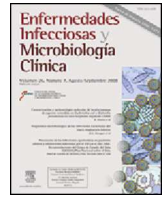


Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica

www.elsevier.es/eimc



Original breve

Caracterización microbiológica de las gastroenteritis agudas virales atendidas en un servicio de pediatría en un área de alta cobertura vacunal frente a rotavirus



Carlos García-Magán^a, María José de Castro-López^a, José Llovo-Taboada^b, Carmen Curros-Novo^a, Miriam Puente-Puig^a, Alicia Sánchez-Fauquier^c y Federico Martinón-Torres^{a,*}

^a Área Integrada de Pediatría, Complejo Hospitalario Universitario de Santiago de Compostela, Santiago de Compostela, España

^b Servicio de Microbiología, Complejo Hospitalario Universitario de Santiago de Compostela, Santiago de Compostela, España

^c Centro Nacional de Microbiología, Instituto de Salud Carlos III, Madrid, España

INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

Historia del artículo:

Recibido el 26 de marzo de 2013

Aceptado el 5 de septiembre de 2013

On-line el 13 de noviembre de 2013

Palabras clave:

Gastroenteritis
Rotavirus
Cobertura vacunal
Genotipificado
Coinfección
Vigilancia epidemiológica

R E S U M E N

Introducción: La vacunación frente a rotavirus ha condicionado un descenso significativo de la enfermedad. El presente trabajo pretende evaluar las características clínicas y epidemiológicas de la gastroenteritis aguda (GEA) por virus en un área de alta cobertura vacunal frente a rotavirus.

Método: Evaluación prospectiva microbiológica mediante coprocultivo y reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (RT-PCR) para virus gastroentéricos, y genotipificado de las cepas de rotavirus de los casos de GEA en menores de 5 años que acudieron a urgencias o fueron hospitalizados en nuestro centro de noviembre a marzo de 2009-2010 y 2010-2011.

Resultados: Se incluyeron 51 pacientes con una edad media (desviación estándar) de 19,1 (13,9) meses. El coprocultivo fue negativo en 23 muestras (45% de los casos), identificándose mediante RT-PCR un microorganismo causal en 16 de estas muestras (el 70%). El rotavirus fue el microorganismo más detectado (53%) y el genotipo G1[P8] el más abundante. En el 14% de los casos (7 pacientes) se identificó coinfección, siendo el rotavirus y el astrovirus los agentes más frecuentemente involucrados.

Conclusiones: El rotavirus, principalmente el G1[P8], se ha identificado como la causa más frecuente de GEA en nuestro estudio. La utilización de RT-PCR mejora significativamente la sensibilidad diagnóstica en el contexto de la GEA, y pone de relieve un porcentaje elevado de coinfecciones virales.

© 2013 Elsevier España, S.L. y Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. Todos los derechos reservados.

Microbiological profile of acute viral gastroenteritis attended in a paediatric department of an area with high vaccine cover against rotavirus

A B S T R A C T

Introduction: Vaccination against rotavirus has led to a significant decline of the disease. The aim of the present work is to evaluate the clinical and epidemiological features of the viral acute gastroenteritis (AGE) in an area with high immunization coverage against rotavirus.

Method: A prospective microbiological evaluation was made of stool culture and Real Time Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) to gastroenteric virus and genotyping of rotavirus strains in < 5 year-old with AGE episodes attended by or admitted to our hospital from November-March of 2009-2010 and 2010-2011.

Results: A total of 51 patients were included, with a mean age (standard deviation) of 19.1 (13.9) months. Stool culture was negative in 23 samples (45% of the samples analyzed), and it was identified a responsible microorganism in 70% by the RT-PCR (16 samples). Rotavirus was the most common isolated microorganism (53%), and G1[P8] the most frequent genotype. A co-infection was detected in 14% of samples (7 patients), and rotavirus and astrovirus were the most frequent etiological agents involved.

Keywords:

Gastroenteritis
Rotavirus
Immunization coverage
Genotyping
Coinfection
Surveillance

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: federico.martinon.torres@sergas.es (F. Martinón-Torres).

Conclusions: Rotavirus, basically G1[P8], is the most common AGE responsible agent identified in our study. The use of RT-PCR enhances the AGE diagnostic sensitivity, and uncovers an important number of viral co-infections.

© 2013 Elsevier España, S.L. and Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. All rights reserved.

Introducción

El rotavirus es la principal causa de gastroenteritis aguda (GEA) en la infancia, causante de más de 500.000 muertes anuales y de más de 2 millones de hospitalizaciones en todo el mundo¹. En el momento actual disponemos de vacunas seguras y eficaces, cuya efectividad ha sido demostrada también en nuestro medio².

Este trabajo pretende evaluar las características clínicas y epidemiológicas de la GEA por virus en un área de alta cobertura vacunal (> 40%) frente a rotavirus³.

Método

Se realizó un estudio observacional, prospectivo, no intervencionista de cohortes con recogida de datos clínicos mediante doble encuesta (personal y telefónica con los padres) y de datos microbiológicos mediante cultivo de muestra de heces. Fueron candidatos al estudio los casos de GEA acontecidas en niños menores de 5 años que consultaron en el servicio de urgencias pediátricas o que desarrollaron una GEA durante su hospitalización en el Hospital Clínico Universitario de Santiago de Compostela durante los meses de noviembre a marzo de 2009–2010 y 2010–2011. El caso de GEA se definió como 3 o más deposiciones de consistencia más blanda de lo normal en 24 h, acompañadas o no de vómitos. Infección nosocomial se definió de forma clínica como pacientes que fueron ingresados en el hospital sin signos de GEA pero que la desarrollaron durante su hospitalización. Aquellos pacientes con GEA de inicio en las primeras 48 h de ingreso se consideraron GEA adquiridas en la comunidad. Se realizó coprocultivo estándar con búsqueda de bacterias y parásitos, así como determinación de antígenos de rotavirus y adenovirus mediante inmunoanálisis (Test Vikia ROTA-ADENO, Biomerieux). Posteriormente se enviaban todas las muestras al Centro Nacional de Microbiología (ISCIII), donde se procesaba realizando una suspensión al 10% de cada muestra en 0,1 mol/l de tampón fosfato salino y aplicando RT-PCR para rotavirus, astrovirus, norovirus y adenovirus. El ARN viral se extraía de 140 µl de la suspensión fecal al 10% usando un kit comercial (QIAamp viral RNA minikit, QIAGEN GmbH, Alemania), según las instrucciones del fabricante. Los 60 µl de ARN eluido se almacenaban a –80 °C hasta que se usaban los métodos previamente descritos para la determinación de serotipos de rotavirus G y P. Los genotipos de rotavirus se identificaron mediante caracterización molecular.

Se realizó un análisis descriptivo de las variables incluidas en los cuestionarios, expresándose como media (desviación estándar) o n (%) según correspondía. Se compararon los casos en función de la presencia o no de rotavirus, estableciéndose la significación estadística en una $p < 0,01$. Para el manejo y análisis estadístico de los datos se empleó el programa estadístico informático SPSS para Windows, versión 15.

Resultados

Se incluyeron 51 pacientes para el estudio cuyas características se resumen en la [tabla 1](#). El coprocultivo convencional y/o las pruebas antigénicas rápidas frente a rotavirus y adenovirus fueron negativas en el 45,1% (n = 23) de los casos, pero la realización posterior de pruebas moleculares identificó un microorganismo causal en el 69,6% (n = 16) de estas muestras negativas. El rotavirus fue

el agente más frecuentemente detectado (en 27 muestras; 53%), siendo el genotipo más prevalente el G1[P8] (37% de las GEA por rotavirus; n = 10), seguido del G9[P8] y del G2[P4] (11,1% [n = 3] de las cepas de rotavirus causantes de GEA cada uno). El norovirus y el astrovirus fueron detectados de forma aislada en el 9,8% (n = 5) y 5,9% (n = 3) de los casos de GEA, respectivamente. La etiología bacteriana fue responsable del 7,8% (n = 4) de los casos de GEA, identificando *Salmonella* (n = 2) y *Campylobacter* (n = 2). En un 23,5% (n = 12) de los casos incluidos de GEA no fue posible identificar ningún agente etiológico.

En el 13,7% de las muestras (n = 7) se demostró la presencia de coinfección entre 2 virus. En 5 de los 7 casos de coinfección estaba involucrado el rotavirus. Los genotipos involucrados en las coinfecciones fueron el G1[P8] (n = 1), G3[P8] (n = 1) y G12[P8] (n = 1), no siendo posible el genotipificado de las 2 cepas de rotavirus restantes. Las características más relevantes de los pacientes con coinfección se exponen en la [tabla 2](#).

Discusión

La GEA viral, concretamente la GEA por rotavirus, continúa siendo la causa más frecuente de GEA en nuestro medio, fundamentalmente por casos acontecidos en sujetos no vacunados. La cepa G1 de rotavirus presentó un predominio claro con respecto al resto de cepas, seguido del genotipo G2 (11,1%, 3 casos), mientras que no se detectó ningún caso del genotipo G4. Este descenso en los casos de GEA por rotavirus G4 en nuestro país ya había sido previamente documentado⁴. Con respecto al genotipo P, se ve un claro predominio de [P8], que se detecta en el 83,3% (n = 15) de los rotavirus genotipificados en nuestra serie.

Clínicamente, los casos de rotavirus presentaron una mayor gravedad que los de otra etiología. Los pacientes con deshidratación en grado moderado o superior en nuestra serie presentaban una infección por rotavirus y, en todos ellos, los sujetos no estaban vacunados. Esto refuerza la importancia de la vacunación frente a rotavirus, que ha demostrado una importante efectividad⁵, también en nuestro medio^{2,3}. Los 2 casos de GEA por rotavirus en sujetos vacunados detectados en nuestra serie fueron leves, y no pueden considerarse fallos vacunales, ya que estas vacunas previenen las formas moderadas-graves de enfermedad, pero no la infección.

Los datos publicados sobre la coinfección en pacientes con GEA reflejan que el rotavirus desempeña un papel principal en el desarrollo de este tipo de infecciones. Román et al.⁶ refieren hasta un 5% de casos de coinfección, y Tran et al.⁷, un 3,3%, ambos porcentajes sensiblemente inferiores al 13,7% (n = 7) observado en nuestra serie. El porcentaje tan elevado de coinfecciones que hemos detectado está muy probablemente en relación con la utilización de técnicas moleculares. Si bien otros factores, como la propia vacunación o la alta prevalencia de casos nosocomiales en nuestra serie, podrían contribuir a explicar esta diferencia. La importancia clínica de estas coinfecciones y el impacto de la vacunación sobre esta forma de GEA podría contribuir a explicar la gran efectividad de la vacuna frente a las gastroenteritis de cualquier etiología, al evitar el papel copatogénico o sinérgico que el rotavirus podría tener en estos casos⁸.

En nuestra serie, el 19,6% (n = 10) de los pacientes fueron diagnosticados de GEA nosocomial, producida hasta en el 70% (n = 7) de los casos por rotavirus, sin identificar ninguna cepa de rotavirus responsable de brote epidémico. Un reciente metaanálisis muestra una incidencia aproximada de rotavirus nosocomial del

Tabla 1

Resumen de las características principales de los pacientes incluidos en el estudio. Comparación en función de que su etiología fuese o no por rotavirus

	GEA rotavirus (n = 27)	GEA no rotavirus (n = 24)	p [*]
Casos	27 (52,9%)	24 (47,1%)	NS
Varones	19 (70,3%)	14 (58,3%)	< 0,01
Edad media en meses	16,7 (13,6)	21,8 (14,4)	< 0,01
Ingreso hospitalario	17 (63%)	9 (37,5%)	< 0,01
Días de estancia hospitalaria en días	6,7	4,5	< 0,01
GEA nosocomial	7 (41,1%)	3 (33,3%)	NS
Deshidratación	62,9% (47% moderada, 53% leve)	45,8% (100% leve)	< 0,01
Puntuación media escala de gravedad ^d en puntos	12 (5)	9,9 (5,1)	< 0,01
Vacunación frente a rotavirus ^b	2 (7,4%)	9 (37,5%)	< 0,01
Coinfección	5 (18,5%)	2 (8,3%)	< 0,01

Entre paréntesis se expresa porcentaje o desviación estándar, según corresponda.

^{*} Se consideró significativa una $p < 0,01$.

^a Escala de gravedad: *días de duración de la diarrea*: 1-4 días = 1 punto; 5 días = 2 puntos; 6 o más días = 3 puntos; *número máximo de evacuaciones diarreas en 24 h*: 1-3 deposiciones = 1 punto; 4-5 deposiciones = 2 puntos; 6 o más deposiciones = 3 puntos; *días de duración de los vómitos*: 1 día = 1 punto; 2 días = 2 puntos; 3 o más días = 3 puntos; *número máximo de vómitos en 24 h*: 1 vómito = 1 punto; 2 vómitos = 2 puntos; 3 o más vómitos = 3 puntos; *fiebre*: 37,1-38,4 °C = 1 punto; 38,5-38,9 °C = 2 puntos; 39 °C o más = 3 puntos; *deshidratación*: 1-5% = 2 puntos; 6% o más = 3 puntos; *tratamiento*: rehidratación = 1 punto; ingreso = 2 puntos.

^b Se considera correctamente vacunado aquel que recibió todas las dosis de vacunas correspondientes para su edad, independientemente de la vacuna empleada.

Tabla 2

Descripción de los 7 casos de coinfección identificados durante el estudio

	Sexo	Edad	Virus detectados	Ingreso hospitalario	Días de ingreso	Infección nosocomial ^a	Escala de gravedad ^b	Vacunación frente a rotavirus
Caso 1	Niño	12 meses	Astrovirus Norovirus	Sí	3	Sí	16 puntos	No
Caso 2	Niño	6 meses	Rotavirus G1[P8] Astrovirus	Sí	14	Sí	5 puntos	No
Caso 3	Niño	8 meses	Astrovirus Norovirus	No	—	No	6 puntos	No
Caso 4	Niña	18 meses	Rotavirus G3[P8] Astrovirus	No	—	No	3 puntos	No
Caso 5	Niña	6 meses	Rotavirus NS _c Astrovirus	No	—	No	14 puntos	No
Caso 6	Niña	23 meses	Rotavirus G12P8 Adenovirus	No	—	No	13 puntos	Sí (3 dosis de vacuna)
Caso 7	Niño	9 meses	Rotavirus NS ^c Norovirus	No	—	No	12 puntos	Datos no disponibles

^a En infección nosocomial, los días de ingreso se consideran los debidos a GEA.

^b Escala de gravedad: *días de duración de la diarrea*: 1-4 días = 1 punto; 5 días = 2 puntos; 6 o más días = 3 puntos; *número máximo de evacuaciones diarreas en 24 h*: 1-3 deposiciones = 1 punto; 4-5 deposiciones = 2 puntos; 6 o más deposiciones = 3 puntos; *días de duración de los vómitos*: 1 día = 1 punto; 2 días = 2 puntos; 3 o más días = 3 puntos; *número máximo de vómitos en 24 h*: 1 vómito = 1 punto; 2 vómitos = 2 puntos; 3 o más vómitos = 3 puntos; *fiebre*: 37,1-38,4 °C = 1 punto; 38,5-38,9 °C = 2 puntos; 39 °C o más = 3 puntos; *deshidratación*: 1-5% = 2 puntos; 6% o más = 3 puntos; *tratamiento*: rehidratación = 1 punto; ingreso = 2 puntos.

^c Rotavirus NS: rotavirus no serotificado.

2,9% de hospitalizaciones, y que puede alcanzar el 8% en lactantes durante la estación de rotavirus⁹. Sobre la enfermedad previa al desarrollo de la GEA nosocomial, nuestros datos marcan un claro predominio de enfermedades respiratorias, suponiendo un 70% (n = 7) de todas las GEA nosocomiales. Esto es debido a la coincidencia estacional del virus respiratorio sincitial, principal motivo de ingreso de los lactantes durante los meses invernales.

El rotavirus –fundamentalmente el genotipo G1[P8]– continúa siendo la causa más frecuente de GEA grave en nuestro medio en los meses fríos. El empleo de técnicas moleculares para la evaluación etiológica de la GEA incrementa significativamente la sensibilidad diagnóstica y pone de relieve un número mayor de infecciones por rotavirus, así como de coinfecciones virales. La vigilancia epidemiológica activa del rotavirus es esencial para evaluar el impacto de la vacunación y la eventual aparición de cambios en la epidemiología de la enfermedad.

Financiación

Las actividades de investigación de FMT se han apoyado por becas de la Consellería de Sanidade/Xunta de Galicia (intensificación RHI07/2-ACTIVIDAD investigadora, PS09749 y 10PXIB918184PR), Instituto de Salud Carlos III (intensificación de la ACTIVIDAD investigadora) y el Fondo de Investigación Sanitaria (FIS, PI070069/PI1000540) del plan Nacional de I + D + i y Fondos FEDER.

Conflicto de intereses

FMT ha recibido becas de investigación y/u honorarios como consultor/asesor y/o representante y ha llevado a cabo ensayos de

vacunas de GlaxoSmithKline, Sanofi Pasteur MSD, Pfizer Inc/Wyeth, Novartis y MedImmune Inc.

Agradecimientos

En este trabajo han colaborado además los siguientes investigadores de ReGALIP (www.regalip.org): Juan Sánchez Lastres, Angel López-Silvarrey, Lorenzo Redondo Collazo, Jesús Velo Regueira, Rosa Veiguela Moreno, Nazareth Martínón Torres, Jose María Martínón Sánchez, Lucia Vilanova Trillo, Natalia Fernández Pedrós y Miriam Cebery López.

Bibliografía

- Parashar UD, Hummelman EG, Bresee JS, Miller MA, Glass RI. Global illness and deaths caused by rotavirus disease in children. *Emerg Infect Dis.* 2003;9:565–72.
- Martínón-Torres F, Bouzón Alejandro M, Redondo Collazo L, Sánchez Lastres JM, Pêrtega Díaz S, Seoane Pillado MT, et al. Effectiveness of rotavirus vaccination in Spain. *Hum Vaccin.* 2011;7:757–61.
- Martínón-Torres F, Martínón-Torres N, Bouzón Alejandro M, Redondo Collazo L, Pêrtega-Díaz S, Seoane-Pillado MT, et al. Acute gastroenteritis hospitalizations among children aged < 5 years before and after introduction of rotavirus vaccines: A hospital-based surveillance study in Galicia, Spain. *Hum Vaccin Immunother.* 2012;8:946–52.
- Sánchez-Fauquier A, Montero V, Colomina J, González-Galán V, Aznar J, Aisa ML, et al. Global study of viral diarrhea in hospitalized children in Spain: Results of Structural Surveillance of Viral Gastroenteritis Net Work (VIGESS-net) 2006–2008. *J Clin Virol.* 2011;52:353–8.
- Patel M, Steele D, Gentsch J, Wecker J, Glass R, Parashar U. Real-world impact of rotavirus vaccination. *Pediatr Infect Dis J.* 2011;30:S1–5.
- Román E, Wilhemi I, Colomina J, Villar J, Cilleruelo ML, Sánchez-Fauquier A, et al. Acute viral gastroenteritis: Proportion and clinical relevance

- of multiple infections in Spanish children. *J Med Microbiol.* 2003;52 (Pt 5): 435–40.
7. Tran A, Talmud D, Lejeune B, Jovenin N, Renois F, Androletti L, et al. Prevalence of rotavirus, adenovirus, norovirus and astrovirus infections and coinfections among hospitalized children in northern France. *J Clin Microbiol.* 2010; 48:1943.
 8. Bouzón-Alejandro M, Redondo-Collazo L, Sánchez-Lastres JM, Martín-Torres N, Martín-Sánchez JM, Martín-Torres F, et al. Prospective evaluation of indirect costs due to acute rotavirus gastroenteritis in Spain: The ROTACOST study. *BMC Pediatr.* 2011;11:81.
 9. Bruijning-Verhagen P, Quach C, Bonten M. Nosocomial rotavirus infections: A meta-analysis. *Pediatrics.* 2012;129:1011–9.