these small viruses.

Acknowledgments

This research was undertaken as a part of BW-1/2019.

The article was translated by EURO-ALPHABET from Polish into English under agreement 659/P-DUN/2018 and funded by the Ministry of Science and Higher Education.

References

1. Abedi G.R., Watson J.T., Pham H., Nix W.A., Oberste M.S., Gerber S.I.: Enterovirus and human parechovirus surveillance – United States, 2009–2013. *MMWR Morb. Mortal. Wkly. Rep.* **64**, 940–943 (2015)
2. Alam M.M., Khurshid A., Shaukat S., Rana M.S., Sharif S., Angez M., Nisar N., Naeem M., Zahoor Zaidi S.S.: Human parechovirus genotypes –10, –13 and –15 in Pakistani children with acute dehydrating gastroenteritis. *PLOS One*, **8**, e78377 (2013)
3. Alam M.M., Khurshid A., Shaukat S., Sharif S., Rana M.S., Angez M., Naeem M., Zaidi S.S.: Identification of human parechovirus genotype, HPeV-12, in a paralytic child with diarrhea. *J. Clin. Virol.* **55**, 339–342 (2012)
4. Al-Sunaidi M., Williams Ç.H., Hughes P.J., Shnurr D.P., Stanway G.: Analysis of a new human parechovirus allows the definition of parechovirus types and the identification of RNA structural domains. *J. Virol.* **81**, 1013–1021 (2007)
5. Baumgarte S., de Souza Luna L.K., Grywna K., Panning M., Drexler J.F., Karsten C., Huppertz H.I., Drosten C.: Prevalence, types and RNA concentrations of human parechoviruses including a sixth parechovirus type in stool samples from patients with acute enteritis. *J. Clin. Microbiol.* **46**, 242–248 (2008)
6. Benschop K., Minnaar R., Koen G., van Eijk H., Dijkman K., Westerhuis B., Molenkamp R., Wolthers K.: Detection of human enterovirus and human parechovirus (HPeV) genotypes from clinical stool samples: polymerase chain reaction and direct molecular typing, culture characteristics and serotyping. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* **68**, 166–173 (2010)
7. Benschop K., Molenkamp R., van der Ham A., Wolthers K., Beld M.: Rapid detection of human parechoviruses in clinical samples by real-time PCR. *J. Clin. Virol.* **41**, 69–74 (2008)
8. Benschop K.S., Schinkel J., Minnaar R.P., Pajkrt D., Spanjerberg L., Kraakman H.C., Berkhout B., Zaaijer H.L., Beld M.G., Wolthers K.C.: Human parechovirus infections in Dutch children and the association between serotype and disease severity. *Clin. Infect. Dis.* **42**, 204–210 (2006)
9. Benschop K., Thomas X., Serpenti C., Molenkamp R., Wolthers K.: High prevalence of human parechovirus (HPeV) genotypes in the Amsterdam region and identification of specific HPeV variants by direct genotyping of stool samples. *J. Clin. Microbiol.* **46**, 3965–3970 (2008)
10. Benschop K., Wildenbeest J., Pajkrt D., Wolthers K.: Human parechoviruses, new players in the pathogenesis of viral meningitis. doi: 10.5772/30816 (2012)
11. Benschop K.S.M., Wolthers K.C. i wsp.: Fourth human parechovirus serotype. *Emerg. Infect. Dis.* **12**, 1572–1575 (2006)
12. Birenbaum E., Handsher R., Kuint J., Dagan R., Raichman B., Mendelson E., Linder N.: Echovirus type 22 outbreak associated with gastro-intestinal disease in a neonatal intensive care unit. *Amer. J. Perinatol.* **14**, 469–473 (1997)
13. Bissel S.J., Wiley C.A. i wsp.: Human parechovirus 3 meningitis and fatal leukoencephalopathy. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* **74**, 767–777 (2015)
14. Boivin G., Abed Y., Boucher F.D.: Human parechovirus 3 and neonatal infections. *Emerg. Infect. Dis.* **11**, 103–107 (2005)
15. Böttcher S., Obermeier P.E., Diedrich S., Kaboré Y., D'Alfonso R., Pfister H., Kaiser R., Di Cristanziano V.: Genome sequence of novel human parechovirus type 17. *Genome Announc.* **5**, 1–2 (2017)
16. Britton P.N., Jones C.A., Macartney K., Cheng A.C.: Parechovirus: an important emerging infection in young infants. *Med. J. Aust.* **208**, 365–369 (2018)
17. Bubba L., Pellegrinelli L., Pariani E., Primache V., Amendola A., Binda S.: A novel multiplex one-step real-time RT-PCR assay for the simultaneous identification of enterovirus and parechovirus in clinical fecal samples. *J. Prev. Med. Hyg.* **56**, 57–60 (2015)
18. Cabrerizo M., Calvo C. i wsp.: Comparison of epidemiology and clinical characteristics of infections by human parechovirus vs. those by enterovirus during the first month of life. *Eur. J. Pediatr.* **174**, 1511–1516 (2015)
19. Chang J.T., Yang C.S., Chen B.C., Chen Y.S., Chang T.H.: Complete genome sequence of the first human parechovirus type 3 isolated in Taiwan. *J. Chin. Med. Assoc.* **80**, 737–739 (2017)
20. Chang J.T., Yang C.S., Chen Y.S., Chen B.C., Chiang A.J., Chang Y.H., Tsai W.L., Lin Y.S., Chao D., Chang T.H.: Genome and infection characteristics of human parechovirus type 1: the interplay between viral infection and type I interferon antiviral system. *PLOS One*. **10**, e0116158 (2015)
21. Chen H., Yao Y., Liu X., Xiao N., Xiao Y., Huang Y., Chen Q., Yu S.: Molecular detection of human parechovirus in children with acute gastroenteritis in Guangzhou, China. *Arch. Virol.* **159**, 971–977 (2014)
22. Chen H., Zheng X., Chen X., Shi T., Yao Y., Yuan Q., Chen Q., Yu S.: Diversity and recombination of human parechovirus in children with acute gastroenteritis in Guangzhou, China. *J. Med. Virol.* **87**, 296–302 (2015)
23. Chieochansin T., Vichiwattana P., Korkong S., Theamboonlers A., Poovorawan Y.: Molecular epidemiology, genome characterization and recombination event of human parechovirus. *Virology*, **421**, 159–166 (2011)
24. Chimunda T., Subramanian R., Smith J., Mahony A.: First reported case of human parechovirus encephalitis in an adult patient complicated by refractory status epilepticus. *IDCases*, **15**, e00475 (2019)
25. Chuchaona W., Khamrin P., Yodmeeklin A., Saikruang W., Kongsricharoern T., Ukarapol N., Okitsu S., Hayakawa S., Ushijima H., Maneekarn N.: Detection and characterization of a novel human parechovirus genotype in Thailand. *Infect. Genet. Evol.* **31**, 300–304 (2015)
26. Cordey S., L'Huillier A.G., Turin L., Gervaix A., Posfay Barbe K., Kaiser L.: Enterovirus and parechovirus viraemia in young children presenting to the emergency room: unrecognized and frequent. *J. Clin. Virol.* **68**, 69–72 (2015)
27. de Crom S.C., Rossen J.W., van Furth A.M., Obihara C.C.: Enterovirus and parechovirus infection in children: a brief overview. *Eur. J. Pediatr.* **175**, 1023–1029 (2016)
28. de Groot-Mijnes J.D., Rothova A. i wsp.: Identification of new pathogens in the intraocular fluid of patients with uveitis. *Am. J. Ophthalmol.* **150**, 628–636 (2010)
29. Dereymaeker A., Vanhaesebrouck S., Jansen K., Lagae L., de Vries L., Naulaers G.: Transient hypothyroidism associated with viral human parechovirus encephalitis in a newborn. *Eur. J. Paediatr. Neurol.* **19**, 706–710 (2015)
30. de Vries M., Pyrc K., Berkhout R., Vermeulen-Oost W., Dijkman R., Jebbink M.F., Bruisten S., Berkhout B., van der Hoek L.: Human parechovirus type 1, 3, 4, 5 and 6 detection in picornavirus cultures. *J. Clin. Microbiol.* **46**, 759–762 (2008)
31. Drexler J.F., Grywna K., Stöcker A., Almeida P.S., Medrado Ribeiro T.C., Eschbach-Bludau M., Petersen N., da Costa Ribeiro H. Jr., Drosten C.: Novel human parechovirus from Brazil. *Emerg. Infect. Dis.* **15**, 310–313 (2009)
32. Esposito S., Rahamat-Langendoen J., Ascolese B., Senatore L., Castellazzi L., Niesters H.G.: Pediatric parechovirus infections. *J. Clin. Virol.* **60**, 84–89 (2014)
33. Ferreras Antolin L., Kadambari S., Braccio S., Tang J.W., Xerry J., Allen D.J., Ladhani S.N.: Increased detection of human parechovirus infection in infants in England during 2016: epidemiology and clinical characteristics. *Arch. Dis. Child.* **103**, 1061–1066 (2018)

34. Figueroa J.P., Ashley D., King D., Hull B.: An outbreak of acute flaccid paralysis in Jamaica associated with echovirus type 22. *J. Med. Virol.* **29**, 315–319 (1989)
35. Fischer T.K., Midgley S., Dalgaard C., Nielsen A.Y.: Human parechovirus infection, Denmark. *Emerg. Infect. Dis.* **20**, 83–87 (2014)
36. Ghazi F., Hughes P.J., Hyypia T., Stanway G.: Molecular analysis of human parechovirus type 2 (formerly echovirus 23). *J. Gen. Virol.* **79**, 2641–2650 (1998)
37. Graul S., Böttcher S., Eibach D., Krumkamp R., Käsmaier J., Adu-Sarkodie Y., May J., Tannich E., Panning M.: High diversity of human parechovirus including novel types in stool samples from Ghanaian children. *J. Clin. Virol.* **96**, 116–119 (2017)
38. Han T.H., Kim C.H., Park S.H., Chung J.Y., Hwang E.S.: Detection of human parechoviruses in children with gastroenteritis in South Korea. *Arch. Virol.* **156**, 1471–1475 (2011)
39. Hara S., Kawada J., Kawano Y., Yamashita T., Minagawa H., Okumura N., Ito Y.: Hyperferritinemia in neonatal and infantile human parechovirus-3 infection in comparison with other infectious diseases. *J. Infect. Chemother.* **20**, 15–19 (2014)
40. Harvala H., Robertson I., Chieochansin T., McWilliam Leitch E.C., Templeton K., Simmonds P.: Specific association of human parechovirus type 3 with sepsis and fever in young infants, as identified by direct typing of cerebrospinal fluid samples. *J. Infect. Dis.* **199**, 1753–1760 (2009)
41. Harvala H., Robertson I., McWilliam Leitch E.C., Benschop K., Wolthers K.C., Templeton K., Simmonds P.: Epidemiology and clinical associations of human parechovirus respiratory infections. *J. Clin. Microbiol.* **46**, 3446–3453 (2008)
42. Harvala H., Simmonds P.: Human parechoviruses: biology, epidemiology and clinical significance. *J. Clin. Virol.* **45**, 1–9 (2009)
43. Harvala H., Wolthers K.C., Simmonds P.: Parechoviruses in children: understanding a new infection. *Curr. Opin. Infect. Dis.* **23**, 224–230 (2010)
44. Hyypiä T., Horsnell C., Maaronen M., Khan M., Kalkkinen N., Auvinen P., Kinnunen L., Stanway G.: A distinct picornavirus group identified by sequence analysis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **89**, 8847–8851 (1992)
45. Ito M., Yamashita T., Tsuzuki H., Takeda N., Sakae K.: Isolation and identification of a novel human parechovirus. *J. Gen. Virol.* **85**, 391–398 (2004)
46. Janes V.A., Minnaar R., Koen G., van Eijk H., Dijkman-de Haan K., Pajkrt D., Wolthers K.C., Benschop K.S.: Presence of human non-polio enterovirus and parechovirus genotypes in an Amsterdam hospital in 2007 to 2011 compared to national and international published surveillance data: a comprehensive review. *Euro. Surveill.* **19**, pii: 20964 (2014)
47. Jeziorski E., Schuffenecker I., Bohrer S., Pain J.B., Segondy M., Foulongne V.: Relevance of human parechovirus detection in cerebrospinal fluid samples from young infants with sepsis-like illness. *J. Clin. Lab. Anal.* **29**, 112–115 (2015)
48. Karsch K., Rath B. i wsp.: Human parechovirus infections associated with seizures and rash in infants and toddlers. *Pediatr. Infect. Dis. J.* **34**, 1049–1055 (2015)
49. Kim Pham N.T., Trinh Q.D., Takanashi S., Abeysekera C., Abeygunawardene A., Shimizu H., Khamrin P., Okitsu S., Mizuguchi M., Ushijima H.: Novel human parechovirus, Sri Lanka. *Emerg. Infect. Dis.* **16**, 130–132 (2010)
50. Kong K.L., Lau J.S.Y., Goh S.M., Wilson H.L., Catton M., Korman T.M.: Myocarditis caused by human parechovirus in adult. *Emerg. Infect. Dis.* **23**, 1571–1573 (2017)
51. Koskiniemi M., Paetau R., Linnavuori K.: Severe encephalitis associated with disseminated echovirus 22 infection. *Scand. J. Infect. Dis.* **21**, 463–466 (1989)
52. Legay V., Chomel J.J., Fernandez E., Lina B., Aymard M., Khalfan S.: Encephalomyelitis due to human parechovirus type 1. *J. Clin. Virol.* **25**, 193–195 (2002)
53. Levorson R.E., Jantausch B.A., Wiedermann B.L., Spiegel H.M., Campos J.M.: Human parechovirus-3 infection: emerging pathogen in neonatal sepsis. *Pediatr. Infect. Dis. J.* **28**, 545–547 (2009)
54. Li L., Victoria J., Kapoor A., Naeem A., Shaikat S., Sharif S., Alam M.M., Angez M., Zaidi S.Z., Delwart E.: Genomic characterization of novel human parechovirus type. *Emerg. Infect. Dis.* **15**, 288–291 (2009)
55. Linden S., Vuorinen T., Österback R., Soilu-Hänninen M.: Parechovirus infection preceding Guillain-Barré syndrome. *J. Neurovirol.* **18**, 434–436 (2012)
56. Ljubin-Sternak S., Juretić E., Šantak M., Pleša M., Forčić D., Vilibić-Čavlek T., Aleraj B., Mlinarić-Galinović G.: Clinical and molecular characterization of a parechovirus type 1 outbreak in neonates in Croatia. *J. Med. Virol.* **83**, 137–141 (2011)
57. Lodder W.J., Schijven J.E., Rutjes S.A., de Roda Husman A.M., Teunis P.F.: Enterovirus and parechovirus distributions in surface water and probabilities of exposure to these viruses during water recreation. *Water Res.* **75**, 25–32 (2015)
58. Maller H.M., Powars D.F., Horowitz R.E., Portnoy B.: Fatal myocarditis associated with ECHO virus, type 22, infection in a child with apparent immunological deficiency. *J. Pediatr.* **71**, 204–210 (1967)
59. Mardekian S.K., Fortuna D., Nix A., Bhatti T., Wiley C.A., Flanders A., Urtecho J., Sloane J., Ahmad J., Curtis M.T.: Severe human parechovirus type 3 myocarditis and encephalitis in an adolescent with hypogammaglobulinemia. *J. Infect. Dis.* **36**, 6–8 (2015)
60. Mizuta K., Yahagi K. i wsp.: Epidemic myalgia and myositis associated with human parechovirus type 3 infections occur not only in adults but also in children: findings in Yamagata, Japan, 2014. *Epidemiol. Infect.* **144**, 1286–1290 (2016)
61. Mladenova Z., Dikova A., Thongprachum A., Petrov P., Pekova L., Komitova R., Iturriza-Gomara M., Ushijima H.: Diversity of human parechoviruses in Bulgaria, 2011: detection of rare genotypes 8 and 10. *Infect. Genet. Evol.* **36**, 315–322 (2015)
62. Moore N.E., Wang J., Hewitt J., Croucher D., Williamson D.A., Paine S., Yen S., Greening G.E., Hall R.J.: Metagenomic analysis of viruses in feces from unsolved outbreaks of gastroenteritis in humans. *J. Clin. Microbiol.* **53**, 15–21 (2015)
63. Nix W.A., Maher K., Johansson E.S., Niklasson B., Lindberg A.M., Pallansch M.A., Oberste M.S.: Detection of all known parechoviruses by real-time PCR. *J. Clin. Microbiol.* **46**, 2519–2524 (2008)
64. Nix W.A., Maher K., Pallansch M.A., Oberste M.S.: Parechovirus typing in clinical specimens by nested or semi-nested PCR coupled with sequencing. *J. Clin. Virol.* **48**, 202–207 (2010)
65. Nix W.A., Oberste M.S. i wsp.: Diversity of picornaviruses in rural Bolivia. *J. Gen. Virol.* **94**, 2017–2028 (2013)
66. Norton S., Cordery D.V., Abbenbroek B.J., Ryan A.C., Muscatello D.J.: Towards public health surveillance of intensive care services in NSW, Australia. *Public Health Res. Pract.* **26**, doi: 10.17061/phrp2631633 (2016)
67. Obermeier P.E., Rath B. i wsp.: Acute disseminated encephalomyelitis after human parechovirus infection. *Pediatr. Infect. Dis. J.* **35**, 35–38 (2016)
68. Oberste M.S., Maher K., Pallansch M.A.: Complete sequence of echovirus 23 and its relationship to echovirus 22 and other human enteroviruses. *Virus Res.* **56**, 217–223 (1998)
69. O'Regan S., Robitaille P., Mongeau J.G., McLaughlin B.: The hemolytic uremic syndrome associated with ECHO 22 infection. *Clin. Pediatr. (Phila)*. **19**, 125–127 (1980)
70. Patil P.R., Ganorkar N.N., Gopalkrishna V.: Epidemiology and genetic diversity of human parechoviruses circulating among

- children hospitalised with acute gastroenteritis in Pune, Western India: a 5-years study. *Epidemiol. Infect.* **146**, 11–18 (2018)
71. Pellegrinelli L., Gambarà S., Micheli R., Binda S., Fazzi E., Pariani E.: Human parechovirus type 6 and Guillain-Barré syndrome: a case report. *J. Neurovirol.* **24**, 656–659 (2018)
 72. Pham N.T., Ushijima H. i wsp.: Human parechovirus infection in children hospitalized with acute gastroenteritis in Sri Lanka. *J. Clin. Microbiol.* **49**, 364–366 (2011)
 73. Piralla A., Mariani B., Stronati M., Marone P., Baldanti F.: Human enterovirus and parechovirus infections in newborns with sepsis-like illness and neurological disorders. *Early Hum. Dev.* **90**, 75–77 (2014)
 74. Reuter G., Új M., Pankovics P., Kolozsi T., Mihály I., Liptai Z., Boros Á.: Clinical significance and the first identification of human parechoviruses in Hungary. *Orv. Hetil.* **152**, 1007–1012 (2011)
 75. Romero J.R., Selvarangan R.: The human parechoviruses: an overview. *Adv. Pediatr.* **58**, 65–85 (2011)
 76. Saikruang W., Khamrin P., Suantai B., Okitsu S., Hayakawa S., Ushijima H., Maneekarn N.: Detection of diarrheal viruses circulating in adult patients in Thailand. *Arch. Virol.* **159**, 3371–3375 (2014)
 77. Samuilova O., Krogerus C., Pöyry T., Hyypiä T.: Specific interaction between human parechovirus nonstructural 2A protein and viral RNA. *J. Biol. Chem.* **279**, 37822–37831 (2004)
 78. Sedmak G., Nix W.A., Jentzen J., Haupt T.E., Davis J.P., Bhattacharyya S., Pallansch M.A., Oberste M.S.: Infant deaths associated with human parechovirus infection in Wisconsin. *Clin. Infect. Dis.* **50**, 357–361 (2010)
 79. Shah G., Robinson J.L.: The particulars on parechovirus. *Can. J. Infect. Dis. Med. Microbiol.* **25**, 186–188 (2014)
 80. Shan T.L., Wang C.M., Cui L., Delwart E., Yuan C.L., Zhao W., Guo W., Dai X.Q., Yu Y., Hua X.G.: Human parechovirus infections in monkeys with diarrhea, China. *Emerg. Infect. Dis.* **16**, 1168–1169 (2010)
 81. Shaukat S., Zaidi S. i wsp.: Identification and characterization of unrecognized viruses in stool samples of non-polio acute flaccid paralysis children by simplified VIDISCA. *Viol. J.* **11**, 146 doi:10.1186/1743-422X-11-146 (2014)
 82. Shinomoto M., Kawasaki T., Sugahara T., Nakata K., Kotani T., Yoshitake H., Yuasa K., Saeki M., Fujiwara Y.: First report of human parechovirus type 3 infection in a pregnant woman. *Int. J. Infect. Dis.* **59**, 22–24 (2017)
 83. Stanway G., Hyypiä T.: Parechoviruses. *J. Virol.* **73**, 5249–5254 (1999)
 84. Strenger V., Diedrich S., Boettcher S., Richter S., Maritschnegg P., Gangl D., Fuchs S., Grangl G., Resch B., Urlesberger B.: Nosocomial outbreak of parechovirus 3 infection among newborns, Austria, 2014. *Emerg. Infect. Dis.* **22**, 1631–1634 (2016)
 85. Sun G., Yang Y. i wsp.: Complete genome sequence of a novel type of human parechovirus strain reveals natural recombination events. *J. Virol.* **86**, 8892–8893 (2012)
 86. Tapia G., Cinek O., Witsø E., Kulich M., Rasmussen T., Grinde B., Rønningen K.S.: Longitudinal observation of parechovirus in stool samples from Norwegian infants. *J. Med. Virol.* **80**, 1835–1842 (2008)
 87. Tauriainen S., Oikarinen S., Taimen K., Laranne J., Sipilä M., Lönnrot M., Ilonen J., Simell O., Knip M., Hyöty H.: Temporal relationship between human parechovirus 1 infection and otitis media in young children. *J. Infect. Dis.* **198**, 35–40 (2008)
 88. Thongprachum A., Fujimoto T., Takamashi S., Saito H., Okitsu S., Shimizu H., Khamrin P., Maneekarn N., Hayakawa S., Ushijima H.: Detection of nineteen viruses in raw sewage in Japan. *Infect. Genet. Evol.* **63**, 17–23 (2018)
 89. van der Linden L., Wolthers K.C., van Kuppeveld F.J.: Replication and inhibitors of enteroviruses and parechoviruses. *Viruses*, **7**, 4529–4562 (2015)
 90. van der Sanden S., de Bruin E., Vennema H., Swanink C., Koopmans M., van der Avoort H.: Prevalence of human parechovirus in the Netherlands in 2000 to 2007. *J. Clin. Microbiol.* **46**, 2884–2889 (2008)
 91. Vergnano S., Kadambari S., Whalley K., Menson E.N., Martinez-Alier N., Cooper M., Sanchez E., Heath P.T., Lyall H.: Characteristics and outcomes of human parechovirus infection in infants (2008–2012). *Eur. J. Pediatr.* **174**, 919–924 (2015)
 92. Vollbach S., Müller A., Drexler J.F., Simon A., Drosten C., Eis-Hübinger A.M., Panning M.: Prevalence, type and concentration of human enterovirus and parechovirus in cerebrospinal fluid samples of pediatric patients over a 10-year period: a retrospective study. *Viol. J.* **12**, 199 doi:10.1186/s12985-015-0427-9 (2015)
 93. Watanabe K., Oie M., Higuchi M., Nishikawa M., Fujii M.: Isolation and characterization of novel human parechovirus from clinical samples. *Emerg. Infect. Dis.* **13**, 889–895 (2007)
 94. Wigand R., Sabin A.B.: Properties of ECHO types 22, 23 and 24 viruses. *Arch. Gesamte Virusforsch.* **11**, 224–247 (1961)
 95. Wildenbeest J.G., Benschop K.S.M., Minnaar R.P., Bouma-de Jongh S., Wolthers K.C., Pajkrt D.: Clinical relevance of positive human parechovirus type 1 and 3 PCR in stool samples. *Clin. Microbiol. Infect.* **20**, 640–647 (2014)
 96. Wildenbeest J.G., Wolthers K.C., Straver B., Pajkrt D.: Successful IVIG treatment of human parechovirus-associated dilated cardiomyopathy in an infant. *Pediatrics*, **132**, 243–247 (2013)
 97. Wolthers K.C., Benschop K.S., Schinkel J., Molenkamp R., Bergevoet R.M., Spijkerman I.J., Kraakman H.C., Pajkrt D.: Human parechoviruses as an important viral cause of sepsis-like illness and meningitis in young children. *Clin. Infect. Dis.* **47**, 358–363 (2008)
 98. Zhu R., Luo L., Zhao L., Deng J., Wang F., Sun Y., Song Q., Ding Y., Qian Y.: Characteristics of the mosaic genome of a human parechovirus type 1 strain isolated from an infant with pneumonia in China. *Infect. Genet. Evol.* **29**, 91–98 (2015)
 99. http://www.picornaviridae.com/parechovirus/parechovirus_a/parechovirus_a.htm (20.03.2019)

PARECHOWIRUSY – NIEDOCENIANE ZAGROŻENIE

Arleta Krzysztozek¹, Magdalena Wiczorek^{1*}

¹ Narodowy Instytut Zdrowia Publicznego – Państwowy Zakład Higieny, Zakład Wirusologii,
ul. Chocimska 24, 00-791 Warszawa

Wpłynęło w maju, zaakceptowano w czerwcu 2019 r.

Streszczenie: Parechowirusy to małe, bezosłonkowe wirusy o ikosaedralnym kapsydie, należące do rodziny *Picornaviridae*. Ich materiałem genetycznym jest jednoniciowe RNA o dodatniej polarności. Podobnie jak inne RNA wirusy charakteryzują się dużą zmiennością genetyczną, błyskawicznym tempem ewolucji i zdolnością do szybkiej adaptacji. Rodzaj *Parechovirus* został utworzony w latach 90 XX wieku i jak dotąd opisano 19 typów ludzkich parechowirusów (HPeV). HPeV zwykle wywołują łagodne objawy ze strony układu oddechowego lub pokarmowego, głównie u małych dzieci, ale mogą być również przyczyną ciężkich w przebiegu chorób, takich jak zapalenie mózgu, zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych, zapalenie mięśnia sercowego, ostre porażenie wiotkie i sepsa. Często ciężkie zakażenia niemowląt wiążą się z ryzykiem długoterminowych powikłań. Chociaż wiadomo, że HPeV wywołują zagrażające życiu choroby wieku dziecięcego, rutynowa diagnostyka, niestety nadal, nie jest wykonywana w praktyce laboratoryjnej. Nie są dostępne także swoiste leki przeciwwirusowe, stosowane jest jedynie leczenie objawowe. Stale rosnąca liczba przypadków zakażeń parechowirusami u niemowląt i powiązanie etiologii wielu poważnych jednostek chorobowych z HPeV było powodem, dla którego niektóre kraje zdecydowały się na objęcie zachorowań wywoływanych przez parechowirusy stałym nadzorem. Wydaje się, że niezbędny jest monitoring zakrojony na szeroką skalę, który pozwoliłby na zbadanie rozpowszechnienia, różnorodności genetycznej i znaczenia klinicznego HPeV. Chociaż pierwsze szczepy parechowirusów zostały odkryte 6 dekad temu, to poznanie ich biologii, epidemiologii, ewolucji i patogenności wciąż wymaga dalszych badań, które, miejmy nadzieję, pozwolą ocenić jakim zagrożeniem dla zdrowia publicznego mogą być te małe wirusy.

1. Wprowadzenie. 2. Klasyfikacja, budowa i replikacja. 3. Receptory komórkowe i zmienność HPeV. 4. Przebieg zakażenia. 5. Typy HPeV na świecie. 6. Diagnostyka. 7. Patogeneza. 8. Podsumowanie

PARECHOVIRUSES – UNDERESTIMATED RISK

Abstract: Parechoviruses are small, non-enveloped, icosahedral-shaped capsid viruses belonging to the *Picornaviridae* family. They are characterized by a single-positive-strand genomic RNA and as others RNA viruses have a great potential for genetic variation, the rapid evolution and adaptation. Genus Parechovirus has been established in the 90s and currently, 19 types of human parechoviruses (HPeV) are discovered. They usually cause mild respiratory or gastrointestinal illness, mainly in young children, but also can cause severe diseases such as encephalitis, meningitis, myocarditis, acute flaccid paralysis and sepsis. Severe HPeV infections in infants are also associated with a risk of long-term complications. Although it is known that HPeV plays a significant role in severe pediatric diseases, routine diagnostics are not performed in clinical practice. No antiviral drugs have been approved for the treatment of HPeV infections, and only symptomatic treatment is available. Increased detection of human parechovirus infection in infants and connection of serious clinical complication with parechovirus infection was the reason why surveillance was established in some countries, while the worldwide extensive surveillance needs to be performed in order to monitor prevalence, genetic diversity, and clinical significance of HPeV. Although the first HPeV strains were discovered 6 decades ago, recognition of HPeV biology, epidemiology, evolution and pathogenicity still requires more research to appreciate the risk for public health that these small viruses can be.

1. Introduction. 2. Classification, structure and replication. 3. Cellular receptors and HPeV variability. 4. Course of infection. 5. HPeV types in the world. 6. Diagnosis. 7. Pathogenesis. 8. Summary

Słowa kluczowe: choroby wieku dziecięcego, parechowirusy, sepsa w przebiegu chorób wirusowych, zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych
Key words: childhood diseases, parechoviruses, sepsis-like virus illness, meningitis

1. Wprowadzenie

W Stanach Zjednoczonych, w 1956 roku, z kału niemowląt z biegunką wyizolowano wirusy, które namnażały się w hodowlach komórek nerki małpiej i jednocześnie nie zakażały małp i oseków mysich. Zauważono także, że są one neutralizowane przez ludzkie gamma globuliny [94]. Na podstawie tych właściwości

zaliczono je do enterowirusów (EV), a dokładniej do wirusów ECHO (Enteric Cytopathogenic Human Orphan) i przypisano im kolejne numery 22 i 23 (E22, E23). Pierwsze szczepy, nazwane Harris i Williamson (odpowiednio E22 i E23) mimo, że spełniały kryteria przynależności do wirusów ECHO, różniły się wyraźnie od innych enterowirusów wzrostem w hodowlach komórkowych [75]. Również badania molekularne

* Autor korespondencyjny: Magdalena Wiczorek, Zakład Wirusologii, Narodowy Instytut Zdrowia Publicznego – Państwowy Zakład Higieny, ul. Chocimska 24, 00-791 Warszawa, tel. nr (0-22) 542 12 30; e-mail: mwiczorek@pzh.gov.pl

wykazały znaczącą homologię obydwu szczepów, przy jednocześnie małym podobieństwie do sekwencji znanych enterowirusów. Szczegółowe badania właściwości biologicznych oraz poznanie sekwencji nukleotydowej genomu wirusów doprowadziły do utworzenia w 1996 roku nowego rodzaju w rodzinie *Picornaviridae* – *Parechovirus*, obejmującego początkowo dwa typy HPeV-1 i HPeV-2 [36, 44, 68, 83].

Zakażenia wywołane przez parechowirusy występują powszechnie u ludzi na całym świecie i podobnie jak zakażenia enterowirusowe, w przeważającej części są bezobjawowe. Jeśli dochodzi do zachorowania, najczęściej manifestuje się ono łagodnymi objawami ze strony układów pokarmowego i oddechowego oraz ogranicza się niemal wyłącznie do populacji małych dzieci do 5 roku życia. Ludzkim parechowirusom (HPeV) przypisuje się także etiologię ciężkich chorób, które wymagają hospitalizacji, szczególnie zapaleń ośrodkowego układu nerwowego (OUN). Coraz więcej jest także informacji o możliwym udziale parechowirusów w rozwoju wielu różnych chorób, nie tylko neurologicznych. W ostatnich latach liczne, niezależne zespoły badawcze donoszą, że parechowirusy są drugim, po enterowirusach, czynnikiem powodującym sepsę u niemowląt oraz wirusowe zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych (ZOMR) u dzieci.

W związku z powyższymi odkryciami rośnie potrzeba wprowadzenia szybkiej diagnostyki różnicującej zakażenia enterowirusowe i parechowirusowe zwłaszcza w odniesieniu do ciężkich w przebiegu zapaleń OUN u najmłodszych pacjentów. Niezbędne wydaje się także opracowanie strategii zapobiegania szerzenia się zakażeń HPeV i rozwijanie możliwości terapeutycznych, a będzie to możliwe dzięki intensywnym badaniom wirusologicznym i epidemiologicznym. Niektóre kraje zdecydowały się na objęcie zachorowań wywoływanych przez parechowirusy stałym nadzorem, podobnie jak postępuje się w przypadku chorób o etio-

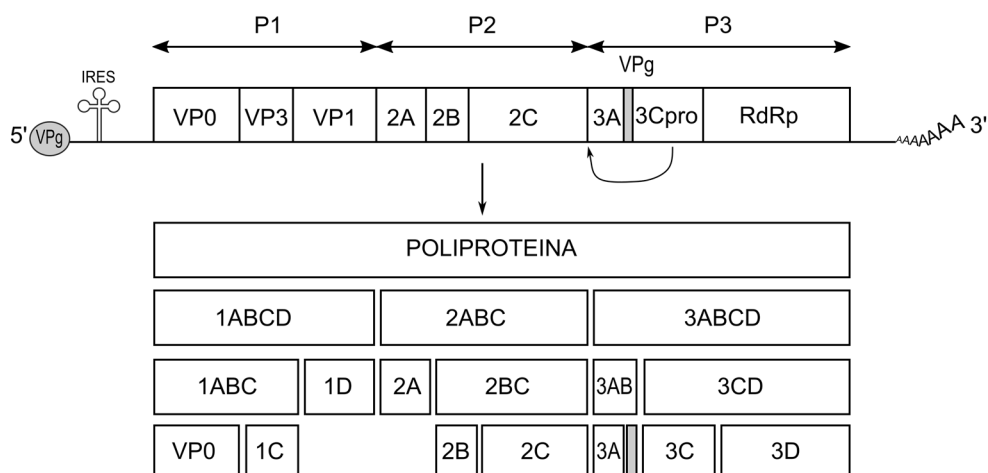
logii enterowirusowej. Program monitorowania zakażeń HPeV funkcjonuje m.in. w USA, Wielkiej Brytanii i Holandii [1, 33, 46], w Australii HPeV włączono do systemu monitorowania nowych patogenów powodujących ciężkie przypadki zachorowań [66].

Celem niniejszego opracowania jest przedstawienie parechowirusów jako patogenów o rosnącym znaczeniu klinicznym oraz ocena stanu wiedzy na temat zagadnień kluczowych z punktu widzenia diagnostyki, epidemiologii i leczenia.

2. Klasyfikacja, budowa i replikacja

Rodzaj *Parechovirus* należy do rodziny *Picornaviridae* i obejmuje cztery gatunki wirusów (*Parechovirus A-D*) będące patogenami ssaków. Ludzkie parechowirusy należą wyłącznie do gatunku A (*Parechovirus A*), na który składa się obecnie 19 typów, od HPeV-1 do HPeV-19 [99].

Są to małe (30 nm), bezosłonkowe wirusy o ikosaedralnym kształcie, których materiałem genetycznym jest jednoniciowa RNA o dodatniej polarności (+ssRNA), składające się z 7,3 tysięcy nukleotydów. Pojedyncza otwarta ramka odczytu koduje 3 białka strukturalne (region P1) i 7 białek niestrukturalnych (regiony P2 i P3) (Ryc. 1). Na końcach nici RNA znajdują się niekodujące regiony (UTR) uczestniczące w procesie replikacji, z końcem nici 5' związane jest kowalencyjnie wirusowe białko VPg, natomiast koniec 3' zakończony jest sekwencją poli(A). W regionie 5'UTR zlokalizowana jest struktura IRES (Internal Ribosomal Entry Site), która inicjuje translację wirusowej poliproteiny w sposób niezależny od struktury kap. Parechowirusy mają IRES typu II podobnie jak kardio-, afto- i hepatowirusy, natomiast u entero- i rinowirusów występuje IRES typu I. Charakterystycznie sfałdowany region 5'UTR uczestniczy także w replikacji wiruso-



Ryc. 1. Struktura genomu parechowirusów oraz potranslacyjna obróbka białek

wego RNA, w proces ten zaangażowane są struktury typu spinki SLS (stem-loop structure): SL-A i SL-B oraz struktura typu pseudowęzła pk-C (pseudoknot). Koniec 3'UTR, z pojedynczą strukturą SLS, również bierze udział w procesie replikacji wirusa [75], podobnie jak kolejna struktura typu spinki do włosów – CRE (cis-acting replication element), znajdująca się w regionie kodującym białko kapsydu VP0 [4, 36, 75, 83].

RNA wirusowe pełni funkcję mRNA, dlatego translacja możliwa jest bezpośrednio po wnikięciu cząsteczki wirusa do komórki. Translację zapoczątkowuje prawdopodobnie kodon AUG, podobnie jak u kardio- i aftowirusów [36, 83]. Uzyskana w wyniku translacji poliproteina podlega proteolitycznej obróbce przez wirusową proteazę 3C, natomiast białko 2A nie posiada właściwości proteolitycznych w przeciwieństwie do innych pikornawirusów [36, 83]. W pierwszym etapie powstają trzy peptydy prekursorowe (P1, P2, P3), następnie peptyd P1 jest cięty na trzy białka strukturalne: VP0, VP1 i VP3, a peptydy P2 i P3 cięte są na siedem białek niestrukturalnych (Ryc. 1), wśród których znajdują się: RNA-zależna polimeraza RNA 3Dpol (RdRp-RNA-dependent RNA polymerase), białko VPg (3B), NTPaza/helikaza (2C), proteaza 3Cpro [36, 44, 75, 83].

Struktura przestrzenna kapsydu parechowirusów jest podobna do innych wirusów z rodziny *Picornaviridae* [36, 42]. Białka strukturalne VP1, VP3 i VP0 formują protomer – podstawową jednostkę budującą kapsyd, na cały kapsyd składa się 60 protomerów zebranych w 12 pentamerów. W trakcie dojrzewania wirionu potomnego nie dochodzi do cięcia białka VP0 na VP2 i VP4 jak ma to miejsce w przypadku enterowirusów, dlatego w kapsydzie parechowirusów brak jest białka wewnętrznego VP4 (Ryc. 2), również zagłębienie w protomerze, noszące nazwę kanionu, nie jest tak głębokie jak u enterowirusów [44, 83, 89]. Kapsyd parechowirusów jest pozbawiony osłonki podobnie jak u innych pikornawirusów, co decyduje o większej stabilności cząstek wirusa w organizmie gospodarza oraz w środowisku. Białka

kapsydowe odpowiadają za wiązanie z receptorem na powierzchni komórek wrażliwych. Najbardziej immunogennym białkiem parechowirusów jest VP1, a jego sekwencja nukleotydowa jest najbardziej zmienna [30].

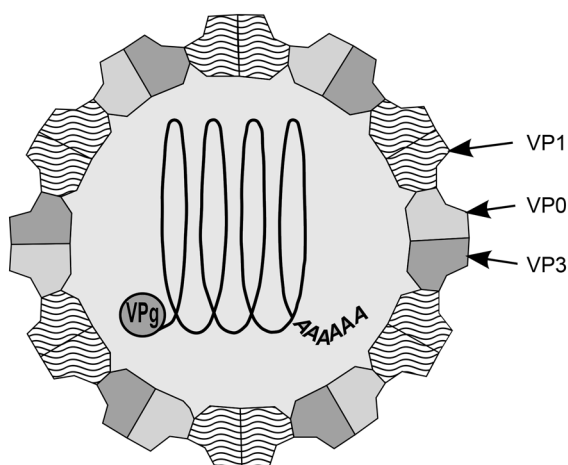
Replikacja wirusowego RNA przebiega z udziałem białek wirusowych, tworzących kompleks replikacyjny związany z błonami retikulum endoplazmatycznego (ER): 2A, 2C, 3A i 3B, z zaangażowaniem struktur SLS i CRE oraz wirusowej polimerazy 3D. Proces powielania RNA wirusowego rozpoczyna się od urydlacji białka VPg przez wirusową polimerazę na matrycy poli(A) w obecności struktury CRE, w wyniku czego powstaje VPgpU(pU). To z kolei zapoczątkowuje syntezę ujemnej nici RNA komplementarnej do RNA genomowego, powstają dwuniciowe, pośrednie formy replikacyjne (dsRNA). Nić (-) ssRNA staje się nicią matrycową, na której powstają liczne kopie genomowego RNA [10, 11, 42, 75, 77, 83, 89].

Bezpośrednio na matrycy genomowego RNA syntetyzowana jest poliproteina, a w wyniku jej cięcia powstają białka wirusowe. Białka te hamując procesy komórkowe doprowadzają do lizy komórki i uwolnienia powstałych cząstek potomnych wirusa. W komórkach zakażonych parechowirusami nie dochodzi do wyłączenia syntezy białek gospodarza, jak to ma miejsce przy zakażeniu enterowirusami. Mechanizm dojrzewania i składania wirionów nie jest dokładnie poznany [10, 42, 44, 83].

3. Receptory komórkowe i zmienność HPeV

Po związaniu wirusa z receptorem na powierzchni komórki dochodzi do zmian strukturalnych kapsydu i błony komórkowej, a w efekcie do uwolnienia materiału genetycznego wirusa do cytoplazmy. Odmienność tropizmu komórkowego różnych typów HPeV zależy od receptora, który dany typ wykorzystuje, by wnikać do komórki. Niektóre typy parechowirusów (HPeV-1, 2, 4, 5, 6) na końcu C białka VP1 posiadają tzw. motyw RGD złożony z aminokwasów: argininy, glicyny i asparagianinu. Struktura ta odpowiada również za wiązanie niektórych enterowirusów (Coxsackie A-9 i E9) do powierzchniowych receptorów komórkowych tzw. integrzyn [4, 27, 36, 44, 83]. Pozostałe typy parechowirusów nie posiadają tego motywu i uważa się, że wiążą się z innym receptorem komórkowym (RGD-niezależnym) lub też oddziałują z integrzynami w inny sposób [3, 31, 45, 49, 54, 72]. Wykryto szczepy HPeV-1, 4 i 5 wyjątkowo nie posiadające motywu RGD [9, 65].

Parechowirusy charakteryzuje duża zmienność genetyczna, o czym świadczą liczne genotypy. Na podstawie analizy genu kodującego białko strukturalne VP1 sklasyfikowanych jest obecnie 19 typów ludzkich parechowirusów [99]. Przyjęto, że sekwencje należące do



Ryc. 2. Schemat budowy cząsteczki parechowirusów

tego samego genotypu cechuje podobieństwo nukleotydowe rzędu min. 77% oraz aminokwasowe min. 87%, natomiast w przypadku różnych typów wynosi ono odpowiednio poniżej 73% i 81% [64]. Genom HPeV podlega ciągłym zmianom, tempo mutacji parechowirusów szacuje się na $2,2-2,8 \times 10^{-3}$ substytucji na nukleotydy/rok [23]. Źródła podają, że tempo mutacji HPeV-3 w regionie najbardziej zmiennym kodującym VP3/VP1 jest szacowane na $2,83 \times 10^{-3}$ substytucji na nukleotydy/rok, co oznacza zmianę jednego nukleotydu na 400 na rok, a tempo mutacji HPeV-1 jest co najmniej dwukrotnie większe [43].

Źródłem zmienności HPeV są liczne mutacje, presja selekcyjna układu immunologicznego gospodarza oraz częste zjawisko rekombinacji. Do rekombinacji dochodzi, gdy komórkę zakażą równocześnie dwa blisko spokrewnione wirusy – należące do tego samego typu (rekombinacja intratypowa) lub dwóch różnych typów HPeV (rekombinacja intertypowa). Rekombinacja przyczynia się do wytworzenia nowych wariantów wirusa i tym samym do zwiększenia tempa ewolucji, prowadzi do nabycia różnic genetycznych warunkujących zmianę wirulencji. Europejskie izolaty HPeV-1 podlegają rekombinacji średnio co 1–3 lata [42]. HPeV-3 rzadko wchodzi w kontakt z innymi parechowirusami w tej samej komórce, stąd ograniczona rekombinacja i mniejsze zróżnicowanie genetyczne w porównaniu z HPeV-1 [10, 40, 98].

Dowodem na udział rekombinacji w procesie ewolucji HPeV może być podobieństwo sekwencji w obrębie regionu 5'UTR z *Cardiovirus* i *Aphthovirus* [36]. Wskazuje się u HPeV dwa regiony: 5'UTR/P1 i P1/P2, w których rekombinacja zachodzi często [23]. Również na podstawie analiz regionów VP3/VP1 oraz 3Dpol zaobserwowano zjawisko rekombinacji u wielu typów HPeV [4, 5, 6]. Odnotowano także podobieństwo sekwencji w regionach P2 i P3 u HPeV-1 i HPeV-7 [20] oraz HPeV-3 i HPeV-4 [4]. Wykazano możliwość rekombinacji między HPeV-4, a typami 1, 2, 3 i 15 [8, 65], a także między HPeV-1, a typami 3 i 6 [5]. Wyizolowano szczepy HPeV-1 o sekwencjach podobnych do typów 6 i 7 w regionie niekodującym [98] oraz szczep HPeV-5, będący rekombinantem aż trzech typów 1, 3 i 4 [85]. Najwyższą częstość rekombinacji wykazano u szczepów HPeV-1B [22, 23].

Kanadyjskie badania dotyczące HPeV-1 pokazały, że izolaty z lat 1985–2004 różniły się znacząco od sekwencji prototypowej (dostępna na stronie <http://www.picornaviridae.com>) [42]. Duże podobieństwo do szczepu prototypowego Harris z 1956 roku wykazywały natomiast szczepy izolowane w Boliwii w latach 2002–2003 oraz w Indiach w latach 2006–2010 [65, 70], a także większość szczepów wykryta w Chinach w latach 2012–2013 [21, 22]. Na podstawie analizy sekwencji regionu VP1/VP3, genotyp 1 podzielono na dwa kłady 1A

(Harris-like), którego przedstawicielem jest szczep prototypowy i 1B [9]. Okazało się, że do kładu 1B należy przeważająca część współcześnie izolowanych HPeV-1, także izolaty kanadyjskie [8, 9, 20, 23, 98].

HPeV-2 jest blisko spokrewniony z typem 1. Podobieństwo sekwencji aminokwasowej szczepu prototypowego typu 2 do HPeV-1 określono na 87,9%; najczęściej różnic zaobserwowano w sekwencjach kodujących białka kapsydowe, a największą zgodność w regionie 3B [36]. Dla sekwencji prototypowej typu 3 wykazano 77,6% zgodności w sekwencji nukleotydowej i 86,8% w sekwencji aminokwasowej z typem 1 oraz odpowiednio 77,2% i 84,7% z typem 2 [45]. Typ 4 wykazywał największe podobieństwo sekwencji nukleotydowej z typem 2 (72,2%) [11], a typ 5 z typem 4 [4]. Typ 6 jest najbardziej spokrewniony z typem 1, natomiast podobieństwo sekwencji nukleotydowej i aminokwasowej do pozostałych znanych typów HPeV wynosi odpowiednio 76,7–79,5% i 85,9–90,7% [93]. Szczep prototypowy typu 7 jest najbardziej spokrewniony z typem 3 i jego podobieństwo do pozostałych szczepów prototypowych określono na 75,6–80,8% dla sekwencji nukleotydowej i 84,8–89,1% dla sekwencji aminokwasowej [54]. Typ 8 ma największą zgodność sekwencji aminokwasowej z typem 7 (76,3%), wykazano także jego bliskie pokrewieństwo z typami 1 i 6 [31]. Sekwencja prototypowa typu 10 była najbliższej spokrewniona z typem 3, wykazując 69,1% homologii w sekwencji nukleotydowej i 82,8% w sekwencji aminokwasowej [49]. Typ 11 wykazał największe podobieństwo nukleotydowe i aminokwasowe z typem 10 (odpowiednio 64,7% i 73,6%) [72]. Analizy pokazały bliskie pokrewieństwo sekwencji prototypowej HPeV-12 z typem 10 (80% w sekwencji nukleotydowej i 80,5% w aminokwasowej) [3], natomiast dla typu 17 określono zgodność sekwencji nukleotydowych ze szczepami prototypowymi pozostałych typów na 79–82% [15]. HPeV-17 z Tajlandii wykazał największe podobieństwo z typem 3 (74–78%) [25].

4. Przebieg zakażenia

Gospodarzem dla ludzkich parechowirusów jest człowiek, jednak istnieje duże prawdopodobieństwo, że niektóre ssaki mogą pełnić funkcję rezerwuaru tych patogenów. Poparciem tej tezy jest wykrycie HPeV w kale makaków (*Macaca sp.*) w Chinach [80] oraz świń domowych (*Sus scrofa domestica*) w Boliwii [65].

Parechowirusy szerzą się głównie drogą fekalno-oralną, rzadziej drogą kropelkową [42, 43, 75]. Podejrzewa się także transmisję HPeV przez łożysko, za czym przemawia występowanie zakażeń u noworodków w dwóch pierwszych dobach życia [79]. Wirusy wnikają do organizmu gospodarza przez jamę ustną i przedostają do naczyń limfatycznych górnej części

układu oddechowego lub/i do żołądka, a potem do jelit. Namnażają się w komórkach nabłonka błony śluzowej jamy ustnej oraz gardła i części nosowej gardła, a także w jelitach w tzw. kępkach Peyera [25, 27]. Zakażenie na tym etapie często przebiega bezobjawowo [42, 45, 75, 79]. U części osób zakażonych dochodzi do wirerii, wirusy zajmują liczne narządy (wątroba, serce, płuca), przenikają do skóry, błon śluzowych i kolejnych węzłów chłonnych, a czasem do układu nerwowego, co wiąże się z rozwinięciem ogólnoustrojowych objawów [27, 43]. Do ośrodkowego układu nerwowego wirus dostaje się drogą wstecznego transportu aksonalnego lub przekracza barierę krew-mózg [52]. Istnieje hipoteza, zgodnie z którą parechowirusowe zapalenie OUN nie jest wynikiem bezpośredniego zakażenia lecz następstwem zajęcia przez wirusa oponowych naczyń krwionośnych, w wyniku czego dochodzi do krwawień i zaburzeń przepływu krwi w mózgu [13].

Zakażenia parechowirusowe manifestują się zazwyczaj łagodnymi objawami ze strony układów pokarmowego i oddechowego. Do najczęściej wymienianych symptomów należą: biegunka, gorączka, wymioty, świszczący i przyspieszony oddech, bezdech, kaszel i katar [42, 72, 75, 83, 95, 97]. Badania ze Szwecji wykazały ponad dwukrotnie wyższy odsetek objawów jelitowych niż oddechowych w przebiegu zakażenia parechowirusami [40, 41].

Cieęższe w przebiegu są choroby układu nerwowego, wtedy pacjenci bezwzględnie wymagają hospitalizacji [75]. W przypadku zakażeń OUN najczęściej obserwuje się gorączkę, brak apetytu i nerwowość („red, hot and angry”) [16], objawy neurologiczne (drgawki, paraliż, osłabienie napięcia mięśniowego, osłabienie głębokich odruchów ścięgniowych, neuropatia kończyn), objawy ze strony układów oddechowego i pokarmowego, wysypkę [14, 32, 43, 48, 75, 93] oraz zespół podobny do sepsy tzw. „sepsis-like viral illness” [97]. Zakażenie OUN o etiologii parechowirusowej jest powiązane z wieloma jednostkami chorobowymi (Tab. I): zapaleniem opon mózgowych-rdzeniowych [13, 34, 51, 73, 93, 95], zapaleniem mózgu (ZM) [18, 24, 29, 51, 59, 61, 74], zapaleniem mózgu i rdzenia [52], ostrym porażeniem wiotkim (AFP) [3, 34, 54, 65, 81, 93], paraliżem przemijającym [45], sepsą noworodków [8, 14, 16, 18, 47, 53, 73, 84, 92, 95], zespołem Guillaina-Barrégo [55, 71] i zespołem Reye’a [43, 79, 93]. Znany jest przypadek z Niemiec wystąpienia ostrego rozsianego zapalenia mózgu i rdzenia (ADEM) u pięcioletniej dziewczynki w dwa tygodnie po parechowirusowym zapaleniu dróg oddechowych, podczas gdy dotychczas enterowirusy uważano za potencjalny czynnik tej choroby [67]. Ciężkie przypadki neurologicznych zakażeń parechowirusami mogą kończyć się śmiercią [35, 78].

Wieloogniskowe zmiany zaistniałe w OUN na skutek zakażenia parechowirusami są wielopostaciowe

i obejmują głównie istotę białą mózgu, gdzie może dochodzić do leukomalacji okołokomorowej i podkorowej, do rozrostu gleju oraz powstawania jam w tkance nerwowej. Często następstwem przebytej choroby są: padaczka, hipotonia, uszkodzenie wzroku, porażenie mózgowie, a także opóźnienie rozwoju [10, 32, 43, 75, 79]. Parechowirusowe zakażenie OUN manifestuje się podobnie do bakteryjnego jednak bez podwyższenia parametrów stanu zapalnego w płynie mózgowo-rdzeniowym (PMR) i krwi [91].

Sepsę w przebiegu zakażenia HPeV („sepsis-like viral illness”) Wolthers i wsp. zdefiniowali jako gorączkę lub hipotermię z objawami zaburzeń krążeniowo-oddechowych w postaci tachykardii i bradykardii oraz obniżonym ciśnieniem krwi i spadkiem saturacji, ale może ona przebiegać także z szerokim spektrum objawów oddechowych, jelitowych (z żółtaczką), i zagrażających życiu objawów neurologicznych [10, 43, 97]. Dodatkowo sepsie o etiologii HPeV może towarzyszyć wysypka grudkowo-plamista lub rumieniowata na dłoniach i stopach [32, 92, 97].

Z zakażeniami parechowirusowymi powiązane są jednostki chorobowe takie jak (Tab. I): martwicze zapalenie jelit [12, 56], zapalenie płuc [98], zapalenie ucha środkowego [14, 30, 87], zapalenie mięśnia sercowego i kardiomiopatie [58, 59, 96], zapalenie spojówek i naczyńówki oka [14, 28], zespół hemolityczno-mocznicy (HUS) [69], zapalenie węzłów chłonnych [7, 21, 93], zapalenie mięśni i bóle mięśni [60, 82, 93], limfocystiocytoza hemofagocytarna [39], zespół krwotocznego zapalenia wątroby (zapalenie wątroby z koagulopatią) [53], zespół TORCH (zespół objawów spowodowany zakażeniem wrodzonym; nazwa jest akronimem oznaczającym: T – toksoplazmoza, O – inne (Others), R – różyczka, C – cytomegalia, H – Herpes) [43]. Odnotowano przypadki zespołu nagłej śmierci niemowląt powiązane z zakażeniem HPeV [78]. Kolehmainen nie wykluczył HPeV jako czynnika ryzyka rozwoju cukrzycy typu 1 związanego z pcią [32].

Zauważono, że określone typy wirusa preferencyjnie częściej wywołują pewne jednostki chorobowe. Typ 1 jest związany z zakażeniami jelitowymi bardziej niż typ 3 [90, 95]. Choroby OUN powodują głównie typy 1, 3 i 6 [48, 75], ale w przypadkach porażen również wykrywano obecność typów 2, 4, 5, 7, 9 i 12. Z zespołem Reye’a łączy się typy 1, 5 i 6 [43, 79, 93]. W zakażeniach oddechowych natomiast, najczęściej wykrywanymi typami są HPeV-1 i HPeV-6 [23, 41]. Nowo odkryte typy przeważnie wywołują łagodne objawy ze strony układu oddechowego i pokarmowego [10].

Objawy zakażeń parechowirusami są niespecyficzne, dlatego często ze względu na podobieństwo obrazu klinicznego przypisuje się im etiologię enterowirusową [52, 68, 75], rozróżnienie możliwe jest dopiero po zastosowaniu metod diagnostycznych [43]. Wg holenderskiego

Tabela I
Typy HPeV i powiązane z nimi jednostki chorobowe

Typy HPeV	Jednostki chorobowe /objawy	Typy HPeV	Jednostki chorobowe /objawy
HPeV-1	biegunka [21, 23, 25, 37, 72, 76, 94] ostre zapalenie jelit [5] martwicze zapalenie jelit [12, 56] zapalenie żołądka i jelit [8, 21, 22, 31, 38, 40, 41, 49, 56, 70, 72, 74, 93, 95] zakażenia górnych dróg oddechowych [8, 38, 40, 41, 56, 93] zapalenie oskrzeli [93] zapalenie płuc [98] AFP (ostre porażenie wiotkie) [34, 54, 65] zespół Guillaina-Barrégo [55] zespół Reye'a [79] ZOMR (zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych) [34, 51] ZM (zapalenie mózgu) [51, 74] zapalenie mózgu i rdzenia [52] padaczka [48] sepsa [8, 47] zachorowania grypopodobne [23] zapalenie naczyńówki oka [28] zapalenie ucha środkowego [87] HUS (zespół hemolityczno-mocznicowy) [69] zapalenie mięśnia sercowego/kardiomiopatia [58, 96]	HPeV-4	gorączka [11] biegunka [23, 37] zapalenie żołądka i jelit [21, 22, 23, 37, 38, 49, 70, 72, 74] sepsa [47] zachorowania grypopodobne [23] zapalenie węzłów chłonnych [7, 21, 93] zespół TORCH (zespół objawów spowodowany zakażeniem wrodzonym) [43] AFP [65]
HPeV-2	biegunka [23, 37, 94] zapalenie żołądka i jelit [70] zapalenie naczyńówki oka [28] AFP [65]	HPeV-5	gorączka [18, 68] biegunka [21, 23, 37, 72] zapalenie żołądka i jelit [21, 22, 31, 61, 70, 72, 85] AFP [54] zespół Reye'a [43]
HPeV-3	gorączka [18] biegunka [21, 23, 35, 72] zapalenie żołądka i jelit [21, 22, 61, 62, 70, 72] zespół krwotocznego zapalenia wątroby [53] zakażenia oddechowe [19, 41, 93] AFP [65, 81] paraliż przemijający [45] porażenie nerwu twarzowego [61] ZOMR [13, 35, 73, 93, 95] ZM [18, 24, 29, 59] sepsa [8, 14, 16, 18, 40, 46, 47, 53, 73, 84, 90, 92, 95] zachorowania grypopodobne [93] zapalenie ucha środkowego [14] zapalenie spojówek i naczyńówki oka [14, 28] wysypka [14, 48, 93] zapalenie mięśni/bóle mięśni [60, 82, 93] limfohistiocytoza hemofagocytarna (HLH) [39] zespół nagłej śmierci niemowląt (SIDS) [78] zapalenie mięśnia sercowego [59] niedoczynność tarczycy [29]	HPeV-6	gorączka [30] biegunka [21, 23] zapalenie żołądka i jelit [5, 21, 22, 70, 93] zakażenia górnych dróg oddechowych [41] AFP [54, 93] zespół Reye'a [93] zespół Guillaina-Barrégo [71] zachorowania grypopodobne [23] zapalenie ucha środkowego [30] wysypka [93]
		HPeV-7	biegunka [37] AFP [54, 65]
		HPeV-8	biegunka [37] zapalenie żołądka i jelit [22, 31, 70] ZM [61]
		HPeV-9	biegunka [37] AFP [65]
		HPeV-10	biegunka [61] zapalenie żołądka i jelit [2, 49, 61, 70, 72] zachorowania grypopodobne [23]
		HPeV-11	zapalenie żołądka i jelit, biegunka [70, 72]
		HPeV-12	zapalenie żołądka i jelit, biegunka [3] AFP [3, 65]
		HPeV-13	zapalenie żołądka i jelit [2, 70]
		HPeV-14	biegunka [21, 23, 25, 37] zapalenie żołądka i jelit [9, 21, 22, 70] gorączka [2]
		HPeV-15	zapalenie żołądka i jelit, biegunka [2]
		HPeV-16	zapalenie jelit [70]
		HPeV-17	biegunka [37] zapalenie jelit [25]
		HPeV-18	biegunka [37]
		HPeV-19	-

badania parechowirusy związane są z niższą częstością zachorowań na zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych oraz wyższą częstością zakażeń jelitowych i oddechowych w porównaniu z enterowirusami [79].

Parechowirusy namnażają się w komórkach gospodarza jeszcze po ustąpieniu objawów chorobowych. Izolowane są z wymazów z górnych dróg oddechowych

do 3 tygodni po wystąpieniu objawów [41], z kału przez okres kilku tygodni do 5 miesięcy (średnio 51 dni) [32, 84, 86]. Osiągają wysokie miana w kale [75], a długi okres wydalania przekłada się na szeroką transmisję HPeV. Wirusy przedostają się do środowiska wraz z kałem, wielokrotnie wykrywano je w wodach powierzchniowych [57] i w ściekach [88].

5. Typy HPeV na świecie

Zakażenia wywoływane przez HPeV odnotowywane są na całym świecie, ale występowanie poszczególnych typów ogranicza się do pewnych regionów geograficznych i przedziałów czasowych (Tab. II).

Zakażenia powodowane typem 1 występują na całym świecie, najczęściej są bezobjawowe lub przebie-

gają łagodnie w postaci dolegliwości żołądkowo-jelitowych oraz chorób układu oddechowego [8, 41, 95, 98] z towarzyszącymi objawami grypopodobnymi [23]. Typ ten jest odpowiedzialny za zachorowania na zapalenie płuc i zapalenie oskrzeli (Chiny, Japonia) [93, 98]. Był izolowany z przypadków zapalenia jelit i zakażeń oddechowych w Japonii [93], Korei Południowej [38], Wielkiej Brytanii [40] i Chorwacji [56]. Ponadto wykrywano

Tabela II
Występowanie poszczególnych typów HPeV na świecie

	1950–1969	1970–1979	1980–1989	1990–1999	2000–2009	2010–2019
Afryka						
Ghana					1, 2, 4, 5, 7–9, 14, 17, 18	
Wybrzeże Kości Słoniowej						17
Ameryki Pd. i Płd.						
Boliwia					1–4, 7, 9, 12	
Brazylia					1, 5, 6, 8	1, 5, 6
Jamajka			1			
Kanada			1		3	1, 3
USA	1, 2	4	1, 2, 4, 5	1, 2, 5	1–7, 9–14	1, 3
Australia i Oceania						
Australia						3
Nowa Zelandia						3
Azja						
Bahrain					1	
Chiny						1, 3–6, 8, 14
Indie					1–8, 10, 11, 14, 16	1–8, 10, 11, 14, 16
Izrael				1		4
Japonia				3	1, 3, 4, 6	1, 3
Korea Pd.					1, 4	1, 4
Pakistan					1, 3, 5–7, 10, 13, 15	12
Sri Lanka					1, 3–5, 10, 11	
Tajlandia					1–6, 10, 14	1–6, 10, 14, 17
Tajwan					3	1
Europa						
Austria						3
Belgia						3
Bułgaria						3, 5, 8, 10
Chorwacja					1	
Dania					1, 3–6	1, 3–6
Finlandia			1	1	1	1
Francja					1	1, 3, 4
Hiszpania						3, 5
Holandia					1–6, 14	1, 3, 4
Niemcy					1, 3, 6	1, 3, 6
Norwegia					1–3, 6	
Szwecja				1	1–4, 6	
Węgry				1, 4	1, 4	
Wielka Brytania					1, 3, 6	3
Włochy						3, 6

go u pacjentów z zakażeniami układu pokarmowego w wielu odległych miejscach na świecie (Holandia, Węgry, Niemcy, Tajlandia, Chiny, Indie, Brazylia, Sri Lanka, Ghana) [5, 8, 21–23, 25, 31, 37, 49, 70, 72, 74, 76, 95], w tym w martwiczym zapaleniu jelit (Izrael, Chorwacja) [12, 56]. Bywał też wykrywany w ciężkich zakażeniach ośrodkowego układu nerwowego: np. zapaleniu mózgu i zapaleniu opon mózgowo-rdzeniowych (Finlandia, Węgry, Jamajka) [34, 51, 74], zapaleniu mózgu i rdzenia (Zatoka Perska) [52], ostrym porażeniu wiotkim (Pakistan, Boliwia, Jamajka) [34, 54, 65], padaczkę (Niemcy) [48] oraz sepsie (Holandia, Francja) [8, 47]. Niektóre zakażenia były powiązane z zespołem Guillaina-Barrégo [55], zespołem Reye'a [79], zapaleniem naczyniówki oka [28], zapaleniem mięśnia sercowego i kardiomiopatią [58, 96], zapaleniem ucha środkowego [87], zespołem HUS [69].

Typ 2 wykrywany jest rzadko, a najczęściej związany jest z łagodnymi zakażeniami układu pokarmowego i oddechowego [6, 68, 90]. Był identyfikowany u osób z AFP w Boliwii [65], zapaleniem naczyniówki oka w Holandii [28], izolowano go także z przypadków biegunek i zapalenia jelit w Ghanie, Indiach i Tajlandii [23, 37, 70], jak również u zdrowych dzieci w Norwegii [86].

Typ 3 jest drugim po HPeV-1 typem parechowirusów pod względem częstości wykrywania [10, 46]. Po raz pierwszy wyizolowano go w Japonii w 1999 roku z kału rocznego dziecka z przemijającym paraliżem [45]. W 2001 roku został wykryty w Kanadzie u noworodków z sepsą [14]. Wykrywano go także w Europie (Bułgaria, Dania, Holandia, Wielka Brytania, Francja, Włochy, Hiszpania, Austria, Niemcy) oraz innych częściach świata (USA, Australia, Tajwan, Japonia) u pacjentów z sepsą oraz zakażeniami OUN [1, 8, 9, 13, 14, 16, 18, 19, 35, 40, 46, 47, 48, 53, 61, 73, 84, 90–93, 95]. Typ 3 został powiązany z przypadkami AFP w Pakistanie [81] i Boliwii [65]. Izolowano go także od pacjentów z zakażeniami pokarmowymi (Sri Lanka, Chiny, Indie, Nowa Zelandia, Tajlandia) [21–23, 62, 70, 72] oraz zakażeniami układu oddechowego (Tajwan, Wielka Brytania, Japonia) [19, 41, 93]. Uważny jest za czynnik ryzyka wystąpienia syndromu nagłej śmierci niemowląt (SIDS) [78]. W Japonii zaobserwowano związek zakażeń typem 3 z limfocytocytosą hemofagocytarną (HLH) [39], a w USA z zapaleniem wątroby z koagulopatią [53]. HPeV-3 wykryto u pacjentów z zapaleniem ucha środkowego i zapaleniem spojówek [14], zapaleniem naczyniówki oka (Holandia) [28], zapaleniem mięśni, mialgią oraz zapaleniem mięśnia sercowego (USA, Japonia) [59, 60, 82, 93], ale również u zdrowych dzieci w Norwegii [86], a także pacjentów z gorączką w Hiszpanii [18] oraz w Szwecji [63].

Typ 4 parechowirusów krąży od lat siedemdziesiątych ubiegłego wieku [4], jednak został opisany dopiero w 2006 roku w Holandii po wykryciu w kale gorączku-

jącego noworodka [11]. W przypadku zakażenia tym typem obserwuje się szerokie spektrum objawów od grypopodobnych zachorowań (Tajlandia) [23], biegunki i zapaleń jelit (Tajlandia, Indie, Ghana, Korea Południowa, Chiny, Węgry, Sri Lanka) [21–23, 37, 38, 49, 70, 72, 74], po AFP i sepsę (Boliwia, Francja) [47, 65]. Zakażenie HPeV-4 powiązano z zespołem TORCH [43] oraz zapaleniem węzłów chłonnych (Japonia) [7, 21, 93].

Szczep prototypowy HPeV-5 wyizolowano w USA w 1986 roku z kału 2-letniego dziecka z gorączką zaliczając go na podstawie badań serologicznych do EV [4, 68]. Obecność typu 5 oznaczono u pacjentów z AFP w Pakistanie [54] oraz zespołem Reye'a w USA [43]. Wykrywano go w przypadkach zakażeń pokarmowych w Tajlandii, Indiach, Ghanie, Brazylii, Chinach i na Sri Lance [21–23, 31, 37, 70, 72, 85]. Podobne objawowo zachorowania były opisywane w Europie m.in. w Holandii [9, 30], Hiszpanii [18], Bułgarii [61] i Danii [35].

HPeV-6 po raz pierwszy został wyizolowany z płynu mózgowo-rdzeniowego rocznego dziecka z zespołem Reye'a w Japonii w 2000 roku [93]. Jest drugim typem, po HPeV-1, najczęściej wywołującym zakażenia układu oddechowego (Wielka Brytania) [41], był wykrywany u pacjentów z objawami grypopodobnymi (Tajlandia) [23], oraz zapaleniem ucha środkowego (Holandia) [30]. W przebiegu zakażenia obserwuje się przede wszystkim zapalenie jelit, biegunkę [5, 21–23, 70, 93] i wysypkę [93]. Ale HPeV-6 może także wywoływać zakażenia OUN (Holandia) [7], w tym ostre porażenie wiotkie (Pakistan, Japonia) [54, 93] oraz zespół Guillaina-Barrégo (Włochy) [71].

Najczęściej wykrywane są typy od HPeV-1 do HPeV-6 i dlatego uważa się je za najistotniejsze w diagnostyce przypadków klinicznych, pozostałe genotypy są rzadko izolowane.

HPeV-7 wykryto w 2009 roku w kale zdrowego pakistańskiego dziecka mającego kontakt z osobą dotkniętą AFP [54], podobne przypadki związku z AFP obserwowano w Boliwii [65]. HPeV-7 izolowano też u pacjentów z biegunką w Ghanie [37], w USA [64] i Indiach [70].

HPeV-8 wykryto w kale dzieci z zapaleniem jelit w Brazylii w 2009 roku [31]. W Europie HPeV-8 po raz pierwszy wyizolowano w 2011 roku od niespełna rocznego dziecka z zapaleniem mózgu w Bułgarii [61]. Typ ósmy wykryto także w kale dzieci z zapaleniem układu pokarmowego w Ghanie [37], Indiach [70] i Chinach [22].

Szczepy referencyjne stosunkowo niedawno odkrytych typów, od HPeV-9 do HPeV-19 opisali: Nix (2013), Böttcher (2017), Benschop (2008) i Graul (2017) [99]. Typ 9 wykryto u pacjentów z AFP w Boliwii [65] oraz biegunką w Ghanie [37]. Typ 10 izolowano od chorych z objawami grypopodobnymi w Tajlandii [23], od pacjentów z AFP w Boliwii [64], oraz od pacjen-

tów z zapaleniem jelit i biegunką (Bułgaria, Pakistan, Indie, Sri Lanka) [2, 49, 61, 70, 72]. Podobnie typ 11 wykryto u chorych na zapalenie jelit na Sri Lance [49, 72] i w Indiach [70].

W 2012 roku doniesiono o odkryciu kolejnego typu HPeV. HPeV-12 wykryto w Pakistanie u półtorarocznego dziecka z zapaleniem jelit i AFP [3], później był także izolowany od dziecka z kontaktu AFP w Boliwii [65]. Typy 13 i 15 wykrywano u pacjentów z zapaleniem jelit w Pakistanie [2] oraz Indiach [70]. HPeV-14 identyfikowano w materiale od pacjentów z biegunką i zapaleniem jelit w Holandii, Chinach, Ghanie, Indiach i Tajlandii [9, 21, 22, 23, 25, 37, 70], a także z gorączką w Pakistanie [2]. HPeV-16 wykrywano u pacjentów z zapaleniem jelit w Indiach [70]. Podobnie typ 17 identyfikowano u pacjentów z zapaleniem jelit i biegunką w Tajlandii [25] oraz w Ghanie [37], a także u zdrowego dziecka z Wybrzeża Kości Słoniowej [15]. HPeV-18 wykrywano w kale pacjentów z biegunką w Ghanie [37].

HPeV-1 jest najczęściej wykrywanym typem parechowirusów na świecie, co potwierdzają liczne europejskie i azjatyckie badania, drugim pod względem częstości detekcji jest HPeV-3, a kolejne to HPeV-4, 5 i 6 [5, 6, 8–10, 22, 30, 45, 46, 86, 93]. Zdarzają się wyjątki, kiedy typ 3 jest identyfikowany z częstością dorównującą typowi 1 [30, 93] lub częściej np. w Amsterdamie [9]. W Danii HPeV-3 wykrywano pięciokrotnie częściej niż HPeV-1 [35]. W USA w latach 1983–2005 dominujący typem był HPeV-2 [23], natomiast w latach 2009–2013 HPeV-3 [1].

Zakażenia parechowirusowe odnotowuje się na całym świecie. Obserwowane różnice w krążeniu poszczególnych typów są natury geograficznej, również sezonowość zachorowań jest związana z szerokością geograficzną. Na przykład w Ghanie, w kraju położonym w klimacie podrównikowym, nie obserwowano różnic w częstości zachorowań w zależności od pory roku [37]. W klimacie umiarkowanym zachorowania o etiologii parechowirusowej pokrywają się z enterowirusowym wzorem (lato i jesień do wczesnej zimy) [6, 21–23, 35, 41, 43, 75, 79, 83, 86]. Z najwyższą częstością parechowirusy wykrywane są jesienią i zimą [6, 8–10, 72, 90, 93, 95], rzadziej wiosną [52, 83] lub latem [33, 52]. W Europie HPeV-3 wykrywany był wiosną [18, 90], latem [8, 10, 18, 46, 90, 95] i jesienią [18, 92, 95]. Często obserwuje się krążenie więcej niż jednego genotypu HPeV w danym regionie [2, 5, 45, 72, 75, 86].

Parechowirusy wywołujące zakażenia OUN pojawiają się co 2–3 lata [10]. Uważa się, że HPeV-3 wykazuje w Europie cykl dwuletni, począwszy od 1988 r. [6, 8, 9, 40, 42, 46, 90, 91, 97], czego nie potwierdzają jednak niektóre badania europejskie oraz japońskie [45, 73, 92, 95]. W Danii typ 3 wykrywano co roku w badanym okresie (2009–2012), co sugeruje endemiczne krążenie wirusa [35]. Natomiast w Ameryce

Północnej i Australii pojawia się on w latach nieparzystych, głównie w miesiącach letnich [10, 16, 95]. W Azji zaobserwowano krążenie „przerywane” typu 3, charakteryzujące niektóre enterowirusy (E9 i E30) [10, 93].

6. Diagnostyka

Diagnostyka zakażeń parechowirusowych, podobnie jak enterowirusowych, opiera się na izolacji wirusów w hodowli komórek wrażliwych i/lub na wykrywaniu materiału genetycznego wirusa (RNA) w badanym materiale metodami biologii molekularnej. Rozpoznanie na podstawie samych objawów klinicznych nie jest możliwe [32]. W diagnostyce w kierunku HPeV stosuje się różne rodzaje materiału klinicznego: kał, płyn mózgowo-rdzeniowy (PMR), surowicę, osocze, wymazy z gardła i nosogardła, biopsje, popłuczyny oskrzelowo-pęcherzykowe (BALF) [79]. W przypadku zapaleń OUN najlepszym materiałem diagnostycznym jest PMR, w którym detekcja HPeV jednoznacznie potwierdza etiologię zakażenia. W przypadku neuroinfekcji identyfikacja wirusa w kale i/lub wymazie z gardła jest bardzo pomocna w diagnostyce, ale nie identyfikuje jednoznacznie przyczyny choroby [5, 9, 63, 86]. W zakażeniach pokarmowych i oddechowych odpowiednimi materiałami są kał oraz wymaz z gardła, natomiast obecność wirusa w tych materiałach nie potwierdza ostatecznie etiologii zakażenia [75]. Kał i wymaz są najlepszymi materiałami diagnostycznymi bez względu na charakter objawów klinicznych, gdyż osoby zakażone wydalają z kałem i wydzielinami układu oddechowego duże ilości wirusa jeszcze długi czas po ustąpieniu objawów [10, 41]. Typ 1 najczęściej wykrywany jest w kale, a typ 3 w PMR, wyjątkowo w Chinach wykryto HPeV-1 w 90% próbek PMR od pacjentów z parechowirusowym zakażeniem OUN [46, 79].

Parechowirusy są izolowane w liniach komórek wrażliwych na zakażenie, wśród których optymalna jest linia komórek nabłonkowych nerki małpy *Chlorocebus aethiops* – Vero; umożliwia ona namnażanie wielu istotnych diagnostycznie typów HPeV (m.in. 1, 3, 4, 6) [6, 10, 14, 20, 45, 93, 98]. Pozostałe linie mające znaczenie w diagnostyce HPeV to: HT29 (ludzkie komórki raka jelita grubego) [6, 10], A549 (ludzkie komórki raka płuc) [6, 20], tMK (komórki nerki małpy *Cynomolgus*) [6, 30], LLCMK2 (komórki nerki małpy *Rhesus*) [10], T84 (ludzkie komórki raka okrężnicy) [20], DBTRG-5MG (ludzkie komórki glejaka) [20] oraz powszechnie stosowane w diagnostyce zakażeń w kierunku EV: RD (ludzkie komórki mięsako-mięśniaka) [6] i L20B (mysie fibroblasty z receptorem dla wirusa polio) [3].

Podobnie jak w przypadku enterowirusów, żadna linia komórkowa nie umożliwia izolacji wszystkich

typów HPeV, ponadto różne typy parechowirusów mają niejednakową zdolność do namnażania się w poszczególnych liniach komórkowych [10]. Dlatego, podobnie jak w przypadku diagnostyki EV, stosuje się kilka różnych linii komórkowych, choć nie gwarantuje to izolacji wszystkich typów HPeV obecnych w badanym materiale.

Obserwacja hodowli zakażonych komórek trwa od kilku do kilkunastu dni [14], a efekt cytopatyczny (CPE) świadczący o obecności wirusa w materiale jest podobny do tego, jaki wywołują EV [6, 75]. Uzyskane izolaty są następnie serotypowane (metody serologiczne) lub genotypowane (metody molekularne) w celu identyfikacji typu wirusa. Metody serologiczne są rzadko stosowane ze względu na ograniczoną dostępność surowic poliklonalnych (dostępne tylko dla HPeV-1 i HPeV-2) [4, 10, 42, 79]. Tradycyjna metoda izolacji wirusów w hodowlach komórkowych znajduje zastosowanie w badaniach epidemiologicznych, gdyż dostarcza danych o typach krążących w populacji, a także pozwala na monitorowanie dominujących typów klinicznych i środowiskowych [42]. Metoda ta ma liczne ograniczenia, niekiedy kilkunastodniowa obserwacja bardzo wydłuża czas oczekiwania na wynik, dlatego izolacja HPeV w hodowlach komórkowych nie ma wartości z punktu widzenia szybkiej diagnostyki (zakażenia OUN, sepsy). Niska czułość izolacji w hodowlach komórkowych związana z niskim mianem wirusa w niektórych rodzajach materiału klinicznego (np. PMR) lub niezdolnością pewnych typów wirusa do namnażania się w niektórych liniach komórkowych mogą skutkować wynikiem fałszywie ujemnym [10]. Często napotyka się trudności z izolacją typów od 7 do 19 [10]. Dziś metoda izolacji w liniach komórkowych wykorzystywana jest do namnożenia wirusów z wyselekcjonowanych materiałów dodatnich w reakcji PCR, które następnie są typowane. Metody serologiczne znajdują zastosowanie w „późnej diagnostyce” polegającej na wykryciu przeciwciał pojawiających się w odpowiedzi na przebyte zakażenie [10, 14].

Coraz częściej w diagnostyce zakażeń HPeV stosuje się metody biologii molekularnej. Polegają one na wykryciu RNA wirusów w badanym materiale klinicznym. Największą czułość uzyskuje się badając kał [91], ale w przypadku neuroinfekcji, dla potwierdzenia etiologii zakażenia, niezbędne jest zbadanie PMR. Metody biologii molekularnej pozwalają także na identyfikację nowych typów. Ze względu na to, że materiałem genetycznym parechowirusów jest RNA, diagnostyczne metody molekularne oparte są na reakcji PCR z odwrotną transkrypcją (RT-PCR). Najczęściej amplifikacji podlega wysoko konserwatywny region 5'UTR. Technika PCR jest obecnie złotym standardem w diagnostyce zakażeń parechowirusowych umożliwiającym identyfikację wszystkich typów HPeV [6, 27,

42]. Wymaga ona innych starterów niż reakcja identyfikująca EV, gdyż sekwencje regionów 5'UTR obydwu rodzajów bardzo różnią się od siebie [68]. Pierwsze testy oparte na RT-PCR wykrywały wyłącznie typy 1 i 2, z czasem ustalano metody PCR dla kolejnych typów [7, 27, 40, 41, 63]. Liczne badania dowodzą, że molekularna diagnostyka HPeV jest szybsza, prostsza i czulsza niż izolacja w liniach komórkowych [10].

Obecnie w celach diagnostycznych stosuje się różne odmiany RT-PCR. Techniki multiplex – PCR o wysokiej swoistości i czułości znalazły zastosowanie w diagnostyce różnicującej np. zakażenia HPeV/EV. Tego typu reakcje mogą identyfikować nawet kilkanaście patogenów w jednej próbce, pozwalają na szybką diagnostykę zakażeń OUN i sepsy, co może się przyczynić do skrócenia czasu hospitalizacji i szybkiego wdrożenia leczenia [17]. Reakcja multiplex sprawdza się w diagnostyce materiałów o niskim mianie wirusa (np. PMR) i pozwala na wykrycie najpowszechniejszych typów HPeV (1–6) [7, 10]. Real-time RT-PCR ogranicza ryzyko reakcji nieswoistych w porównaniu z typowym RT-PCR [7, 63], z powodzeniem stosowana jest do szybkiej diagnostyki przy jednoczesnym wykrywaniu EV i HPeV w materiale klinicznym [18, 92]. Ustalono wiele reakcji wykrywających HPeV dostosowując ich wydajność do badanego materiału np. kału, PMR, krwi czy wymazu [9, 86]. Technika real-time RT-PCR jest metodą czulszą od izolacji w liniach komórkowych nawet tysiąckrotnie [5, 63]. Z kolei nested PCR polega na dwuetapowej amplifikacji regionu VP3/VP1 i pozwala ograniczyć ryzyko powielenia niespecyficznego fragmentu materiału genetycznego. Jest to metoda odpowiednia dla diagnostyki zakażeń OUN, która usprawniła typowanie HPeV z PMR [40, 92]. Użyteczna jest także w epidemiologii molekularnej w badaniach rozmieszczenia geograficznego genotypów oraz do identyfikacji nowych typów HPeV [40, 41].

Nowa metoda diagnostyczna VIDISCA polega na wykorzystaniu cDNA-AFLP czyli polimorfizmu długości amplifikowanych fragmentów cDNA i pozwala na szybsze wykrycie RNA lub DNA wirusów namnożonych w liniach komórkowych, służy do identyfikacji typów, gdy zawodzi klasyczna technika PCR (np. HPeV-5) [30, 81].

Typowanie HPeV przebiega również z zastosowaniem metod molekularnych. Genotypowanie wykorzystuje technikę PCR polegającą na amplifikacji oraz sekwencjonowaniu wysoko zmiennego regionu kodującego białko VP1 [6, 40, 43, 64, 75]. W ostatnich latach popularna staje się metoda bezpośredniego genotypowania (direct genotyping) umożliwiająca identyfikację typu bezpośrednio z materiału klinicznego, co pozwala uniknąć trudnej izolacji wirusa w liniach komórkowych np. z PMR, wykonana z kału umożliwia detekcję HPeV z jeszcze większą czułością [6, 9, 10, 40].

7. Patogeneza

Wiek jest głównym czynnikiem ryzyka zakażenia parechowirusami oraz rozwinięcia ciężkiej postaci choroby. Na zachorowanie szczególnie narażone są dzieci w wieku od 6 miesięcy do 5 lat. Wśród osób zakażonych parechowirusami to właśnie małe dzieci stanowią przeważający odsetek (ok. 90%), a znaczna ich część ma mniej niż rok [1, 35, 83]. Chorują głównie chłopcy, choć zależność ta przeważnie nie jest istotna statystycznie. Wśród zarejestrowanych w USA, w latach 1970–2005, przypadków zakażeń parechowirusem 1 i 2 dzieci poniżej 1 roku stanowiły odpowiednio 73% i 68%, natomiast dzieci do 5 lat odpowiednio 95% i 88% [10, 43, 75]. Badania poziomu przeciwciał anty-HPeV w Norwegii pokazały, że zakażenia parechowirusami przeżyło 43% dzieci do 1 r.ż., 86% do 2 r.ż. i 94% dzieci do 3 r.ż. [86]. Szacuje się, że ponad 90% dzieci do lat 2 było zakażonych przynajmniej jednym typem HPeV [27, 43]. W Chinach, wśród pacjentów z zapaleniem jelit o etiologii parechowirusowej, dzieci do 2 roku życia stanowiły 97,7% [21].

Niemowlęta są szczególnie narażone na zakażenia parechowirusami, ponieważ mają niedojrzały układ odpornościowy [42]. W przypadku dzieci do 6 miesiąca życia ochronę zapewniają przeciwciała matczyne, których poziom po 6 miesiącu życia raptownie spada [10]. Wraz z wiekiem rośnie liczba osób posiadających odporność i przeciwciała anty-HPeV. Niski poziom przeciwciał u małych dzieci przekłada się na wysoką zachorowalność. Badania seroprewalencji w Finlandii z lat 1998 i 2007 wykazały, że przeciwciała anty-HPeV-1 posiadało aż 95% noworodków [42, 83], a tylko 20–30% dzieci w wieku 2–12 miesięcy, natomiast seroprewalencja znacząco rośnie w przedziale wiekowym 1–2 lata (89%), osiągając poziom 98% u dzieci do 3 r.ż. [42, 45, 79, 86]. W badaniu norweskim przeciwciała anty-HPeV-1 miało dwa razy więcej dzieci w wieku do 1 r.ż. (43%) w porównaniu z dziećmi z Finlandii, w pozostałych grupach wiekowych uzyskano wyniki na podobnym poziomie [86]. Szacuje się, że przeciwciała anty-HPeV ma 92–99% populacji dorosłych [10, 42, 83, 95].

Kwestia ochrony przed typem 3 wygląda inaczej niż przed pozostałymi typami HPeV. Przeciwciała anty-HPeV-3 ma tylko 15% dzieci do 1 r.ż., 45% w przedziale 2–3 lata, 85% w wieku 4–6 lat i 90% w grupie nastolatków. W drugiej i trzeciej dekadzie życia odsetek osób posiadających przeciwciała spada i co ciekawe, wśród kobiet w wieku rozrodczym w Japonii (20–39 lat) wykazano niższy poziom przeciwciał anty-HPeV-3 (57–74%) w porównaniu z grupą standardową [45]. W Finlandii i Holandii odpowiednio tylko 10% i 13% osób badanych miała przeciwciała przeciw typowi 3 [13, 79, 95]. Niski poziom przeciwciał dla typu 3 u dorosłych może przekładać się na niski poziom przeciw-

ciał matczynych, a co za tym idzie na mało skuteczną ochronę niemowląt we wczesnych miesiącach życia. Może to tłumaczyć ciężki przebieg zakażenia typem 3 w porównaniu z HPeV-1 [10, 32, 42, 43, 95].

Obserwuje się wyraźne zróżnicowanie w wieku dzieci zakażonych poszczególnymi typami HPeV. Średni wiek dzieci zakażonych typem 1 to ok. 6 miesięcy, podczas gdy dla typu 3 średnia to 1–2 miesiące [8, 35, 42, 46, 90]. Ciężkie zakażenia parechowirusowe (OUN, oddechowe) często powodowane typem 3, niemal wyłącznie ograniczając się do niemowląt do 3 miesiąca życia [9, 10, 13, 40, 41, 47, 73, 75, 84, 91, 92]. W 2016 roku w Wielkiej Brytanii wśród dzieci z ciężkimi parechowirusowymi zakażeniami 92% stanowiły niemowlęta do 3 miesiąca życia, z czego aż 43% to były noworodki [33]. W Szwajcarii natomiast 66% dzieci zakażonych HPeV miało poniżej 3 miesięcy [26]. W Hiszpanii, u noworodków z gorączką bez przyczyny (FWS), sepsą i zapaleniem mózgu izolowano typy 3 i 5 [18].

W porównaniu z enterowirusami, parechowirusy są rzadko wykrywane u starszych dzieci i dorosłych, przeważnie stanowią znikomy odsetek wśród osób badanych (kilka procent) [10, 23]. Wyjątkowo w latach 2008 i 2014 w Japonii obserwowano zapalenie mięśni i bóle mięśniowe u dorosłych o etiologii HPeV [32, 60], podobny przypadek stanowiła kobieta ciężarna z bólem i osłabieniem mięśni, u której wykryto HPeV-3 [82]. W Holandii parechowirusy wykryto u dorosłych z zapaleniem naczyń oka [28], natomiast w Tajlandii u dorosłych z zapaleniem jelit [76]. Znane są przypadki zapalenia mięśnia sercowego u 16-latki w USA oraz 26-letniego mężczyzny z Australii [50, 59]. Opisano także zachorowanie dorosłej osoby na zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych i mózgu w Australii [24].

Współzakażenia mogą mieć wpływ na przebieg chorób o etiologii parechowirusowej. W zakażeniach układu oddechowego nawet u 2/3 pacjentów stwierdzono koinfekcję HPeV z przynajmniej jednym wirusem oddechowym np. adenowirusem i wirusem RS (RSV, *respiratory syncytial virus*) [32, 41]. Na Sri Lance, 67% zapaleń jelit była spowodowana zakażeniem mieszanym HPeV z wirusami wywołującymi biegunki (rotawirusy, norowirusy i adenowirusy) [72]. Podobnie, w Chinach u połowy osób chorujących na zapalenie jelit obok parechowirusów zidentyfikowano inne wirusy biegunkowe (rotawirusy, norowirusy, adenowirusy, astrowirusy, sapowirusy), wśród których najpowszechniejszym patogenem były rotawirusy [21, 22]. Koinfekcje z norowirusami i enterowirusami zaobserwowano w przypadkach biegunek w Tajlandii [25] i Ghanie [37], w Holandii zakażenia mieszane HPeV z EV stanowiły od 1% do 3% badanych przypadków [6, 9].

W norweskim badaniu, u 11% dzieci wykryto HPeV, niezależnie od objawów [42, 86]. Podobny wynik (11,6%) otrzymano w Niemczech wśród dzieci

z objawami chorobowymi i nie różnił się on znacząco od wyniku w grupie dzieci zdrowych. Co interesujące w materiale od zdrowego dziecka oznaczono jedno z najwyższych mian wirusa. W niemieckim badaniu nie zaobserwowano istotnego związku między HPeV, a zachorowaniami na zapalenie jelit [5], nie znaleziono także korelacji między mianem wirusa, a natężeniem objawów chorobowych [95]. Powyższe obserwacje pozwalają sądzić, że przebieg choroby zależy od dodatkowych czynników.

Sugerowany jest udział receptorów TLR7 i TLR8 w patogenezie zapalenia mózgu i uszkodzeń istoty białej w odpowiedzi na zakażenie HPeV [10, 27, 32]. TLR to białka transbłonowe, które po związaniu specyficznych antygenów indukują wydzielanie cytokin prozapalnych. Pełnią one rolę tzw. sensorów (host sensors) dla HPeV. W następstwie związania wirusowego RNA przez TLR dochodzi do zainicjowania odpowiedzi immunologicznej, następuje uwolnienie cytokin prozapalnych i reaktywnych form tlenu, co prowadzi do śmierci komórki [10, 27, 32]. Obecność dużej liczby receptorów TLR8 w rozwijającym się układzie nerwowym, może mieć wpływ na dramatyczny przebieg zakażenia, związany z apoptozą neuronów i nieodwracalnymi zmianami w mózgu.

HPeV-3 uważany jest za najbardziej patogenny typ parechowirusów [27]. Powodem mogą być różnice w biologii wirusa (brak RGD), polegające na wykorzystaniu innego receptora niż pozostałe typy [9, 10, 32, 40–43]. Zauważono, że HPeV-3 namnaża się znacznie wydajniej w komórkach nerwowych niż HPeV-1, co może świadczyć o większym neurotropizmie i tłumaczyć ciężki przebieg zakażeń tym typem [9, 27, 32]. Jest to najczęściej wykrywany parechowirus w zakażeniach OUN i sepsie noworodków, związany jest z ZOMR, sepsą, gorączką i wysypką bardziej niż typ 1 [27, 90, 95], powoduje też cięższy przebieg choroby u młodszych dzieci [8, 9, 47, 48, 84, 92, 95]. Jest też drugą po enterowirusach przyczyną wirusowego zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych, zapalenia mózgu i sepsy noworodków, odpowiada za od 3 do 17% przypadków ZOMR i ZM [10, 27, 75, 97]. Pozostałe typy sporadycznie wywołują ciężkie postaci choroby [93]. Po zakażeniu, w ciągu trzech kolejnych lat, prawie zawsze dochodzi do reinfekcji innym typem [86].

U chorych z zakażeniami parechowirusowymi stosuje się leczenie objawowe, a cięższy przebieg choroby wymaga hospitalizacji i monitorowania czynności życiowych. Brak jest skutecznego leczenia przeciw-wirusowego. Pacjentów z zapaleniem mięśnia sercowego leczono z powodzeniem dożylną immunoglobuliną (IVIg), która jest powszechnie stosowana u pacjentów z zakażeniami enterowirusowymi. Immunoglobulina redukuje stan zapalny poprzez działanie na sieć cytokin uczestniczących w reakcji zapalnej powstałej w odpo-

wiedzi na zakażenie [32, 43, 59, 89, 96]. Niektórzy badacze uważają za mało prawdopodobne, by terapia immunoglobuliną była skuteczna w przypadku ciężkich zachorowań powodowanych HPeV-3 ze względu na niską seroprewalencję. Zaobserwowano wyższą skuteczność IVIG w zakażeniach powodowanych HPeV-1 niż innymi typami [10, 27, 79]. Dotąd nie potwierdzono skuteczności działania leków stosowanych w leczeniu zakażeń enterowirusowych m.in. pleconarilu (blokuje miejsce wiązania kapsydu do receptora), rupintriviru i SG85 (inhibitory proteazy 3C), a także inhibitorów helikazy/ATPazy 2C (np. GuHCl i HBB), co prawdopodobnie spowodowane jest różnicami w budowie kapsydu oraz różnicami genetycznymi między EV i HPeV. Mimo to najbardziej obiecującymi lekami wydają się być preparaty z grupy inhibitorów kapsydowych i inhibitorów proteazy 3C, a także substancje celujące w czynniki gospodarza wykorzystywane przez wirusa w replikacji, podobnie jak w przypadku terapii anty-HCV [32, 89]. Obiecującą terapią mogą się okazać przeciwciała monoklonalne oraz rybawiryna (analog nukleotydu) [10, 32, 43, 89].

8. Podsumowanie

Parechowirusy są patogenami występującymi powszechnie na całym świecie. Najczęściej powodują niegroźne zakażenia układów pokarmowego i oddechowego u małych dzieci. Jednak u części zakażonych osób dochodzi do rozwinięcia ostrych objawów i ciężkich postaci chorób. Kluczowym czynnikiem rozwoju ciężkich stadiów choroby jest wiek, który czyni małe dzieci szczególnie podatnymi na zakażenia parechowirusami.

Liczne doniesienia informują o powiązaniu parechowirusów z wieloma jednostkami chorobowymi, również obserwowane spektrum objawów jest szerokie i niespecyficzne, a fakt podobieństwa przebiegu zakażeń parechowirusowych i enterowirusowych czyni z diagnostyki różnicującej duże wyzwanie, zwłaszcza w obszarze ujednoczenia metod diagnostycznych. Wiele zespołów badawczych obserwuje trend, jakim jest awans parechowirusów na drugie miejsce po enterowirusach w rankingu czynników etiologicznych wirusowego zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych i sepsy szczególnie u noworodków i niemowląt. Pomimo tego wciąż niewiele laboratoriów przeprowadza diagnostykę w kierunku zakażeń parechowirusami i jest ona wykonywana głównie w laboratoriach referencyjnych.

Obecnie znanych jest 19 genotypów HPeV, które różnią się właściwościami biologicznymi, zakresem występowania geograficznego, patogennością, jak i częstością wykrywania. Mimo, że od odkrycia pierwszych parechowirusów minęło sześć dekad, to nasza wiedza o tych zmiennych patogenach jest wciąż niepełna.

Coraz więcej zespołów badawczych, w tym europejskich, jest świadomych potrzeby prowadzenia szerzej zakrojonych badań nad biologią parechowirusów oraz prowadzenia nadzoru nad zachorowaniami wywołwanymi przez HPeV. Szczególnie istotne jest monitorowanie krążenia genotypów w populacji, jak również duże znaczenie ma zbieranie danych z wywiadu klinicznego. Obecny stan wiedzy na temat parechowirusów pokazuje, że istnieje potrzeba dalszych badań wirusologicznych i epidemiologicznych, żeby lepiej poznać i ocenić zagrożenie jakim mogą być te niewielkie wirusy.

Podziękowania

Praca powstała w ramach zadania BW-1/2019.

Piśmiennictwo

1. Abedi G.R., Watson J.T., Pham H., Nix W.A., Oberste M.S., Gerber S.I.: Enterovirus and human parechovirus surveillance – United States, 2009–2013. *MMWR Morb. Mortal. Wkly. Rep.* **64**, 940–943 (2015)
2. Alam M.M., Khurshid A., Shaukat S., Rana M.S., Sharif S., Angez M., Nisar N., Naeem M., Zahoor Zaidi S.S.: Human parechovirus genotypes -10, -13 and -15 in Pakistani children with acute dehydrating gastroenteritis. *PLoS One*, **8**, e78377 (2013)
3. Alam M.M., Khurshid A., Shaukat S., Sharif S., Rana M.S., Angez M., Naeem M., Zaidi S.S.: Identification of human parechovirus genotype, HPeV-12, in a paralytic child with diarrhea. *J. Clin. Virol.* **55**, 339–342 (2012)
4. Al-Sunaidi M., Williams Ç.H., Hughes P.J., Shnurr D.P., Stanway G.: Analysis of a new human parechovirus allows the definition of parechovirus types and the identification of RNA structural domains. *J. Virol.* **81**, 1013–1021 (2007)
5. Baumgarte S., de Souza Luna L.K., Grywna K., Panning M., Drexler J.E., Karsten C., Huppertz H.I., Drosten C.: Prevalence, types and RNA concentrations of human parechoviruses including a sixth parechovirus type in stool samples from patients with acute enteritis. *J. Clin. Microbiol.* **46**, 242–248 (2008)
6. Benschop K., Minnaar R., Koen G., van Eijk H., Dijkman K., Westerhuis B., Molenkamp R., Wolthers K.: Detection of human enterovirus and human parechovirus (HPeV) genotypes from clinical stool samples: polymerase chain reaction and direct molecular typing, culture characteristics and serotyping. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* **68**, 166–173 (2010)
7. Benschop K., Molenkamp R., van der Ham A., Wolthers K., Beld M.: Rapid detection of human parechoviruses in clinical samples by real-time PCR. *J. Clin. Virol.* **41**, 69–74 (2008)
8. Benschop K.S., Schinkel J., Minnaar R.P., Pajkrt D., Spanjerberg L., Kraakman H.C., Berkhout B., Zaaijer H.L., Beld M.G., Wolthers K.C.: Human parechovirus infections in Dutch children and the association between serotype and disease severity. *Clin. Infect. Dis.* **42**, 204–210 (2006)
9. Benschop K., Thomas X., Serpenti C., Molenkamp R., Wolthers K.: High prevalence of human parechovirus (HPeV) genotypes in the Amsterdam region and identification of specific HPeV variants by direct genotyping of stool samples. *J. Clin. Microbiol.* **46**, 3965–3970 (2008)
10. Benschop K., Wildenbeest J., Pajkrt D., Wolthers K.: Human parechoviruses, new players in the pathogenesis of viral meningitis. doi: 10.5772/30816 (2012)
11. Benschop K.S.M., Wolthers K.C. i wsp.: Fourth human parechovirus serotype. *Emerg. Infect. Dis.* **12**, 1572–1575 (2006)
12. Birenbaum E., Handscher R., Kuint J., Dagan R., Raichman B., Mendelson E., Linder N.: Echovirus type 22 outbreak associated with gastro-intestinal disease in a neonatal intensive care unit. *Amer. J. Perinatol.* **14**, 469–473 (1997)
13. Bissel S.J., Wiley C.A. i wsp.: Human parechovirus 3 meningitis and fatal leukoencephalopathy. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* **74**, 767–777 (2015)
14. Boivin G., Abed Y., Boucher F.D.: Human parechovirus 3 and neonatal infections. *Emerg. Infect. Dis.* **11**, 103–107 (2005)
15. Böttcher S., Obermeier P.E., Diedrich S., Kaboré Y., D'Alfonso R., Pfister H., Kaiser R., Di Cristanziano V.: Genome sequence of novel human parechovirus type 17. *Genome Announc.* **5**, 1–2 (2017)
16. Britton P.N., Jones C.A., Macartney K., Cheng A.C.: Parechovirus: an important emerging infection in young infants. *Med. J. Aust.* **208**, 365–369 (2018)
17. Bubba L., Pellegrinelli L., Pariani E., Primache V., Amendola A., Binda S.: A novel multiplex one-step real-time RT-PCR assay for the simultaneous identification of enterovirus and parechovirus in clinical fecal samples. *J. Prev. Med. Hyg.* **56**, 57–60 (2015)
18. Cabrerizo M., Calvo C. i wsp.: Comparison of epidemiology and clinical characteristics of infections by human parechovirus vs. those by enterovirus during the first month of life. *Eur. J. Pediatr.* **174**, 1511–1516 (2015)
19. Chang J.T., Yang C.S., Chen B.C., Chen Y.S., Chang T.H.: Complete genome sequence of the first human parechovirus type 3 isolated in Taiwan. *J. Chin. Med. Assoc.* **80**, 737–739 (2017)
20. Chang J.T., Yang C.S., Chen Y.S., Chen B.C., Chiang A.J., Chang Y.H., Tsai W.L., Lin Y.S., Chao D., Chang T.H.: Genome and infection characteristics of human parechovirus type 1: the interplay between viral infection and type I interferon antiviral system. *PLoS One*, **10**, e0116158 (2015)
21. Chen H., Yao Y., Liu X., Xiao N., Xiao Y., Huang Y., Chen Q., Yu S.: Molecular detection of human parechovirus in children with acute gastroenteritis in Guangzhou, China. *Arch. Virol.* **159**, 971–977 (2014)
22. Chen H., Zheng X., Chen X., Shi T., Yao Y., Yuan Q., Chen Q., Yu S.: Diversity and recombination of human parechovirus in children with acute gastroenteritis in Guangzhou, China. *J. Med. Virol.* **87**, 296–302 (2015)
23. Chieochansin T., Vichiwattana P., Korkong S., Theamboonlers A., Poovorawan Y.: Molecular epidemiology, genome characterization and recombination event of human parechovirus. *Virology*, **421**, 159–166 (2011)
24. Chimunda T., Subramanian R., Smith J., Mahony A.: First reported case of human parechovirus encephalitis in an adult patient complicated by refractory status epilepticus. *IDCases*, **15**, e00475 (2019)
25. Chuchaona W., Khamrin P., Yodmeeklin A., Saikruang W., Kongsricharoern T., Ukarapol N., Okitsu S., Hayakawa S., Ushijima H., Maneekarn N.: Detection and characterization of a novel human parechovirus genotype in Thailand. *Infect. Genet. Evol.* **31**, 300–304 (2015)
26. Cordey S., L'Huillier A.G., Turin L., Gervais A., Posfay Barbe K., Kaiser L.: Enterovirus and parechovirus viraemia in young children presenting to the emergency room: unrecognized and frequent. *J. Clin. Virol.* **68**, 69–72 (2015)
27. de Crom S.C., Rossen J.W., van Furth A.M., Obihara C.C.: Enterovirus and parechovirus infection in children: a brief overview. *Eur. J. Pediatr.* **175**, 1023–1029 (2016)
28. de Groot-Mijnes J.D., Rothova A. i wsp.: Identification of new pathogens in the intraocular fluid of patients with uveitis. *Am. J. Ophthalmol.* **150**, 628–636 (2010)

29. Dereymaeker A., Vanhaesebrouck S., Jansen K., Lagae L., de Vries L., Naulaers G.: Transient hypothyroidism associated with viral human parechovirus encephalitis in a newborn. *Eur. J. Paediatr. Neurol.* **19**, 706–710 (2015)
30. de Vries M., Pyrc K., Berkhout R., Vermeulen-Oost W., Dijkman R., Jebbink M.F., Bruisten S., Berkhout B., van der Hoek L.: Human parechovirus type 1, 3, 4, 5 and 6 detection in picornavirus cultures. *J. Clin. Microbiol.* **46**, 759–762 (2008)
31. Drexler J.F., Grywna K., Stöcker A., Almeida P.S., Medrado Ribeiro T.C., Eschbach-Bludau M., Petersen N., da Costa Ribeiro H. Jr., Drosten C.: Novel human parechovirus from Brazil. *Emerg. Infect. Dis.* **15**, 310–313 (2009)
32. Esposito S., Rahamat-Langendoen J., Ascolese B., Senatore L., Castellazzi L., Niesters H.G.: Pediatric parechovirus infections. *J. Clin. Virol.* **60**, 84–89 (2014)
33. Ferreras Antolin L., Kadambari S., Braccio S., Tang J.W., Xerry J., Allen D.J., Ladhani S.N.: Increased detection of human parechovirus infection in infants in England during 2016: epidemiology and clinical characteristics. *Arch. Dis. Child.* **103**, 1061–1066 (2018)
34. Figueroa J.P., Ashley D., King D., Hull B.: An outbreak of acute flaccid paralysis in Jamaica associated with echovirus type 22. *J. Med. Virol.* **29**, 315–319 (1989)
35. Fischer T.K., Midgley S., Dalgaard C., Nielsen A.Y.: Human parechovirus infection, Denmark. *Emerg. Infect. Dis.* **20**, 83–87 (2014)
36. Ghazi F., Hughes P.J., Hyypia T., Stanway G.: Molecular analysis of human parechovirus type 2 (formerly echovirus 23). *J. Gen. Virol.* **79**, 2641–2650 (1998)
37. Graul S., Böttcher S., Eibach D., Krumkamp R., Käsmajer J., Adu-Sarkodie Y., May J., Tannich E., Panning M.: High diversity of human parechovirus including novel types in stool samples from Ghanaian children. *J. Clin. Virol.* **96**, 116–119 (2017)
38. Han T.H., Kim C.H., Park S.H., Chung J.Y., Hwang E.S.: Detection of human parechoviruses in children with gastroenteritis in South Korea. *Arch. Virol.* **156**, 1471–1475 (2011)
39. Hara S., Kawada J., Kawano Y., Yamashita T., Minagawa H., Okumura N., Ito Y.: Hyperferritinemia in neonatal and infantile human parechovirus-3 infection in comparison with other infectious diseases. *J. Infect. Chemother.* **20**, 15–19 (2014)
40. Harvala H., Robertson I., Chieochansin T., McWilliam Leitch E.C., Templeton K., Simmonds P.: Specific association of human parechovirus type 3 with sepsis and fever in young infants, as identified by direct typing of cerebrospinal fluid samples. *J. Infect. Dis.* **199**, 1753–1760 (2009)
41. Harvala H., Robertson I., McWilliam Leitch E.C., Benschop K., Wolthers K.C., Templeton K., Simmonds P.: Epidemiology and clinical associations of human parechovirus respiratory infections. *J. Clin. Microbiol.* **46**, 3446–3453 (2008)
42. Harvala H., Simmonds P.: Human parechoviruses: biology, epidemiology and clinical significance. *J. Clin. Virol.* **45**, 1–9 (2009)
43. Harvala H., Wolthers K.C., Simmonds P.: Parechoviruses in children: understanding a new infection. *Curr. Opin. Infect. Dis.* **23**, 224–230 (2010)
44. Hyypä T., Horsnell C., Maaronen M., Khan M., Kalkkinen N., Auvinen P., Kinnunen L., Stanway G.: A distinct picornavirus group identified by sequence analysis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **89**, 8847–8851 (1992)
45. Ito M., Yamashita T., Tsuzuki H., Takeda N., Sakae K.: Isolation and identification of a novel human parechovirus. *J. Gen. Virol.* **85**, 391–398 (2004)
46. Janes V.A., Minnaar R., Koen G., van Eijk H., Dijkman-de Haan K., Pajkrt D., Wolthers K.C., Benschop K.S.: Presence of human non-polio enterovirus and parechovirus genotypes in an Amsterdam hospital in 2007 to 2011 compared to national and international published surveillance data: a comprehensive review. *Euro. Surveill.* **19**, pii: 20964 (2014)
47. Jeziorski E., Schuffenecker I., Bohrer S., Pain J.B., Segondy M., Foulongne V.: Relevance of human parechovirus detection in cerebrospinal fluid samples from young infants with sepsis-like illness. *J. Clin. Lab. Anal.* **29**, 112–115 (2015)
48. Karsch K., Rath B. i wsp.: Human parechovirus infections associated with seizures and rash in infants and toddlers. *Pediatr. Infect. Dis. J.* **34**, 1049–1055 (2015)
49. Kim Pham N.T., Trinh Q.D., Takashi S., Abeysekera C., Abeygunawardene A., Shimizu H., Khamrin P., Okitsu S., Mizuguchi M., Ushijima H.: Novel human parechovirus, Sri Lanka. *Emerg. Infect. Dis.* **16**, 130–132 (2010)
50. Kong K.L., Lau J.S.Y., Goh S.M., Wilson H.L., Catton M., Korman T.M.: Myocarditis caused by human parechovirus in adult. *Emerg. Infect. Dis.* **23**, 1571–1573 (2017)
51. Koskiniemi M., Paetau R., Linnavuori K.: Severe encephalitis associated with disseminated echovirus 22 infection. *Scand. J. Infect. Dis.* **21**, 463–466 (1989)
52. Legay V., Chomel J.J., Fernandez E., Lina B., Aymard M., Khalfan S.: Encephalomyelitis due to human parechovirus type 1. *J. Clin. Virol.* **25**, 193–195 (2002)
53. Levorson R.E., Jantusch B.A., Wiedermann B.L., Spiegel H.M., Campos J.M.: Human parechovirus-3 infection: emerging pathogen in neonatal sepsis. *Pediatr. Infect. Dis. J.* **28**, 545–547 (2009)
54. Li L., Victoria J., Kapoor A., Naeem A., Shaikat S., Sharif S., Alam M.M., Angez M., Zaidi S.Z., Delwart E.: Genomic characterization of novel human parechovirus type. *Emerg. Infect. Dis.* **15**, 288–291 (2009)
55. Linden S., Vuorinen T., Österback R., Soilu-Hänninen M.: Parechovirus infection preceding Guillain-Barré syndrome. *J. Neurovirol.* **18**, 434–436 (2012)
56. Ljubin-Sternak S., Juretić E., Šantak M., Pleša M., Forčić D., Vilibić-Čavlek T., Aleraj B., Mlinarić-Galinović G.: Clinical and molecular characterization of a parechovirus type 1 outbreak in neonates in Croatia. *J. Med. Virol.* **83**, 137–141 (2011)
57. Lodder W.J., Schijven J.F., Rutjes S.A., de Roda Husman A.M., Teunis P.F.: Enterovirus and parechovirus distributions in surface water and probabilities of exposure to these viruses during water recreation. *Water Res.* **75**, 25–32 (2015)
58. Maller H.M., Powars D.F., Horowitz R.E., Portnoy B.: Fatal myocarditis associated with ECHO virus, type 22, infection in a child with apparent immunological deficiency. *J. Pediatr.* **71**, 204–210 (1967)
59. Mardekian S.K., Fortuna D., Nix A., Bhatti T., Wiley C.A., Flanders A., Urtecho J., Sloane J., Ahmad J., Curtis M.T.: Severe human parechovirus type 3 myocarditis and encephalitis in an adolescent with hypogammaglobulinemia. *J. Infect. Dis.* **36**, 6–8 (2015)
60. Mizuta K., Yahagi K. i wsp.: Epidemic myalgia and myositis associated with human parechovirus type 3 infections occur not only in adults but also in children: findings in Yamagata, Japan, 2014. *Epidemiol. Infect.* **144**, 1286–1290 (2016)
61. Mladenova Z., Dikova A., Thongprachum A., Petrov P., Pekova L., Komitova R., Iturriza-Gomara M., Ushijima H.: Diversity of human parechoviruses in Bulgaria, 2011: detection of rare genotypes 8 and 10. *Infect. Genet. Evol.* **36**, 315–322 (2015)
62. Moore N.E., Wang J., Hewitt J., Croucher D., Williamson D.A., Paine S., Yen S., Greening G.E., Hall R.J.: Metagenomic analysis of viruses in feces from unsolved outbreaks of gastroenteritis in humans. *J. Clin. Microbiol.* **53**, 15–21 (2015)
63. Nix W.A., Maher K., Johansson E.S., Niklasson B., Lindberg A.M., Pallansch M.A., Oberste M.S.: Detection of all known parechoviruses by real-time PCR. *J. Clin. Microbiol.* **46**, 2519–2524 (2008)

64. Nix W.A., Maher K., Pallansch M.A., Oberste M.S.: Parechovirus typing in clinical specimens by nested or semi-nested PCR coupled with sequencing. *J. Clin. Virol.* **48**, 202–207 (2010)
65. Nix W.A., Oberste M.S. i wsp.: Diversity of picornaviruses in rural Bolivia. *J. Gen. Virol.* **94**, 2017–2028 (2013)
66. Norton S., Cordery D.V., Abbenbroek B.J., Ryan A.C., Muscatello D.J.: Towards public health surveillance of intensive care services in NSW, Australia. *Public Health Res. Pract.* **26**, doi: 10.17061/phrp2631633 (2016)
67. Obermeier P.E., Rath B. i wsp.: Acute disseminated encephalomyelitis after human parechovirus infection. *Pediatr. Infect. Dis. J.* **35**, 35–38 (2016)
68. Oberste M.S., Maher K., Pallansch M.A.: Complete sequence of echovirus 23 and its relationship to echovirus 22 and other human enteroviruses. *Virus Res.* **56**, 217–223 (1998)
69. O'Regan S., Robitaille P., Mongeau J.G., McLaughlin B.: The hemolytic uremic syndrome associated with ECHO 22 infection. *Clin. Pediatr(Phila)*. **19**, 125–127 (1980)
70. Patil P.R., Ganorkar N.N., Gopalkrishna V.: Epidemiology and genetic diversity of human parechoviruses circulating among children hospitalized with acute gastroenteritis in Pune, Western India: a 5-years study. *Epidemiol. Infect.* **146**, 11–18 (2018)
71. Pellegrinelli L., Gambará S., Micheli R., Binda S., Fazzi E., Pariani E.: Human parechovirus type 6 and Guillain-Barré syndrome: a case report. *J. Neurovirol.* **24**, 656–659 (2018)
72. Pham N.T., Ushijima H. i wsp.: Human parechovirus infection in children hospitalized with acute gastroenteritis in Sri Lanka. *J. Clin. Microbiol.* **49**, 364–366 (2011)
73. Piralla A., Mariani B., Stronati M., Marone P., Baldanti F.: Human enterovirus and parechovirus infections in newborns with sepsis-like illness and neurological disorders. *Early Hum. Dev.* **90**, 75–77 (2014)
74. Reuter G., Új M., Pankovics P., Kolozsi T., Mihály I., Liptai Z., Boros Á.: Clinical significance and the first identification of human parechoviruses in Hungary. *Orv. Hetil.* **152**, 1007–1012 (2011)
75. Romero J.R., Selvarangan R.: The human parechoviruses: an overview. *Adv. Pediatr.* **58**, 65–85 (2011)
76. Saikruang W., Khamrin P., Suantai B., Okitsu S., Hayakawa S., Ushijima H., Maneekarn N.: Detection of diarrheal viruses circulating in adult patients in Thailand. *Arch. Virol.* **159**, 3371–3375 (2014)
77. Samuilova O., Krogerus C., Pöyry T., Hyypiä T.: Specific interaction between human parechovirus nonstructural 2A protein and viral RNA. *J. Biol. Chem.* **279**, 37822–37831 (2004)
78. Sedmak G., Nix W.A., Jentzen J., Haupt T.E., Davis J.P., Bhattacharyya S., Pallansch M.A., Oberste M.S.: Infant deaths associated with human parechovirus infection in Wisconsin. *Clin. Infect. Dis.* **50**, 357–361 (2010)
79. Shah G., Robinson J.L.: The particulars on parechovirus. *Can. J. Infect. Dis. Med. Microbiol.* **25**, 186–188 (2014)
80. Shan T.L., Wang C.M., Cui L., Delwart E., Yuan C.L., Zhao W., Guo W., Dai X.Q., Yu Y., Hua X.G.: Human parechovirus infections in monkeys with diarrhea, China. *Emerg. Infect. Dis.* **16**, 1168–1169 (2010)
81. Shaukat S., Zaidi S. i wsp.: Identification and characterization of unrecognized viruses in stool samples of non-polio acute flaccid paralysis children by simplified VIDISCA. *Virol. J.* **11**, 146 doi:10.1186/1743-422X-11-146 (2014)
82. Shinomoto M., Kawasaki T., Sugahara T., Nakata K., Kotani T., Yoshitake H., Yuasa K., Saeki M., Fujiwara Y.: First report of human parechovirus type 3 infection in a pregnant woman. *Int. J. Infect. Dis.* **59**, 22–24 (2017)
83. Stanway G., Hyypiä T.: Parechoviruses. *J. Virol.* **73**, 5249–5254 (1999)
84. Strenger V., Diedrich S., Boettcher S., Richter S., Maritschnegg P., Gangl D., Fuchs S., Grangl G., Resch B., Urlsberger B.: Nosocomial outbreak of parechovirus 3 infection among newborns, Austria, 2014. *Emerg. Infect. Dis.* **22**, 1631–1634 (2016)
85. Sun G., Yang Y. i wsp.: Complete genome sequence of a novel type of human parechovirus strain reveals natural recombination events. *J. Virol.* **86**, 8892–8893 (2012)
86. Tapia G., Cinek O., Witsø E., Kulich M., Rasmussen T., Grinde B., Rønningen K.S.: Longitudinal observation of parechovirus in stool samples from Norwegian infants. *J. Med. Virol.* **80**, 1835–1842 (2008)
87. Tauriainen S., Oikarinen S., Taimen K., Laranne J., Sipilä M., Lönnrot M., Ilonen J., Simell O., Knip M., Hyöty H.: Temporal relationship between human parechovirus 1 infection and otitis media in young children. *J. Infect. Dis.* **198**, 35–40 (2008)
88. Thongprachum A., Fujimoto T., Takamashi S., Saito H., Okitsu S., Shimizu H., Khamrin P., Maneekarn N., Hayakawa S., Ushijima H.: Detection of nineteen viruses in raw sewage in Japan. *Infect. Genet. Evol.* **63**, 17–23 (2018)
89. van der Linden L., Wolthers K.C., van Kuppeveld F.J.: Replication and inhibitors of enteroviruses and parechoviruses. *Viruses*, **7**, 4529–4562 (2015)
90. van der Sanden S., de Bruin E., Vennema H., Swanink C., Koopmans M., van der Avoort H.: Prevalence of human parechovirus in the Netherlands in 2000 to 2007. *J. Clin. Microbiol.* **46**, 2884–2889 (2008)
91. Vergnano S., Kadambari S., Whalley K., Menson E.N., Martinez-Alier N., Cooper M., Sanchez E., Heath P.T., Lyall H.: Characteristics and outcomes of human parechovirus infection in infants (2008–2012). *Eur. J. Pediatr.* **174**, 919–924 (2015)
92. Vollbach S., Müller A., Drexler J.F., Simon A., Drosten C., Eise-Hübinger A.M., Panning M.: Prevalence, type and concentration of human enterovirus and parechovirus in cerebrospinal fluid samples of pediatric patients over a 10-year period: a retrospective study. *Virol. J.* **12**, 199 doi: 10.1186/s12985-015-0427-9 (2015)
93. Watanabe K., Oie M., Higuchi M., Nishikawa M., Fujii M.: Isolation and characterization of novel human parechovirus from clinical samples. *Emerg. Infect. Dis.* **13**, 889–895 (2007)
94. Wigand R., Sabin A.B.: Properties of ECHO types 22, 23 and 24 viruses. *Arch. Gesamte Virusforsch.* **11**, 224–247 (1961)
95. Wildenbeest J.G., Benschop K.S.M., Minnaar R.P., Bouma-de Jongh S., Wolthers K.C., Pajkrt D.: Clinical relevance of positive human parechovirus type 1 and 3 PCR in stool samples. *Clin. Microbiol. Infect.* **20**, 640–647 (2014)
96. Wildenbeest J.G., Wolthers K.C., Straver B., Pajkrt D.: Successful IVIG treatment of human parechovirus-associated dilated cardiomyopathy in an infant. *Pediatrics*, **132**, 243–247 (2013)
97. Wolthers K.C., Benschop K.S., Schinkel J., Molenkamp R., Bergevoet R.M., Spijkerman I.J., Kraakman H.C., Pajkrt D.: Human parechoviruses as an important viral cause of sepsis-like illness and meningitis in young children. *Clin. Infect. Dis.* **47**, 358–363 (2008)
98. Zhu R., Luo L., Zhao L., Deng J., Wang F., Sun Y., Song Q., Ding Y., Qian Y.: Characteristics of the mosaic genome of a human parechovirus type 1 strain isolated from an infant with pneumonia in China. *Infect. Genet. Evol.* **29**, 91–98 (2015)
99. Picornaviridae, ParaechovirusA http://www.picornaviridae.com/parechovirus/parechovirus_a/parechovirus_a.htm (20.03.2019)