



Tesis Doctoral
Universidad de Las Palmas de Gran Canaria
Facultad de Ciencias de la Salud
Departamento de Ciencias Clínicas
Perspectivas Actuales en la Investigación Pediátrica

“GASTROENTERITIS VIRALES DE ORIGEN COMUNITARIO EN NIÑOS MENORES DE 5 AÑOS INGRESADOS EN GRAN CANARIA”

Tesis doctoral presentada por D. Ramiro Rial González para optar al grado de Doctor en
Medicina

Dirigida por el doctor D. Luis Peña Quintana

Fdo. El Director

Fdo. El Doctorando

Fdo.: Luis Peña Quintana, Ramiro Rial González

Las Palmas de Gran Canaria, Octubre de 2015.

**DR. JUAN FRANCISCO LORO FERRER DIRECTOR DEL
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS CLINICAS DE LA
UNIVERSIDAD DE LAS PALMAS DE GRAN CANARIA,**

CERTIFICA,

Que el Consejo de Doctores del Departamento en su sesión de fecha 6 de noviembre de 2015, tomó el acuerdo de dar el consentimiento para su tramitación, a la tesis doctoral titulada "GASTROENTERITIS VIRALES DE ORIGEN COMUNITARIO EN NIÑOS MENORES DE 5 AÑOS INGRESADOS EN GRAN CANARIA" presentada por el doctorando D. Ramiro Rial González y dirigida por el Dr. D. Luis Peña Quintana

Y para que así conste, y a efectos de lo previsto en el Artº 6 del Reglamento para la elaboración, defensa, tribunal y evaluación de tesis doctorales de la Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, firmo la presente en Las Palmas de Gran Canaria, a 6 de noviembre de dos mil quince.



D. LUIS PEÑA QUINTANA, Profesor Titular de Pediatría de la Universidad de Las Palmas de Gran Canaria adscrito al Departamento de Ciencias Clínicas, Jefe de Sección de Pediatría y Jefe de la Unidad de Gastroenterología, Hepatología y Nutrición Pediátrica del Complejo Hospitalario Universitario Insular Materno-Infantil de Las Palmas,

CERTIFICA:

Que D. Ramiro Rial González, licenciado en Medicina y especialista en Pediatría y sus Áreas Específicas, ha realizado bajo mi dirección y supervisión el trabajo de Tesis Doctoral titulado: “Gastroenteritis virales de origen comunitario en niños menores de 5 años ingresados en Gran Canaria”. La aportación más relevante de dicho trabajo es su contribución a conocer los agentes causales y sus características en los niños ingresados menores de 5 años en nuestra isla, donde no existen datos publicados al respecto.

Dado que la presente memoria reúne las condiciones para ser defendida como Tesis Doctoral ante tribunal y, en cumplimiento de las disposiciones vigentes, firmo el presente certificado en Las Palmas, octubre de 2015.

Fdo.: Luis Peña Quintana

*“Una actitud saludable es contagiosa,
pero no esperes a tomarla de otras personas,
sé un portador”*

Tom Stoppard

*“Sí lo que usted quiere hacer está bien, y usted cree en ello,
¡adelante, hágalo! Lleve a cabo sus sueños, y no haga caso de lo que "los demás" puedan decir
sí usted se topa en algún momento con dificultades,
ya que tal vez "los demás" no sepan que cada fracaso lleva consigo la semilla de un éxito
equivalente”*

Napoleón Hill

AGRADECIMIENTOS

A mi director de tesis, el Profesor Dr. D. Luis Peña Quintana, por sus consejos y estímulo constante para llevar a cabo este trabajo. Por su ejemplo continuo de hacer las cosas bien y no dejar de intentar mejorar y aprender.

A la Profesora Dra. Dña. Alicia Sánchez Fauquier, por incluirnos dentro del estudio VIGESS-net, lo que ha permitido conocer y estudiar a nuestra población. Por su profesionalidad avalada por una trayectoria impecable.

A la Dra. Dña. Rosa Elcuaz Romano, por su predisposición y amabilidad constante. Por su colaboración en el etiquetado, custodia y envío de muestras. Por su supervisión en el apartado de pacientes y métodos.

Al Profesor Dr. D. Pedro Saavedra Santana, por su codiciado tiempo y su cordialidad. Por su aportación al análisis estadístico de esta tesis.

A Dña. Amparo Fuster Pardo, por su profesionalidad y simpatía. Por su ayuda inestimable para obtener los datos de codificación de las altas hospitalarias y por su rápida respuesta siempre que lo necesité.

A D. Roque Sánchez Perera, por su pericia al ayudarme a conseguir la bibliografía que necesité.

A mi mujer, por el apoyo constante, por sus ánimos, por su cariño y amor infinito, por ser como es. Por tanta ayuda y momentos dedicados a este trabajo, siempre tratando de impulsarme. Por regalarme lo más bonito que se puede tener entre dos personas, un hijo, que en el momento de escribir estas líneas está a punto de llegar.

A mis padres, por educarme, transmitirme valores, ser capaces de formar un entorno ideal en el que crecer, siempre sabiendo hacer lo necesario anteponiendo todo a sus hijos con cariño. Por estar ahí siempre, aunque mi padre lo haga desde el cielo.

A mi hermano, porque la vida sin él sería mucho más aburrida, siempre está para sacarte una sonrisa o hacer lo que necesite para estar mejor.

A mis abuelos, especialmente a mi abuelo Santiago, que en el cielo le estará diciendo a todos y sobretodo a sus médicos que su nieto es un fenómeno.

A mis tíos y primos, por dar sentido a la palabra familia y mantenernos unidos a pesar de hacernos mayores.

A mi familia política, por hacerme sentir como si fuera un hijo más.

A mis profesores desde el colegio a la universidad, por tantos conocimientos transmitidos que me han permitido conseguir mi ilusión de ser pediatra.

A los padres que autorizaron la inclusión de sus hijos en el estudio y así poder realizar esta tesis. Sin su colaboración no hubiera sido posible.

A los niños, porque son los pacientes más agradecidos y por ellos merece la pena cualquier esfuerzo para su bienestar. Gracias a ellos disfruto con mi trabajo.

ÍNDICE

ÍNDICE GENERAL	I
ÍNDICE DE TABLAS	VII
ÍNDICE DE FIGURAS	XI
ABREVIATURAS	XV

ÍNDICE GENERAL

1. INTRODUCCIÓN	3
1.1 CONCEPTO DE GASTROENTERITIS AGUDA	3
1.2 REPASO HISTÓRICO DE LA GEA DE ORIGEN VÍRICO	3
1.3 DESCRIPCIÓN DE LOS AGENTES VIRALES CAUSANTES DE GEA	5
1.3.1 ROTAVIRUS.....	5
1.3.1.1 Morfología.....	5
1.3.1.2 Estructura viral	5
1.3.1.3 Clasificación de los rotavirus	8
1.3.1.4 Patogenia y respuesta inmune	11
1.3.2 NOROVIRUS	12
1.3.2.1 Morfología.....	12
1.3.2.2 Estructura viral	13
1.3.2.3 Clasificación.....	14
1.3.2.4 Patogenia y respuesta inmune	15
1.3.3 ASTROVIRUS	16

1.3.3.1 Morfología.....	16
1.3.3.2 Estructura viral	17
1.3.3.3 Clasificación.....	18
1.3.3.4 Patogenia y respuesta inmune	18
1.3.4 ADENOVIRUS	19
1.3.4.1 Morfología.....	19
1.3.4.2 Estructura viral	20
1.3.4.3 Clasificación.....	21
1.3.4.4 Patogenia y respuesta inmune	22
1.4 FISIOPATOLOGÍA	23
1.5 EPIDEMIOLOGÍA.....	24
1.6 CLÍNICA	30
1.7 DIAGNÓSTICO	35
1.7.1 DIAGNÓSTICO ETIOLÓGICO	36
1.7.1.1 Cultivos celulares	37
1.7.1.2 Microscopía electrónica	37
1.7.1.3 Técnicas de detección de antígenos	38
1.7.1.4 Técnicas moleculares	41
1.7.2 INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS	43
1.8 TRATAMIENTO	44
1.8.1 REPOSICIÓN DE LÍQUIDOS.....	44
1.8.2 APOYO NUTRICIONAL	47

1.8.3 TRATAMIENTO FARMACOLÓGICO	48
1.8.3.1 Antieméticos	48
1.8.3.2 Antidiarreicos	49
1.8.3.3 Antimicrobianos	49
1.8.3.4 Suplementos: zinc, prebióticos y simbióticos, probióticos	50
1.8.4 MANEJO TERAPÉUTICO	52
1.8.4.1 Paciente no deshidratado	52
1.8.4.2 Deshidratación leve	52
1.8.4.3 Deshidratación moderada	52
1.8.4.4 Deshidratación severa	53
1.9 PREVENCIÓN Y VACUNAS	54
1.9.1 VACUNAS	55
2. JUSTIFICACIÓN	61
3. OBJETIVOS	67
3.1. OBJETIVOS PRIMARIOS	67
3.2. OBJETIVOS SECUNDARIOS	67
4. PACIENTES Y MÉTODOS.....	71
4.1 CRITERIOS DE INCLUSIÓN	71
4.2 CRITERIOS DE EXCLUSIÓN	71
4.3 PROCEDIMIENTO DE RECOGIDA DE DATOS	72
4.4 PROCESO DE IDENTIFICACIÓN Y RECOGIDA DE LA MUESTRA	73
4.5 ANÁLISIS DE LA MUESTRA	74

4.6 DIAGNÓSTICO	76
4.7 MARCADORES EPIDEMIOLÓGICOS	77
4.8 ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	79
5.RESULTADOS.....	83
5.1. CARACTERÍSTICAS DE LA POBLACIÓN DE ESTUDIO	83
5.2. RESULTADOS DEL ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO.....	85
5.2.1 ANÁLISIS DE LOS AISLAMIENTOS	85
5.2.2 ANÁLISIS DE LOS CASOS	88
5.2.3 COINFECCIONES	90
5.2.4 ANÁLISIS DE LOS VIRUS	91
5.2.4.1 Rotavirus	91
5.2.4.2 Norovirus.....	101
5.2.4.3 Astrovirus.....	106
5.2.4.4 Adenovirus	107
5.3. DISTRIBUCIÓN DE LOS GÉRMENES EN LOS GRUPOS ETARIOS.....	108
5.3.1 DISTRIBUCIÓN DE LOS GÉRMENES POR AISLAMIENTO EN LOS GRUPOS ETARIOS.....	108
5.3.2 DISTRIBUCIÓN DE LOS GÉRMENES AGRUPADOS POR CASOS EN LOS GRUPOS ETARIOS	110
5.3.3 DISTRIBUCIÓN DE LAS CEPAS DE ROTAVIRUS EN LOS GRUPOS ETARIOS.....	112
5.3.4 DISTRIBUCIÓN DE LOS TIPOS G y P DEL ROTAVIRUS EN LOS GRUPOS ETARIOS.....	114

5.4. ANÁLISIS DE LAS VARIABLES DEL ESTUDIO EN LOS GRUPOS ETIOLÓGICOS DE GEA.....	116
5.4.1 SEXO Y EDAD.....	116
5.4.2 PARÁMETROS CLÍNICOS.....	117
5.4.2.1 Características de las deposiciones.....	117
5.4.2.2 Vómitos.....	118
5.4.2.3 Fiebre.....	119
5.4.2.4. Deshidratación.....	120
5.4.3 PARÁMETROS ANALÍTICOS.....	121
5.4.4 ESTANCIA HOSPITALARIA.....	121
5.4.5 FACTORES EPIDEMIOLOGÍCOS.....	122
5.5. ANÁLISIS DE LA SEVERIDAD O GRAVEDAD.....	122
5.5.1 POR GRUPOS ETIOLÓGICOS.....	122
5.5.2 POR AISLAMIENTO DEL MISMO PATÓGENO SÓLO O EN COINFECCIÓN.....	123
5.5.3 POR GRUPOS ETARIOS.....	124
5.6. ANÁLISIS DE LAS VARIABLES DEL ESTUDIO EN LOS GRUPOS SEGÚN SU SEVERIDAD.....	125
5.6.1 ANÁLISIS DE LOS AISLAMIENTOS EN LOS GRUPOS DE GEA MODERADA Y SEVERA.....	126
5.6.2 ANÁLISIS DE CASOS EN LOS GRUPOS DE GEA MODERADA Y SEVERA.....	128
5.6.3 ANÁLISIS DE LOS TIPOS G y P DEL ROTAVIRUS EN LOS GRUPOS DE GEA MODERADA Y SEVERA.....	129

5.6.4 ANÁLISIS POR SEXO Y EDAD EN LOS GRUPOS DE GEA MODERADA Y SEVERA.....	131
5.6.5 ANÁLISIS DE LOS PARÁMETROS CLÍNICOS EN LOS GRUPOS DE GEA MODERADA Y SEVERA.....	132
5.6.6 ANÁLISIS DE LA ESTANCIA HOSPITALARIA EN LOS GRUPOS DE GEA MODERADA Y SEVERA.....	134
5.6.7 ANÁLISIS DE LOS FACTORES EPIDEMIOLÓGICOS EN LOS GRUPOS DE GEA MODERADA Y SEVERA	134
5.6.8 ANÁLISIS DE COMPLICACIONES EN LOS GRUPOS DE GEA MODERADA Y SEVERA.....	135
5.7. REGRESIÓN LINEAL MULTIVARIANTE PARA LA ESCALA DE SEVERIDAD	135
5.8. DISTRIBUCIÓN DE LAS GEA SEGÚN AGENTE CAUSAL POR ZONA GEOGRÁFICA	137
5.9. MARCADORES EPIDEMIOLÓGICOS	138
6. DISCUSIÓN.....	143
7. CONCLUSIONES.....	177
8. BIBLIOGRAFÍA.....	181
9. ANEXOS	195

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Características principales de los virus causantes de GEA	5
Tabla 2. Características de las proteínas estructurales y no estructurales del rotavirus ..	8
Tabla 3. Genogrupos, genotipos y cepas de referencia de norovirus.....	15
Tabla 4. Proteínas de los adenovirus	21
Tabla 5. Clasificación de los adenovirus humanos	22
Tabla 6. Principales características epidemiológicas de las infecciones por virus causantes de GEA	30
Tabla 7. Tipos de deshidratación y sus síntomas.....	33
Tabla 8. Escala de gravedad de Vesikari	34
Tabla 9. Escala clínica de deshidratación infantil CDS	34
Tabla 10. Indicación de diagnóstico etiológico	35
Tabla 11. Relación de técnicas comercializadas para el diagnóstico de infecciones por virus entéricos	41
Tabla 12. Resumen de los procedimientos para el diagnóstico de GEA de origen vírico	43
Tabla 13. Soluciones de rehidratación oral comercializadas en España	46
Tabla 14. Componentes añadidos a las SRO	47
Tabla 15. Indicación de rehidratación intravenosa	47
Tabla 16. Indicación de tratamiento antimicrobiano en la GEA	50
Tabla 17. Indicaciones de consulta médica	54
Tabla 18. Evolución de la cobertura vacunal	57

Tabla 19. Población menor de 5 años en Gran Canaria por año	78
Tabla 20. Número de ingresos de menores de 5 años en el CHUIMIC por año	79
Tabla 21. Gérmenes aislados	85
Tabla 22. Distribución de los gérmenes aislados en las temporadas del estudio	86
Tabla 23. Gérmenes aislados solos o en coinfección	87
Tabla 24. Distribución de los gérmenes solos o en coinfección en los 204 casos	88
Tabla 25. Etiología de los casos	88
Tabla 26. Distribución de los casos en las temporadas del estudio en función de su etiología	89
Tabla 27. Casos en los que se encontraron coinfecciones y sus componentes	90
Tabla 28. Presencia de los gérmenes en los 88 casos de coinfección de la muestra	91
Tabla 29. Genotipos de rotavirus aislados	94
Tabla 30. Cepas de los rotavirus aislados en coinfección y sus asociaciones	96
Tabla 31. Distribución de las cepas de rotavirus en las temporadas del estudio	97
Tabla 32. Genotipos G y P de los rotavirus	99
Tabla 33. Tipos de coinfección en los que aparece norovirus	105
Tabla 34. Casos en los que se aisló astrovirus	106
Tabla 35. Casos en los que se aisló adenovirus	107
Tabla 36. Relación de gérmenes aislados en los grupos etarios de la muestra	109
Tabla 37. Relación de los casos de GEA y su distribución en los distintos grupos etarios	111

Tabla 38. Distribución de las cepas con genotipo completo, parcial e indeterminado en los grupos etarios	112
Tabla 39. Distribución de los genotipos G y P por grupos de edad	115
Tabla 40. Relación etiológica de la GEA con el sexo	117
Tabla 41. Relación etiológica de la GEA con la edad	117
Tabla 42. Relación de los diferentes parámetros clínicos en los grupos de edad	120
Tabla 43. Relación de los niveles de transaminasas con los grupos etarios	121
Tabla 44. Relación de los días de ingreso con los grupos etiológicos	121
Tabla 45. Relación de los factores epidemiológicos con los grupos etiológicos	122
Tabla 46. Relación del porcentaje de casos severos de GEA y puntuación en la escala de gravedad en los grupos etiológicos	123
Tabla 47. Comparativa de la puntuación en la escala de severidad con los casos de un mismo germen como agente único o en coinfección	124
Tabla 48. Relación del porcentaje de casos severos de GEA y puntuación en la escala de gravedad en los grupos etarios	125
Tabla 49. Distribución de los aislamientos en los grupos de gravedad	127
Tabla 50. Distribución de los agentes productores de GEA en los grupos de gravedad	129
Tabla 51. Distribución de los genotipos G y P en los grupos de gravedad	130
Tabla 52. Distribución del sexo en los grupos de gravedad	131
Tabla 53. Relación de la edad con los grupos de gravedad	131
Tabla 54. Distribución de los parámetros clínicos en los grupos de gravedad	133
Tabla 55. Estancia hospitalaria en los grupos de gravedad	134

Tabla 56. Distribución de los factores epidemiológicos en los grupos de gravedad	134
Tabla 57. Aparición de IPLV en los grupos de severidad	135
Tabla 58. Análisis logístico multidimensional para puntuación de gravedad superior a 11	135
Tabla 59. Distribución de los casos por zona geográfica de la isla	137
Tabla 60. Incidencia de ingreso por GEA adquirida en la comunidad	138
Tabla 61. Incidencia de hospitalización por GEA asociada a rotavirus.....	138
Tabla 62. Frecuencia de GEA adquirida en la comunidad como motivo de ingreso ..	139
Tabla 63. Frecuencia de GEA por rotavirus como motivo de ingreso	139

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Apariencia de rueda del rotavirus en microscopía electrónica	6
Figura 2. Estructura del rotavirus	6
Figura 3. Clasificación de los rotavirus	10
Figura 4. Patogenia del rotavirus	12
Figura 5. Representación tridimensional del norovirus	13
Figura 6. Apariencia en estrella del astrovirus en microscopía electrónica	17
Figura 7. Estructura del adenovirus	20
Figura 8. Algoritmo de tratamiento según el grado de deshidratación	53
Figura 9. Mapa de coberturas vacunales de rotavirus en las comunidades autónomas españolas a marzo de 2015	57
Figura 10. Diagrama del proceso para detección de rotavirus	75
Figura 11. Flujo de datos	77
Figura 12. Distribución de los casos de la muestra según sexo	83
Figura 13. Distribución de los casos en los grupos etarios y distribución del sexo en cada uno de ellos	84
Figura 14. Distribución de los casos en los meses del estudio	84
Figura 15. Distribución de los gérmenes aislados más frecuentes en el tiempo de estudio.....	86
Figura 16. Frecuencia de aparición de los gérmenes en los 204 casos de la muestra	87
Figura 17. Distribución de los casos en los meses del estudio en función de su etiología	89

Figura 18. Distribución de los rotavirus en las dos temporadas del estudio	92
Figura 19. Estacionalidad del rotavirus como agente causal único de GEA o en coinfeción	93
Figura 20. Distribución de la coinfección rotavirus-astrovirus (solos o asociados a otros gérmenes)	93
Figura 21. Genotipos de los rotavirus aislados	94
Figura 22a. Distribución de las cepas de rotavirus con genotipo completo en los meses del estudio	98
Figura 22b. Distribución de las cepas de rotavirus con genotipo parcial e indeterminado en los meses del estudio	98
Figura 23. Distribución temporal de los genotipos G del rotavirus en los meses del estudio	100
Figura 24. Distribución temporal de los genotipos P del rotavirus en los meses del estudio	101
Figura 25. Distribución de los norovirus aislados en los meses del estudio de ambas temporadas	102
Figura 26. Estacionalidad de los casos de norovirus solos o en coinfección a lo largo del estudio	102
Figura 27. Comparativa de la estacionalidad del norovirus como agente etiológico único con la coinfección norovirus- <i>Salmonella</i>	103
Figura 28. Comparativa de la estacionalidad de las coinfecciones del norovirus con la coinfección norovirus- <i>Salmonella</i>	103
Figura 29. Comparativa de la estacionalidad de norovirus y rotavirus como único agente causal de GEA	104
Figura 30. Comparación de la estacionalidad de los rotavirus y norovirus aislados y su coinfección	105

Figura 31. Patrón estacional del astrovirus	107
Figura 32. Patrón estacional del adenovirus	108
Figura 33. Gérmenes aislados en cada grupo etario	110
Figura 34. Tipos de GEA en los grupos etarios	111
Figura 35. Distribución de las cepas de rotavirus con genotipo completo en los grupos etarios	113
Figura 36. Distribución de las cepas de rotavirus por grupo etarios.....	114
Figura 37. Genotipos G en los grupos de edad	115
Figura 38. Genotipos P en los grupos de edad	116
Figura 39. Casos con moco en las deposiciones en los grupos etiológicos.....	118
Figura 40. Casos con sangre en las heces en los grupos etiológicos	118
Figura 41. Casos con vómitos en los grupos etiológicos	119
Figura 42. Casos con fiebre en los grupos etiológicos	119
Figura 43. Casos con deshidratación en los grupos etiológicos	120
Figura 44. Casos de GEA severa en los grupos etiológicos	123
Figura 45. Distribución de las puntuaciones de gravedad en los grupos de edad	125
Figura 46. Distribución de los aislamientos en los grupos de gravedad	127
Figura 47. Distribución de la etiología de la GEA en los grupos de gravedad	128
Figura 48. Distribución de los genotipos G y P en los grupos de severidad	130
Figura 49. Relación de la edad con los grupos de gravedad	132

Figura 50. Distribución de los parámetros clínicos en los grupos de gravedad	133
Figura 51. Efecto no lineal de la edad sobre la escala de severidad deducida del modelo aditivo	136
Figura 52. Evolución de los valores esperados de la escala de severidad según edades.....	137

ABREVIATURAS

AAP: Academia Americana de Pediatría

ADV: adenovirus

AEMPS: Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios

AEP: Asociación Española de Pediatría

AEV: Asociación Española de Vacunología

ARN: ácido ribonucleico

ARNm: ácido ribonucleico mensajero

ASTV: astrovirus

c-ADN: ácido desoxirribonucleico clonado

CDC: Centro de Control de Enfermedades

CDS: Children Dehydration Score. Escala de Deshidratación Infantil

CHUIMIC: Complejo Hospitalario Universitario Insular Materno Infantil de Canarias

CNM: Centro Nacional de Microbiología Instituto de Salud Carlos III

GEA: gastroenteritis aguda

EEUU: Estados Unidos

EIA: enzimoinmunoanálisis

ELISA: ensayo por inmunoadsorción ligado a enzimas

EMA: Agencia Europea del Medicamento

ESPGHAN: Sociedad Europea de Gastroenterología Hepatología y Nutrición Pediátrica

ESPID: Sociedad Europea de Enfermedades Infecciosas Pediátrica

FDA: Food and Drug Administration

ICR: inmunocromatografía

IgA: inmunoglobulina A

IgG: inmunoglobulina G

IgM: inmunoglobulina M

IME: inmunomicroscopía electrónica

IQR: rango intercuartílico

IV: intravenosa

Kb: kilobases

kD: kiloDalton

ME: microscopía electrónica

NSP: proteínas no estructurales

NV: norovirus

OMS: Organización Mundial de la Salud

Pb: pares de bases

PCR: reacción en cadena de la polimerasa

PROTECT: The Pediatric European Rotavirus Comitee

RFLPs: polimorfismos de fragmentos de restricción

RT-PCR: transcripción inversa de la reacción en cadena de la polimerasa

RV: rotavirus

SEGHPN: Sociedad Española de Gastroenterología Hepatología y Nutrición
Pediátricas

SEIP: Sociedad Española de Infectología Pediátrica

SRO: solución de rehidratación oral

TRO: terapia de rehidratación oral

UNICEF: Fondo de Naciones Unidas para la Infancia

VLP: partículas similares a virus

VP: proteínas estructurales

INTRODUCCIÓN

1. INTRODUCCIÓN

1.1 CONCEPTO DE GASTROENTERITIS AGUDA

La gastroenteritis aguda (GEA) se define generalmente como una disminución en la consistencia de las heces (líquidas o blandas) y/o un aumento en la frecuencia de las evacuaciones (típicamente >3 en 24 horas), con o sin fiebre o vómitos. Es más significativo un cambio en la consistencia de las heces con respecto a la anterior que el número de deposiciones diarias, en particular en los primeros meses de vida. La diarrea aguda dura normalmente menos de 7 días y no más 14 días (1).

Aunque se pueden considerar otras etiologías, la principal causa de GEA son las infecciones entéricas (2). Estas infecciones pueden ser producidas por bacterias, parásitos o virus (3). Tanto en los países industrializados como en los países en desarrollo, los virus son la causa predominante de diarrea aguda (DA) (4).

La enfermedad diarreica aguda es uno de los principales problemas de salud pública, de mortalidad y morbilidad a nivel mundial (5,6). Según la Organización Mundial de la Salud (OMS) y el Fondo de Naciones Unidas para la Infancia (UNICEF), cada año hay cerca de 2 billones de casos de diarrea y 1,9 millones de niños menores de 5 años mueren de diarrea anualmente (4). Sin embargo, el problema para la salud pública es diferente según el país. En los países industrializados, la diarrea infecciosa es principalmente un problema de morbilidad y coste económico (5) ya que son relativamente pocos los pacientes que mueren por este proceso (4). En los países con bajos ingresos económicos se le añade a lo anterior la mortalidad.

1.2 REPASO HISTÓRICO DE LA GEA DE ORIGEN VÍRICO

En el año 1929, el pediatra John Zahorsky llamó “enfermedad emética del invierno” (*Hyperemesis heimis or the Winter vomiting disease*)(7) a los brotes de esta enfermedad que se acompañaba de diarrea en gran parte de los pacientes.

Uno de esos brotes ocurrió en una escuela de Gran Bretaña en el año 1963. Enfermaron 142 de 830 escolares. Los intentos por identificar la causa infecciosa fueron infructuosos, pero se congelaron las muestras fecales de uno de esos pacientes que en años posteriores fueron utilizadas en un experimento. En dicho experimento, se le administraba a los voluntarios una emulsión fecal abacteriana en una bebida, demostrándose la transmisibilidad de la enfermedad. Los resultados fueron publicados en 1972 por Clarke y cols. en el *British Medical Journal* (8).

El brote de 1968 que sufrió una escuela de la localidad llamada Norwalk en Ohio (EEUU), fue denominado como brote de la enfermedad emética del invierno. Las muestras recogidas las utilizó un grupo de investigadores años después. Bajo la dirección de Albert Kapikian, identificaron mediante inmunomicroscopía electrónica (IME) en las heces unos conglomerados de partículas redondas que resultaron ser el agente causal de aquel brote. Este estudio fue publicado en el *Journal of Virology* (9). Aunque desde la década de 1940, los investigadores consideraban a los virus como agentes potenciales productores de gastroenteritis y los primeros virus entéricos fueron descubiertos en los años 50 y 60, no fueron capaces de asociarlos con la enfermedad diarreica (10). Así, Kapikian ha pasado a la historia como el primero que logró demostrar el papel causal de un virus en cuadros de gastroenteritis humana.

Si 1972 fue el año del virus Norwalk, el año 1973 lo fue del rotavirus (RV), cuando Ruth Bishop encontró viriones en biopsias de mucosa duodenal extraídas de lactantes y niños mayores hospitalizados por diarrea aguda (11).

En 1975, se identificaron astrovirus (ASTV) y adenovirus entéricos (ADV) en la materia fecal de pacientes pediátricos con diarrea aguda. Desde entonces aumentó de manera constante la cantidad de virus asociados a GEA. Virus como coronavirus, picobirnavirus, pestivirus y torovirus, productores de diarrea en animales, han surgido como causa de GEA en los seres humanos (12). Los coronavirus fueron implicados por primera vez como causa de diarrea en 1975 y los torovirus, descubiertos por primera vez en las heces de niños con gastroenteritis en 1984, se han asociado tanto con casos de diarrea aguda como persistente, y podrían tener un papel en la etiología de la GEA nosocomial (13).

1.3 DESCRIPCIÓN DE LOS AGENTES VIRALES CAUSANTES DE GEA

Se han definido cuatro grandes categorías de virus asociados a GEA en humanos: rotavirus, adenovirus entéricos, calicivirus humanos y astrovirus (14). En la tabla 1 se recogen sus principales características.

	Rotavirus	Norovirus	Astrovirus	Adenovirus
Ácido nucleico	ARN monocatenario	ARN monocatenario	ARN monocatenario	ADN doble cadena
Tamaño (nm)	75	35-39	27-30	80-110
Envoltura	No	No	No	No
Familia	Reoviridae	Caliciviridae	Astroviridae	Adenoviridae

Tabla 1. Características principales de los virus causantes de GEA.

1.3.1 ROTAVIRUS

1.3.1.1 Morfología

El nombre de rotavirus deriva de la palabra latina rota que significa “rueda” (figura 1), en referencia al aspecto del virión en las imágenes de microscopio electrónico teñidas en negativo (15). El género rotavirus pertenece a la familia Reoviridae. Estos virus sin envoltura se caracterizan por tener una morfología icosaédrica con una cápside de tres capas concéntricas de 60 a 100 nanómetros de diámetro (14, 16) y un genoma segmentado bicatenario en su interior.

1.3.1.2 Estructura viral

El genoma del RV consta de 11 segmentos de doble cadena de ácido ribonucleico (ARN) que codifica seis proteínas estructurales (VP) y seis proteínas no estructurales (NSP) (figura 2). La cápside consta de una capa interior formada por VP1, VP2 y VP3, que engloba al genoma; una capa intermedia constituida por VP6; y una capa exterior compuesta por VP7 y proyecciones de VP4 (15). En la microscopía

electrónica, VP4 da la apariencia de radios de una rueda al RV, mientras que VP7 da al virus su superficie lisa (17).

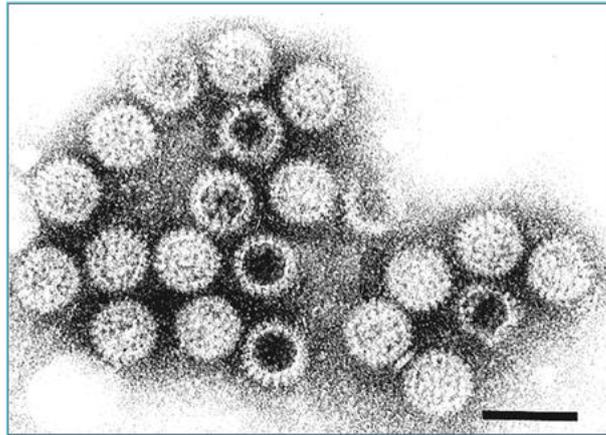


Figura 1. Apariencia de rueda del rotavirus en M.E.

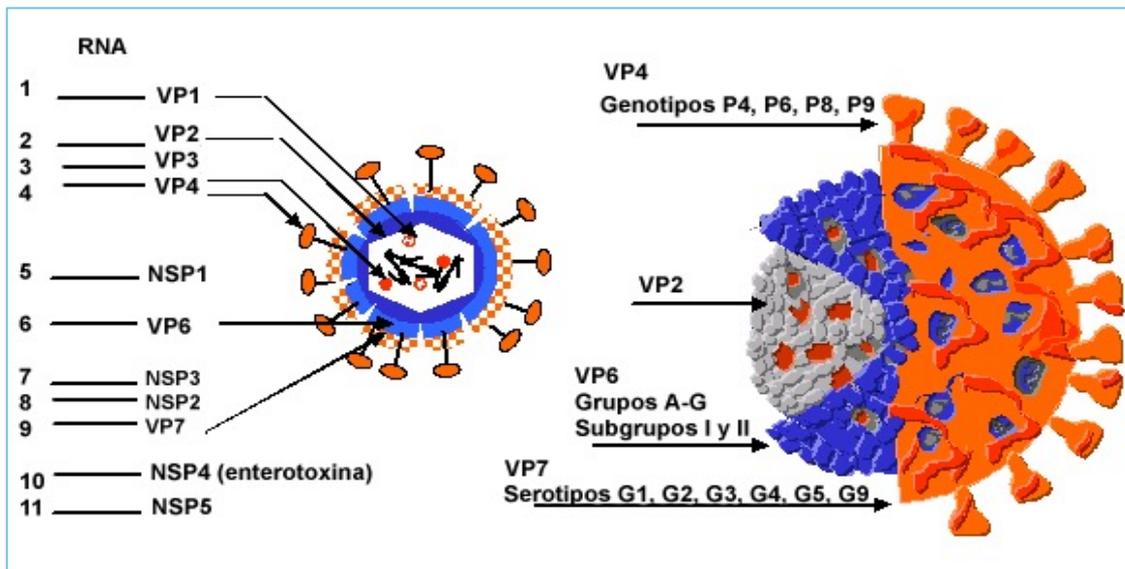


Figura 2. Estructura del rotavirus.

Genoma viral

Esfuerzos de secuenciación a gran escala recientes han revelado que el genoma de los RV humanos consiste en constelaciones filogenéticamente vinculadas de once segmentos de ARN de doble cadena. Cada segmento del genoma codifica una proteína,

excepto el segmento 11, que puede codificar dos (16) . Los segmentos de ARN tienen distintos tamaños. Van desde 667 pares de bases (pb) el segmento 11 a 3302 pb el segmento 1 (15). La segmentación del genoma posibilita el reordenamiento y la recombinación genética cuando las células se infectan con diferentes RV. Esta coinfección celular con diferentes cepas, puede producir un virus recombinante con segmentos de ARN de cada uno de los virus progenitores, estrategia utilizada en el campo de las vacunas (13,14).

Estructura proteica

El RV consta de 12 proteínas de las cuales, 6 son estructurales (VP1-4 y VP6-VP7) y 6 no estructurales (NSP1-6). La envoltura proteica del núcleo del virión está compuesta mayoritariamente de VP2 y a su cara interna se enganchan otras dos proteínas menos importantes VP1 (ARN polimerasa-ARN dependiente) y VP3 (guanilil-transferasa). La capa proteica media está formada íntegramente por VP6 y la externa la conforman VP4 y VP7. La VP4 forma las espículas características del RV y por medio de proteasas similares a la tripsina intestinal, se obtienen dos polipéptidos VP5 (forma el tallo y base de la espícula) y VP8 (conforma la cabeza globular de la prolongación) (16). Tanto VP6, VP7 y VP4 con sus respectivos fragmentos VP5 y VP8, tienen epítomos con alta capacidad antigénica capaces de inducir respuesta inmune en el anfitrión produciendo anticuerpos neutralizantes. Los principales determinantes antigénicos del RV son VP4 y VP7 y los anticuerpos neutralizantes que inducen se cree que son de tipo específico (18,19).

Las NSP soportan varias funciones de virus, incluyendo la replicación del genoma, el montaje de partículas, la regulación de la respuesta innata del anfitrión como la inducción de interferón y la estimulación de la expresión de genes virales (16). Las NSP se producen dentro de las células infectadas. No están claras todas las funciones que realizan estas proteínas ni los papeles que desempeñan pero son responsables de gran parte de la patogenicidad del virus. NSP3 se ha asociado con la diseminación sistémica, mientras NSP2, NSP5 y NSP6, están involucradas con la formación de viroplasmos citoplasmáticos. NSP4 es una enterotoxina clave en la diarrea y la malabsorción, responsable de la muerte celular, con actividad secretora (20) (tabla 2).

Segmento génico	Proteína	Peso (kDa)	Localización	Función
1	VP1	125	Core	ARN polimerasa
2	VP2	95	Core	Unión al ARN
3	VP3	88	Core	Guanilil transferasa
4	VP4 (VP5-8)	85 (58-27)	Capa externa	Hemaglutinina. Antígeno neutralización. Unión a la célula. Activación por medio de proteasa en VP5 y VP8
5	NSP1	53	No estructural	Unión al ARN
6	VP6	45	Capa media	Antígeno de grupo y subgrupo
7	NSP3	34	No estructural	Unión al ARN. Participa en la traducción del ARNm
8	NSP2	35	No estructural	Participa en la replicación del genoma
9	VP7	34	Capa externa	Antígeno de neutralización.
10	NSP4	20	No estructural	Ensamblaje viral. Enterotoxina
11	NSP5	26	No estructural	Unión al ARN
	NSP6	11	No estructural	Interactúa con NSP5. Presente en el viroplasma

Tabla 2. Características de las proteínas estructurales y no estructurales del rotavirus.

1.3.1.3 Clasificación de los rotavirus

Los RV se clasifican mediante un esquema de grupos, subgrupos y múltiples genotipos dentro de cada grupo (21). Los serogrupos vienen determinados por la capacidad antigénica de la VP6 o más recientemente en función de secuencias de sus aminoácidos. Así se conocen 7 serogrupos (A-G). Más recientemente con evidencias filogenéticas se cree que existe algún serogrupo más (H) (16). Solamente 3 de estos

serogrupos son capaces de infectar humanos (A-C), siendo el A el responsable de la mayoría de los casos mundiales (21, 22, 23). Los serogrupos B y C detectados en humanos no parecen tener importancia epidemiológica fuera de China, donde RV del grupo B se ha asociado con varios grandes brotes de diarrea grave, predominantemente en adultos (24).

Cada uno de estos serogrupos se subdivide en subgrupos definidos por las proteínas de superficie VP7 y VP4. Estos subgrupos se denominan serotipo o genotipo en función de si se ha obtenido su tipificación a través de métodos inmunológicos o de biología molecular (figura 3). Así, la glicoproteína VP7 determina el tipo G y la proteína sensible a proteasa VP4 determina el tipo P (20,22,23). La cantidad de tipos G y P se ha ido incrementando a lo largo del tiempo con el avance de los métodos de detección. La genotipificación por transcripción inversa de la reacción en cadena de la polimerasa (RT-PCR) o ácido desoxiribonucleico clonado (c-ADN) ha sustituido a la serotipificación. Así como el serotipo y genotipo G son concordantes para todos los descritos, no ocurre lo mismo para los tipos P; donde se han descrito más genotipos que serotipos. Por tanto, cuando un tipo P de un RV se ha clasificado por métodos moleculares, el tipo se expresa entre paréntesis o corchetes para diferenciarlo del clasificado por métodos serológicos; por ejemplo G1P[8] (20,25). Se conocen 27 genotipos G (G1-27) y 35 genotipos P (P1-35) (16). Los serotipos P1, P2 y P5 se dividen a su vez en P1A, P1B, P2A, P2B, P5A y P5B si se tienen en cuenta los genotipos (13).

La naturaleza segmentada del genoma del rotavirus y la recombinación de genes teóricamente permite casi 800 diferentes combinaciones de genotipos G y P, resultando en la formación de nuevos RV reordenados, con nuevas combinaciones potenciales de antígeno (26). Cepas de virus pertenecientes a diferentes grupos de RV parecen no ser capaces de intercambiar segmentos de genoma, durante la coinfección. En contraste, cepas de virus que pertenecen al mismo grupo pueden recombinar sus genomas, proporcionando un mecanismo para la evolución de nuevos virus (16). Pueden ocurrir muchas combinaciones de éstos en naturaleza. Sin embargo, no todos infectan a los humanos (20). La enorme diversidad de RV observadas a nivel mundial se genera a través de varios mecanismos: mutaciones, recombinación genética, reordenamiento

genómico (delecciones, duplicaciones o inserciones), o recombinación intragénica. Aunque se han identificado 60 combinaciones G/P en humanos (26), las combinaciones G1P[8], G2P[4], G3P[8], G4P[8], y G9P[8] constituyen el 90-95% de las cepas de RV circulantes, datos publicados a 2012 (22,25,26). De año a año y de lugar a lugar los tipos circulantes y sus combinaciones pueden cambiar drásticamente.

Recientemente se sugiere que el sistema de clasificación binaria G/P es limitado, ya que ignora todos menos dos (los que codifican VP4 y VP7) de los once genes virales. El sistema binario no proporciona la información necesaria para evaluar plenamente la diversidad genética, la dinámica evolutiva y relaciones de RV cocirculantes. Aplicando tecnologías de secuenciación de alto rendimiento que permiten la secuenciación del genoma completo de las cepas de RV, se ha creado un sistema completo de clasificación basado en la secuencia genética. Este sistema permite que cada segmento del genoma del virus pueda ser asignado a un genotipo particular (16).

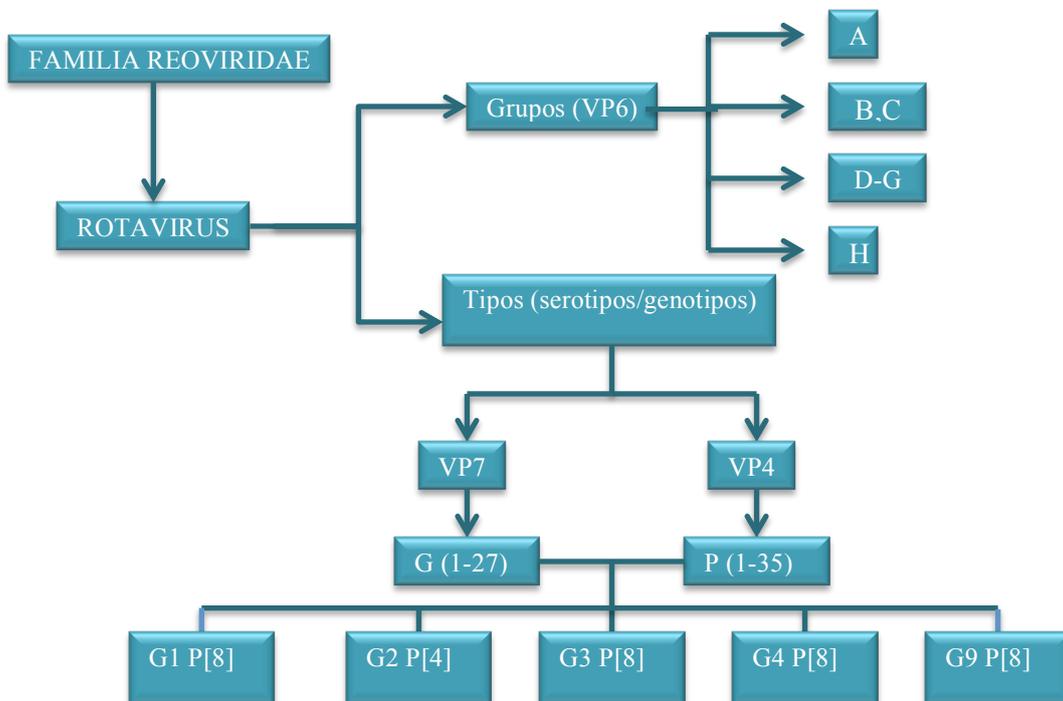


Figura 3. Clasificación de los rotavirus.

La secuenciación completa del genoma ha revelado que los genes internos de las cepas G1P[8], G3P[8], G4P[8], y G9P[8] casi invariablemente pertenecen al genotipo 1.

Cuando hay excepciones, por lo general sólo 1 o 2 de los genes internos están involucrados. Los virus que tienen estas constelaciones de genes pertenecen al genogrupo 1. La secuencia genética ha revelado que los genes internos de las cepas G2P[4] normalmente pertenecen al genotipo 2. Los virus con esta constelación de genes se los conoce como genogrupo 2 (16).

1.3.1.4 Patogenia y respuesta inmune

El RV infecta las células intestinales maduras, aquellos enterocitos que ya no tienen capacidad de dividirse. Estas células ocupan la parte alta de las vellosidades intestinales y están especializadas en la absorción (16,20). La unión del RV y el enterocito se produce por medio de receptores primarios y secundarios que no están del todo caracterizados. Una vez dentro de la célula, se produce la replicación exclusivamente en el citoplasma donde posteriormente se ensamblan los nuevos viriones. Las nuevas partículas virales se liberan de dos maneras: por lisis en las células no polarizadas y por medio de exocitosis, antes de que los efectos citopáticos sean evidentes en las células polarizadas (15). Existen pocos cambios inflamatorios si es que están presentes. Además, la NSP4 tiene actividad como enterotoxina y estimula la función del sistema nervioso entérico, produciéndose la liberación de calcio intracelular que induce la rotura de las uniones estrechas entre las células, con secreción de líquido al lumen. Todo ello da lugar a una disminución de la absorción de sodio, agua y de la liberación de enzimas digestivas. Hidratos de carbono, grasas y proteínas pasan al colon, dando como resultado diarrea (20) (figura 4).

La detección de antigenemia y viremia demuestra que el RV es capaz de salir del tracto intestinal. Esta acción parece realizarla a través de las células M que se encargan de transportar antígenos y que se superponen a las placas de Peyer (17). En los estudios que lo evalúan se detecta antígeno viral hasta en el 90% de los niños con heces positivas a RV. La viremia se ha detectado hasta en el 100% de los sueros de los niños con antígeno positivo en plasma (20). La medida de los anticuerpos IgA séricos o en heces es el mejor marcador de la protección frente a los rotavirus ya que la antigenemia tiene una relación inversamente proporcional con estos parámetros. Este tipo de anticuerpos se utiliza para evaluar la eficacia de las vacunas (20,13). Se producen además anticuerpos neutralizantes frente a las proteínas de la cápsula viral externa, media e

interna, VP4-VP7, VP6 y VP2 respectivamente (15,18,19). Los linfocitos T CD8 ayudan a acortar el curso de las infecciones primarias. El interferón también puede ayudar a contener la severidad de la infección por rotavirus y prevenir la diseminación sistémica (20). La NSP4 estimula la producción de interferón.

La primoinfección natural da lugar a la producción de anticuerpos específicos contra el serotipo infectante. Estos anticuerpos dan protección parcial contra futuras reinfecciones por otros serotipos. En cada infección hay una respuesta humoral homotípica y heterotípica (13). Esto hace que el cuadro clínico sea cada vez más leve aunque el serotipo del nuevo RV difiera del anterior. Dos infecciones protegen de las formas moderadas-graves de diarrea, independientemente del serotipo (15).

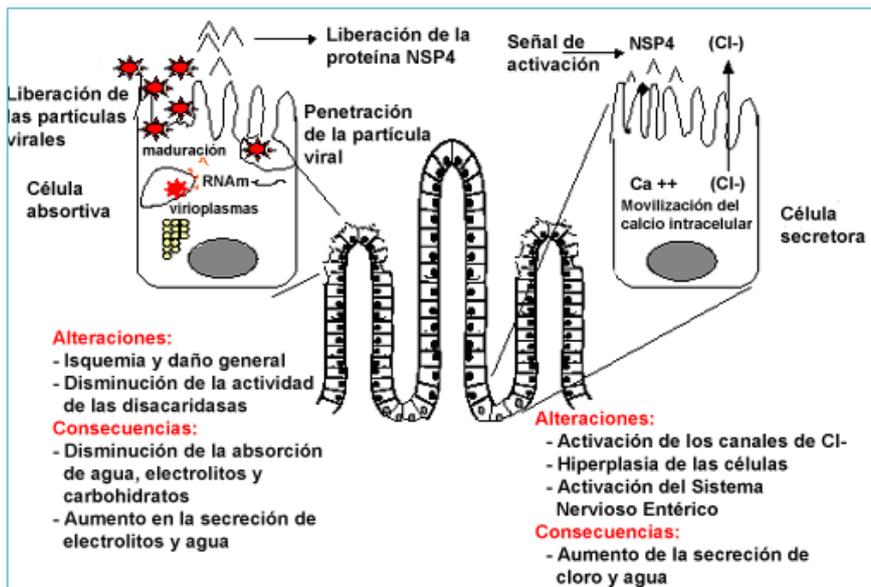


Figura 4. Patología del rotavirus.

1.3.2 NOROVIRUS

1.3.2.1 Morfología

Los norovirus (NV) pertenecen a la familia Caliciviridae. Son virus no envueltos de aproximadamente 38 nm con cápsula icosaédrica y cavidades similares a cálices o copas que envuelve una cadena de genoma sencillo (3) (figura 5). Fueron los primeros

virus asociados a GEA por el descubrimiento de Kapikian, quien por primera vez en 1972 vinculó el calicivirus 'prototipo', el virus Norwalk, a un brote de gastroenteritis en una escuela en Norwalk, Ohio (17).

1.3.2.2 Estructura viral

El genoma consiste en una cadena sencilla de ARN de polaridad positiva de 7,5 (pb) que se organiza en 3 secuencias de lectura abierta (ORF). La ORF1 codifica una poliproteína que posteriormente es escindida por la proteinasa viral, dando lugar a seis proteínas no estructurales como la ARN polimerasa-ARN dependiente y la helicasa; que son importantes para la replicación del virus en la célula infectada. La ORF2 es la que codifica la proteína mayor de la cápside VP1, que determina la especificidad de la cepa y la unión celular. La ORF3 expresa la proteína menor de la cápside VP2, importante para el ensamblaje del virus (27,28). La cápside proteica de morfología icosaédrica está constituida por 180 moléculas que se pliegan en 90 dímeros formando una cubierta continua con protrusiones en forma de arco (13). La VP1 tiene un dominio “shell” (S) y dos subdominios que sobresalen (P1 y P2). Se requiere el dominio S codificado por linajes genéticos conservados para iniciar el ensamblaje de la cápside. El subdominio P1 es poco variable y desempeña un papel en la estabilización de las partículas virales. El subdominio P2 es la región más externa, es muy variable y está involucrado en la interacción con potenciales anticuerpos neutralizantes y con antígenos de grupo sanguíneo. Este es el sitio de unión inicial en el establecimiento de la infección en humanos (28, 29).

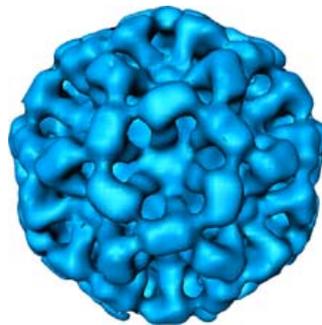


Figura 5. Representación tridimensional del norovirus.

1.3.2.3 Clasificación

No se ha conseguido aislar ni cultivar norovirus humanos en cultivos celulares. Uno de los avances más importantes lo constituyó en 1990 la clonación del genoma del virus Norwalk, ya que permitió aplicar las técnicas RT-PCR y de secuenciación al estudio de estos virus, además de expresar *in vitro* proteínas víricas en sistemas de expresión en organismos procariotas y eucariotas (3). Debido a la incapacidad de cultivo del virus en medios celulares, la clasificación y el estudio epidemiológico ha sido dificultoso hasta que se dispusieron de técnicas moleculares sensibles. La familia Caliciviridae consta de cuatro géneros: Norovirus, Sapovirus, Lagovirus y Vesivirus. Se ha propuesto la inclusión del género Nebovirus (3,17). De estos géneros sólo Norovirus y Sapovirus afectan a humanos (21). Basándose en estas técnicas, los NV se clasifican en función del análisis filogenético de la región ORF2 que codifica la VP1 y el lugar donde fue descrito por primera vez (3,17,27) (tabla 3).

Este género se ha propuesto que sea dividido en 5 genogrupos (GI, GII, GIII, GIV y GV) (3,13,17,21), que a su vez constan de diferentes genotipos y variantes o subgenotipos. Los genotipos y sus variantes se obtienen por la secuenciación de la ARN polimerasa o de la cápside (29). Las cepas de NV que afectan humanos pertenecen a los genogrupos GI, GII y GIV con 8, 17 y 1 genotipos, respectivamente (13,27). El genotipo GII.4 es el más frecuentemente aislado en el mundo (3,13,30). Los NV de GIII y GV hasta el momento sólo se han encontrado en animales con 2 genotipos y 1 genotipo respectivamente (21). Los GII y GIV albergan cepas humanas y animales, lo que sugiere que pueda haber recombinación interespecie como ocurre entre cepas humanas de un mismo genogrupo (31).

Genogrupo	Genotipo	Virus de referencia	Genogrupo	Genotipo	Virus de referencia
I	1	Norwalk/68/US	II	8	Amsterdam/98/NL
I	2	Southampton/91/UK	II	9	VABeach/01/US
I	3	Desert Shield 395/90/SA	II	10	Erfurt/U01/DE
I	4	Chiba 407/87/JP	II	11	SW918/01/JP
I	5	Musgrove/89/UK	II	12	Wortley/R00/UK
I	6	Hesse 3/97/GE	II	13	Fayetteville/02/US
I	7	Winchester/94/UK	II	14	M7/03/US
I	8	Boxer/02/US	II	15	J23/02/US
II	1	Hawaii/71/US	II	16	Tiffin/03/US
II	2	Melksham/94/UK	II	17	CS-E1/03/US
II	3	Toronto/24/91/CA	III	1	BoJena/98/DE
II	4	Bristol/93/UK	IV	2	BoCH126/00/NL
II	5	Hillingdon/90/UK	IV	1	Alphatron/98/NL
II	6	Seacroft/90/UK	V	1	MNV-1
II	7	Leeds/90/UK			

Tabla 3. Genogrupos, genotipos y cepas de referencia de norovirus.

1.3.2.4 Patogenia y respuesta inmune

El conocimiento del ciclo vital de los NV es discreto dado la imposibilidad de su cultivo en líneas celulares (28). La secuenciación de la proteína de la cápside y su expresión en sistemas de expresión de proteínas como baculovirus o el virus de la encefalitis venezolana ha sido un gran avance. Esta proteína se autoensambla en partículas pseudovíricas que tienen la misma morfología y capacidad antigénica que el virión infectivo. Las partículas pseudovíricas han servido para estudiar las interacciones entre las células susceptibles y el virus, así como producir antígenos y determinar la respuesta a anticuerpos (3).

Se han identificado factores de susceptibilidad a la infección por norovirus constituidos por grupos de antígenos histosanguíneos (ABO, Lewis y secretor) que están implicados en la unión de dichos virus a los enterocitos. Aunque pueden existir otros receptores adicionales, los antígenos de grupo histosanguíneo de la superficie celular se unen de manera específica a cada cepa de NV y su expresión variable puede explicar la distinta susceptibilidad a la infección. Contrariamente a lo esperado, los individuos con títulos más elevados de anticuerpos séricos o de coproanticuerpos tienen más probabilidad de infectarse con el virus que las personas con concentraciones bajas de anticuerpos. Este hecho se explica porque las personas sin anticuerpos frente a una cepa determinada de norovirus no son genéticamente susceptibles a ella ya que el virus no puede adherirse (3). Mediante estudios en voluntarios se ha observado por ejemplo, que el virus Norwalk no es capaz de infectar a los individuos no secretores (fenotipo Bombay, no producen antígeno H del que se obtienen A y B) ni al tipo B pero si al A y 0 (sólo produce antígeno H) (32,33). Por tanto, no todos los NV pueden infectar a los seres humanos, pero prácticamente todos los seres humanos son susceptibles de padecer GEA por NV ya que la mayoría de los diferentes patrones de antígenos histosanguíneos permiten la unión a alguna cepa de NV. La cepa de NV con más rango para asociarse a los diferentes antígenos será la más frecuentemente aislada (34).

Los individuos infectados desarrollan una respuesta inmunitaria después de la infección predominantemente tipo específica. Aunque puede existir cierto grado de reactividad cruzada entre distintos genotipos, la protección generada ante subsecuentes infecciones, es de corta duración. Se producen en cada infección anticuerpos IgM, IgA e IgG aunque se haya padecido previamente. El efecto protector de estos anticuerpos comienza a perderse a partir del sexto mes de la infección. Este hecho hace que la infección por NV se pueda padecer a lo largo de la vida a diferencia de RV, ADV y ASTV que afectan preferentemente a niños (3,35).

1.3.3 ASTROVIRUS

1.3.3.1 Morfología

Los astrovirus pertenecen a la familia Astroviridae y fueron descubiertos en heces de niños con diarrea en 1975 a través de microscopía electrónica. El nombre

astrovirus deriva de la palabra griega "*Astron*" (estrella) y describe la característica forma de estrella de cinco o seis puntas detectable por microscopía electrónica de los viriones (17) (figura 6). Aunque cabe señalar que la apariencia habitual es icosaédrica y las proyecciones que dan la forma de estrella son dependiente del pH (elevado) (13) y sólo están presentes en menos del 10% de los virus. De hecho, en algunos casos los ASTV podrían ser identificados erróneamente como enterovirus o provisionalmente llamados partículas similares a astrovirus (36). Estos virus miden entre 27-40 nm, no tienen envoltura y su cápside engloba una cadena de ARN sencilla.

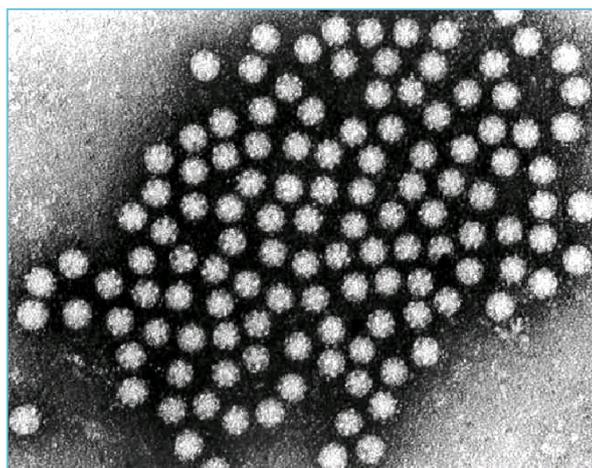


Figura 6. Apariencia en estrella del astrovirus en M.E.

1.3.3.2 Estructura viral

El genoma del ASTV consta de una hebra sencilla de ARN de sentido positivo de 6,8-7,9 kb que incluye una región no traducida en el extremo 5' (UTR), seguido por tres secuencias de lectura abierta (ORF1a, ORF1b y ORF2), un UTR 3' y una cola poli-A. ORF1a y ORF1b codifican proteínas no estructurales implicadas en la replicación viral como una proteasa y una ARN polimerasa dependiente de ARN. ORF2 se expresa desde un ARN subgenómico y codifica una poliproteína de 87 kD que da lugar, al menos, a 3 proteínas estructurales (VP26, VP29 y VP32) de la cápside del virus (13,36).

1.3.3.3 Clasificación

La familia Astroviridae se divide en dos géneros: Mamastrovirus, que afectan a mamíferos (humanos y animales); y Avastrovirus, los astrovirus aviarios (17, 36). La taxonomía de esta familia tiene en cuenta las especies de origen. A los serotipos asignados a la especie se le dan números consecutivos. Las proteínas de la cápside, especialmente la VP26, parecen ser las responsables de la variación antigénica de los distintos serotipos. Los genotipos vienen determinados por la secuencia de nucleótidos del genoma. La longitud de cada secuencia varía entre las especies y serotipos. Desde un punto de vista genético, ORF1b parece ser el menos variable y ORF2 la más heterogénea por lo que es la propuesta para diferenciar los genotipos. Lamentablemente, los ASTV no crecen fácilmente en el laboratorio siendo su clasificación serológica difícil y sólo están disponibles un mínimo número de secuencias genómicas completas de estos virus. Sin embargo, existe una buena correlación entre serotipos y genotipos. Se establece que si dos cepas de ASTV tienen menos de 95% de homología a nivel de nucleótidos, son serológicamente distinguibles (13,36).

Los ASTV humanos se han agrupado en 8 serotipos-genotipos (ASTV humanos 1-8) (13, 21, 36, 37). Los ASTV humanos tienen una distribución mundial y múltiples tipos antigénicos co-circulan en la misma región. Actualmente el serotipo 1 es el más frecuentemente detectado en la mayoría de estudios (13,37).

1.3.3.4 Patogenia y respuesta inmune

El modo de unión del ASTV a la célula es desconocido. El receptor al que se une no está identificado y la misma línea celular puede ser infectada o inmune a distintos tipos de ASTV. Tampoco se conoce el modo de entrada, pero parece ser que la endocitosis juega un papel importante. Los primeros estudios demuestran partículas virales en vesículas recubiertas y además se impide su entrada con inhibidores de la endocitosis. Una vez dentro se libera el genoma viral y comienza su replicación. La proteína de la cápside viral es capaz de inhibir la activación del complemento tanto por la vía clásica como por la de la lectina. Fue el primer virus icosaédrico no envuelto del que se descubre esta propiedad. La proteína de la cápsula también hace de enterotoxina aumentando la separación entre células interrumpiendo los complejos de unión estrecha

incrementando la permeabilidad capilar. Este efecto lo consigue sin necesidad de replicación viral (36).

El ASTV produce vacuolización y posterior muerte celular, atrofia vellositaria, e infiltrados inflamatorios en la lámina propia, causando diarrea osmótica (12).

La seroprevalencia frente a ASTV aumenta marcadamente en los primeros años de edad. Aunque las reinfecciones por diferentes serotipos son posibles a lo largo de la vida, la mayoría de las infecciones sintomáticas ocurren en menores de dos años. Esto sugiere que tras la primoinfección se puede desarrollar algún tipo de inmunidad que proteja frente a infecciones posteriores. Las proteínas de la cápside VP26 y/o VP29 parecen desempeñar una función importante en la producción de anticuerpos neutralizantes heterotípicos (35).

1.3.4 ADENOVIRUS

1.3.4.1 Morfología

Los adenovirus (ADV) humanos pertenecen a la familia Adenoviridae. Son virus no envueltos de 70-90 nm con una cápsula de simetría icosaédrica de la que sobresalen estructuras llamadas fibras (figura 7). La cápside engloba una cadena doble de ácido desoxirribonucleico (ADN) (13, 21). Son los únicos virus de ADN entre los cuatro patógenos virales habituales que producen GEA en niños (21).

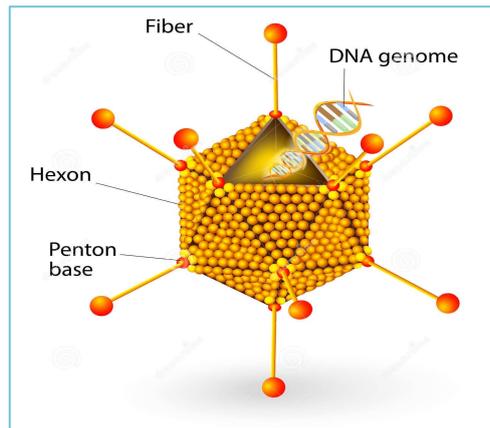


Figura 7. Estructura del adenovirus.

1.3.4.2 Estructura viral

La cápside de los ADV consta de 252 capsómeros, 240 hexones y 12 pentones. Los hexones se disponen formando los laterales de la envoltura proteica y los pentones los vértices. De cada vértice sobresalen unas proteínas triméricas llamadas fibras de tamaño variable. La proteína de la fibra contiene tres dominios estructurales: la cola, el eje y el pomo. El dominio de la cola es el sitio de unión para la base del pentón. El dominio eje muestra varias longitudes entre los tipos de ADV, lo que da distintas flexibilidades a la fibra y diferencias en la interacción con las integrinas de la célula huésped. El dominio pomo de la fibra, situado en el extremo distal de la proteína, une el virus al receptor de la célula huésped (38). Las proteínas menores de la cápside IIIa, VI, VIII, y IX confieren estabilidad al hexón y juegan un papel en los eventos que suceden después de la internalización tales como la penetración del endosoma, la activación de la transcripción y la reorganización nuclear. Proteínas adicionales en el núcleo de la cápside (V, VII, y X la proteína terminal) interactúan con el ADN viral, por ejemplo, facilitando el transporte en el núcleo de la célula infectada o estabilizando el ADN actuando como histonas (38,39). En la tabla 4 se muestran las proteínas del ADV y sus funciones.

El genoma consiste en una molécula lineal de ADN bicatenario de 37 kb que codifica entre 30-40 genes y representa el 15% de la masa viral (13). Se encuentra asociado a proteínas y juntos conforman el core viral. Los genes virales se organizan en

cinco unidades transcripcionales, de las cuales cuatro se corresponden a los genes de la fase muy temprana y temprana (E1-AB, E-2, E-3 y E-4), la quinta unidad comprende a los genes tardíos (E-5) (40).

Nombre	Localización	Función conocida
II	Monómero de hexón	Estructural
III	Base pentón	Penetración
IIIa	Asociado con base pentón	Penetración
IV	Fibra	Unión a receptor, hemoaglutinación
V	Núcleo: asociado con ADN y base pentón	Similar a histona; empaquetamiento
VI	Polipéptido menor hexón	Estabilización/ensamblaje de partículas
VII	Núcleo	Similar a histona
VIII	Polipéptido menor hexón	Estabilización/ensamblaje de partículas
IX	Polipéptido menor hexón	Estabilización/ensamblaje de partículas
TP	Proteína terminal del genoma	Replicación del genoma

Tabla 4. Proteínas de los adenovirus.

1.3.4.3 Clasificación

La familia Adenoviridae consta de 2 géneros: Mastadenovirus y Aviadenovirus que infectan a mamíferos y aves, respectivamente. Los ADV humanos se clasifican en serotipos de los que se conocen 51 y que se agrupan en seis subgéneros (A-F) (17,21). La distribución de los serotipos en los diferentes subgéneros se muestra en la tabla 5. Los adenovirus se han asociado con un espectro de clínica amplio incluyendo

presentaciones respiratorias, gastrointestinales, oculares e infecciones del tracto urinario (21).

La mayoría de los ADV entéricos pertenecen al subgénero F. Aunque otros adenovirus como el 3 y el 7 pueden producir diarrea, la mayoría de los casos están producidos por los serotipos 40 y 41 que pertenecen a dicho subgénero (13,17,21). El tropismo de estos serotipos por causar enfermedad gastrointestinal no está explicado (21).

Subgénero	Hemaglutinación	Serotipo
A	Ninguna	12,18,31
B	Completa (monos)	3,7,11,14,16,21,34,35
C	Parcial (ratas)	1,2,5,6
D	Completa (ratas)	8,9,10,13,15,17,19,20,22-30,32,33,36,39
E	Parcial (ratas)	4
F	Parcial (ratas)	40,41

Tabla 5. Clasificación de los adenovirus humanos.

1.3.4.4 Patogenia y respuesta inmune

La predilección de los adenovirus por la célula diana en el caso de la GEA es evidente, ya que la inmensa mayoría de los casos se produce por las cepas 40 y 41. Estas cepas tienen afinidad por las células epiteliales de las microvellosidades alterando el borde en cepillo intestinal (40). La lesión se caracteriza por atrofia de las vellosidades con hiperplasia de las criptas y la consiguiente pérdida de fluidos y malabsorción (12). La unión celular se produce por medio de los extremos de las fibras de la cápsula con los receptores del complejo mayor de histocompatibilidad y el receptor coxsakie-adenovirus. La internalización del virus se produce por endocitosis en vesículas revestidas por clatrina. La membrana de la vesícula fagocítica se rompe por acción tóxica del pentón. Se produce entonces la liberación de la partícula viral dentro del

citoplasma, con pérdida de proteínas de la cápside y denudamiento del ADN viral que migra al núcleo celular. Las proteínas estructurales se sintetizan en el citoplasma donde empieza el ensamblaje, las cuales, viajan al núcleo celular para dotarse de ADN replicado y terminar la formación de los nuevos viriones.

El ADV produce tres tipos de infección (39). Una infección lítica en la que se produce el ciclo viral completo produciéndose múltiples copias en las células epiteliales. Una infección latente de características crónicas que se produce en las células linfoides donde se transcriben factores que favorecen la producción de citoquinas inflamatorias como interleuquina 8 y factor de necrosis tumoral alfa con la consiguiente amplificación del proceso inflamatorio. Por último, sucede una transformación oncogénica en la que productos de los genes tempranos virales inhiben a los antioncogenes celulares. La citolisis es el principal mecanismo implicado en la producción de GEA.

Una vez el adenovirus se pone en contacto con la célula epitelial intestinal se activan los sistemas de defensa: acción del sistema mucociliar; mecanismos celulares y humorales, como la IgA secretora y acción de células linfoides; así como una respuesta sistémica temprana con la síntesis de citoquinas (39). Los anticuerpos neutralizantes protegen contra futuras infecciones del mismo serotipo (12), aunque se ha documentado un elevado efecto de neutralización cruzada entre algunos serotipos. Este hecho abre nuevas perspectivas sobre la posible utilidad de una vacuna frente a estos virus (41).

1.4 FISIOPATOLOGÍA

La principal consideración fisiopatológica en la diarrea es una anomalía del transporte del agua y electrolitos a través de la mucosa intestinal, con una ruptura de su ciclo enterosistémico y balance de agua negativo.

La diarrea se produce cuando la capacidad máxima de reabsorción de agua por parte del intestino le excede, bien por aumento del flujo de líquidos que le llega o bien por lesión de éste (42).

Los mecanismos principales en la producción de diarrea son: citopático, enterotóxico y enteroinvasivo.

En el mecanismo citopático la colonización de los enterocitos y posteriormente su descamación por la agresión de los microorganismos inducen un reemplazamiento rápido por las células de las criptas cuya función principal es secretora y que no adquieren su maduración absorbiva. Las vellosidades quedan acortadas, las criptas alargadas, disminuyendo la superficie de absorción. Afecta al intestino delgado, provocándose un defecto de absorción por los enterocitos inmaduros. Se puede asociar a diarrea osmótica. Los gérmenes principales de este mecanismo son los virus y los *Criptosporidium*.

En el mecanismo enterotóxico, el enterocito funciona al revés con una importante secreción y muy mala absorción al estimularse el sistema adenilciclasa. La diarrea persistirá hasta que los enterocitos afectados no se descamen. No existe lesión histológica en este tipo de diarrea, manteniendo la vellosidad su conformación anatómica. Los principales gérmenes implicados son *Vibrio cholerae* y *Escherichia coli* enterotoxigénico, entre otros.

En el mecanismo enteroinvasivo existe una invasión de la mucosa por los microorganismos con inflamación y ulceración que incluso puede ser sistémica. Afecta principalmente al colon perdiendo su capacidad extra de reabsorción de agua. Los microorganismos conocidos son *Shigella*, *E. coli* enteroinvasivo, *Salmonella*, *Yersinia* enterocolítica, *Campylobacter jejuni* y *Entamoeba histolytica* (42).

1.5 EPIDEMIOLOGÍA

La GEA es una de las patologías más prevalentes de la primera infancia siendo uno de los retos más importantes para la salud pública y es considerada por la OMS una de las principales causas de morbilidad infantil (43).

Diferentes revisiones de la epidemiología se han llevado a cabo desde la época de los 80 en la que se tenían identificados los principales agentes productores de GEA. Según la OMS y UNICEF en el año 2003 se estimaron 1.800.000 muertes en menores

de 5 años por GEA y en el 2008 1.240.000 (44). Actualmente cada niño menor de 5 años en todo el mundo tiene un promedio de 3 episodios de diarrea cada año, produciéndose unos 1.700 millones de casos anuales (4, 45). En 2013, las enfermedades diarreicas mataron a 760.000-800.000 niños menores de cinco años (45,46). Se ha producido un descenso del 50% de la mortalidad con respecto a las cifras de inicio de siglo (45), con una disminución aproximada del 4% anual (46). Aun así, la GEA representa el 16,5% de la mortalidad en este grupo de edad, ocupando el segundo lugar como causa de muerte infantil tras la neumonía (4,45).

La enfermedad no se manifiesta igual en todos los países. En los países en vías de desarrollo y escasos recursos, el problema es la elevada mortalidad que producen los casos de diarrea aguda (5), debido probablemente a la falta de acceso a la terapia de hidratación y la alta prevalencia de desnutrición (43). Los esfuerzos en la prevención de la mortalidad se dirigen a mejorar la educación, el saneamiento y la nutrición; a la vez que a aumentar el acceso a las soluciones de rehidratación oral (SRO) y su cobertura (5). La mayoría de las muertes (76-78%) se concentran en los países del África subsahariana y el sudeste asiático (4,21,46).

En cambio, en los países desarrollados la diarrea aguda produce una elevada morbilidad y consecuente gasto económico por motivos como absentismo escolar y laboral de los padres, consultas médicas y hospitalizaciones. En Estados Unidos, los niños menores de 5 años presentan un promedio de 2 episodios de diarrea por año, lo que produce 2.000.000-3.000.000 visitas médicas y el 10% de todas las hospitalizaciones pediátricas con tan solo 300 muertes (47). Los costes directos de la hospitalización y atención ambulatoria de estos niños son de más de 250 millones de dólares en EEUU. A nivel europeo, la incidencia de diarrea en menores de 3 años es de 0,5 a 2 episodios por niño y año, representando el 11,6% de las hospitalizaciones en menores de 5 años (48). Por tanto, las prioridades en salud pública se centran en la prevención, identificación, y la restricción de los brotes. El manejo se dirige hacia el alivio sintomático y medidas específicas destinadas a reducir la duración de la enfermedad (5).

Las causas de GEA pueden variar con la ubicación, la época del año y la población estudiada. El descenso de la mortalidad que se ha ido produciendo

corresponde en su mayoría a las mejoras en el acceso a agua potable y eliminación adecuada de aguas residuales, ya que una proporción significativa de las enfermedades diarreicas se puede prevenir con estas mejoras. Estas medidas afectan sobre todo a la GEA de origen bacteriano y parasitario que se transmiten principalmente a través de alimentos y aguas contaminadas. Sin embargo, la incidencia de la GEA de causa viral no ha disminuido de manera comparable, ya que los virus se transmiten principalmente de persona a persona (20,44,49). Esto produce una situación análoga a lo que ocurre con la GEA en general, si se analizan las repercusiones de los distintos virus y especialmente rotavirus en las diferentes regiones del mundo. En los países en vías de desarrollo y escasos recursos el RV produce elevadas cifras de mortalidad y en los países desarrollados el problema es de morbilidad y coste económico (25,50), a pesar de tener una incidencia de este germen similar (15,20,43). A nivel mundial, la GEA por RV produce 125 millones de casos en niños, 23 millones de consultas ambulatorias y 2.300.000 hospitalizaciones cada año (15,16, 20).

Según datos de la OMS en 2011, 527.000 niños menores de 5 años murieron por la enfermedad inducida por rotavirus, el 82% de estos casos concentrados en los países pobres (6,15,23,44,51,52). La región del África subsahariana y el sudeste asiático abarca la mayoría de la mortalidad. Cinco países, República Democrática del Congo, Etiopía, La India, Nigeria y Pakistán concentran la mitad de todas las muertes atribuibles a RV (44). Sólo en la India se producen 100.000 muertes cada año por RV, representando el 23% de la mortalidad (16,20,44).

El RV en la Unión Europa es responsable de 3.600.000 casos, 87.000 hospitalizaciones y aproximadamente 700.000 consultas ambulatorias cada año, con tan solo 231 muertes (15,22,25). El perfil de la enfermedad por RV en los EEUU es similar, con estimaciones de 55.000-75.000 hospitalizaciones y 20-60 muertes anuales (20).

RV es la principal causa de diarrea deshidratante a nivel mundial y afecta al 95 % de los niños menores de 5 años (22). El porcentaje medio de aislamiento internacional en niños hospitalizados menores de 5 años es del 39% (51). La frecuencia varía entre los diferentes países y regiones, sobre todo en aquellas naciones que han incorporado la vacuna contra el RV a su calendario de vacunación sistemática. Los RV del grupo A son los responsables de prácticamente la totalidad de los casos en humanos.

Los genotipos G1P[8], G2P[4], G3P[8], G4P[8] y G9P[8] constituyen el 90-95% de las cepas de RV circulantes (10,22,25,26).

Los NV son la segunda causa más frecuente de GEA severa en niños menores de 5 años a nivel mundial tras RV. Son responsables de 900.000 casos con 64.000 hospitalizaciones en países desarrollados y al menos 1.100.000 casos con aproximadamente 200.000 muertes en países en desarrollo (53,54). Producen el 12 % de las hospitalizaciones por GEA en el mundo. La infección por NV ha sido subestimada durante años por la limitada disponibilidad de métodos diagnósticos adecuados. La incapacidad de obtener cultivos celulares, y la falta de un modelo animal han obstaculizado la investigación y el desarrollo de ensayos diagnósticos a la mayoría de los laboratorios clínicos (53). Los NV han sido vinculados tradicionalmente, a raíz de su descubrimiento, a brotes epidémicos en relación con alimentos y comunidades cerradas, donde su papel está bien documentado (27). En los países industrializados son responsables del 68-80% de los brotes de GEA no bacteriana (17). A medida que se ha ido disponiendo de métodos de biología molecular, cada vez más accesibles, la epidemiología de los NV ha ido ganado importancia, aumentando su papel y consideración como responsable de casos esporádicos de GEA. En los países donde la vacuna contra RV se ha instaurado de manera sistemática no tardará en ocupar el primer lugar como agente de GEA de origen viral (1,53). El genotipo GII.4 es el más frecuentemente aislado en el mundo (3, 13, 30).

Los ASTV y los ADV son los otros dos agentes principales en la etiología de la GEA viral. Su papel no es tan importante como el de los gérmenes anteriores, pero puede aumentar a raíz de la vacunación del RV. Los ASTV se detectan en torno al 10% de los casos de GEA viral y el serotipo 1 es el más frecuentemente detectado en la mayoría de estudios (13,37). Ambos, ASTV y ADV entéricos, afectan predominantemente a niños menores de 4 años (37). Los casos de ADV están producidos en su casi totalidad por los serotipos 40 y 41 que pertenecen al subgénero F (13,17,21).

La enfermedad producida por el RV presenta un claro patrón estacional, presentándose en los meses de otoño e invierno en países con clima templado. En los climas tropicales el predominio estacional aunque existe es menos marcado y se dan

casos durante todo el año aunque predominan en los meses más fríos y secos (37). El predominio de un genotipo particular de rotavirus durante una temporada puede variar entre zonas geográficas, y de una temporada a la siguiente (22,23,52).

La GEA producida por RV es una enfermedad infantil, ya que a los 5 años prácticamente todos los niños tendrán una infección por RV (52). Se da la circunstancia que la primoinfección suele ser el cuadro más severo y confiere protección parcial frente a reinfecciones posteriores, sean producidas por la misma cepa o por cepas diferentes, siendo el cuadro más leve sucesivamente (25). La enfermedad por rotavirus produce más deshidratación en bebés menores de 6 meses (1), pero es más frecuente en el rango de 6 meses a 2 años. Una de las explicaciones es que la lactancia materna ejerce de protector frente a esta infección y contra la GEA en general (25, 55).

El mecanismo de transmisión del RV es principalmente la vía fecal-oral. La transmisión puede ocurrir a través del contacto con superficies y objetos contaminados como juguetes (37). La ingestión de agua contaminada y alimentos puede ser una vía, pero menos frecuente. La infección cruzada a través de la contaminación de las manos es probablemente la vía más común de transmisión en el entorno sanitario. El virus se ha aislado en el tracto respiratorio e incluso puede aerosolizar con los vómitos, por lo que hay indicios de que la transmisión aérea pueda contribuir a la extensión de los brotes estacionales y también en los casos nosocomiales o en guarderías (15,20).

La alta contagiosidad y transmisibilidad del RV se ve facilitada por las elevadas concentraciones que alcanzan los virus en las heces incluso antes de la aparición de la diarrea (37, 56). Se alcanzan hasta 1010 viriones por gramo de heces y sólo 10 viriones deben sobrevivir para infectar tras pasar la barrera del ácido estomacal (15,20). La eliminación fecal persiste una media de 4 días, pero puede permanecer hasta 3 semanas en inmunocompetentes (20,37,56). Dentro de los hogares el 20 % de los adultos desarrollará síntomas dado su fácil contagio (20).

Los NV también tienen determinadas características epidemiológicas que facilitan su transmisión. El inóculo necesario para producir enfermedad es de 10 partículas y la eliminación fecal es elevada y prolongada, hasta 2 semanas tras la resolución de los síntomas (3). Incluso algunos autores informan de aislamiento de

partículas virales hasta 8 semanas después del cuadro clínico, aunque ponen en duda su capacidad infecciosa (53). La forma de diseminación más importante de los NV es la vía fecal-oral, incluyendo el mecanismo de persona a persona y por medio de fómites. La estabilidad de estos virus en el ambiente es relativamente alta, pudiendo persistir su infectividad en un amplio margen de temperaturas (desde la congelación hasta 60 °C) y resistir bien un pH ácido; además, son relativamente resistentes a desinfectantes como el etanol y el cloro (3). La propagación en forma de aerosol producido por la emesis, también ha sido descrita (3,53).

La infección por NV se presenta durante todo el año, aunque en los climas templados predomina en los meses de invierno, manifestándose en tres contextos epidemiológicos distintos. En primer lugar, los brotes epidémicos en relación a alimentos contaminados que afectan generalmente un gran número individuos en un corto período de tiempo. En segundo lugar, la infección que se produce en entornos semicerrados como salas de los hospitales, guarderías y hogares residenciales, que se inician por la introducción de un solo caso seguido de transmisión ambiental, y que puede ser muy difícil contener. En tercer lugar, la GEA que se presenta esporádicamente en los niños o adultos, donde su papel está cada vez más en consideración (3,29,53).

Las infecciones por ASTV ocurren principalmente en niños entre los 2 y los 4 años de edad con un pico estacional invernal en los países de clima templado, aunque puede aislarse todo el año (36). La eliminación viral por las heces suele durar un promedio de 5 días después del inicio de los síntomas. Sin embargo, los niños asintomáticos pueden presentar virus en heces durante varias semanas después de la enfermedad siendo este periodo mayor en huéspedes inmunocomprometidos. La transmisión es fundamentalmente fecal-oral (37).

Los ADV entéricos se presentan durante todo el año y afectan a los niños menores de 4 años de edad (17). Las infecciones por adenovirus son más contagiosas durante los primeros días del cuadro agudo, pero la eliminación fecal persistente e intermitente por períodos más largos es común. La transmisión es por vía fecal-oral. Las infecciones asintomáticas son comunes, y pueden ocurrir reinfecciones (37).

En la tabla 6 se recogen las principales características epidemiológicas de las infecciones por virus causantes de GEA.

Agente infeccioso	Rotavirus	Norovirus	Astrovirus	Adenovirus
Reservorio	Humano	Humano	Humano	Humano
Mecanismo de transmisión	Contacto directo (fecal-oral) Vehículo común Aerosoles	Contacto directo (fecal-oral) Vehículo común Aerosoles	Contacto directo (fecal-oral)	Contacto directo (fecal-oral)
Periodo de incubación	2 días (1-3 días)	24-48 horas	12-96 horas	3-10 días
Periodo de transmisibilidad	Mientras dure la enfermedad y hasta 21 días después	Hasta 2 semanas después del fin de síntomas	Mientras dure la enfermedad y hasta 5 días después	Mientras dure la enfermedad
Medidas de prevención y control	Lavado de manos Desinfección de materiales Vacuna	Evitar contaminación del vehículo común Lavados de manos Desinfección del material	Lavado de manos Desinfección del material	Lavado de manos Desinfección del material

Tabla 6. Principales características epidemiológicas de las infecciones por virus causantes de GEA.

1.6 CLÍNICA

La mayoría de los cuadros de diarrea aguda son autolimitados en el tiempo, con resolución espontánea en la mayoría de los casos.

El cuadro clínico suele ser brusco y consiste en deposiciones diarreicas, náuseas, vómitos, fiebre, dolor abdominal predominantemente de carácter cólico y signos de deshidratación. Salvo las diarreas, el resto de los síntomas no son constantes (47,57).

En los cuadros citopáticos y enterotóxicos las deposiciones son líquidas, muy abundantes y con un mayor riesgo de deshidratación por la depleción hidroelectrolítica. En estos cuadros son más frecuentes los vómitos, sobre todo en las de origen viral y pueden preceder al cuadro diarreico, contribuyendo a la deshidratación.

En las diarreas enteroinvasivas, las deposiciones son acuosas y suelen contener moco y/o sangre. Los pacientes presentan fiebre en la mayoría de las ocasiones que puede ser elevada.

El RV tiene un periodo de incubación de 1-3 días (20,56), tras el cual se desarrolla un cuadro típico de GEA de inicio brusco, con fiebre, dolor abdominal, diarrea y vómitos que puede producir deshidratación (19). Los vómitos suelen desaparecer tras los 2 primeros días. La diarrea puede ir de leve a severa con elevado número y cantidad, es acuosa y rara vez presenta sangre. La fiebre suele ser de bajo grado y afecta a un tercio de los enfermos. Los síntomas se resuelven en 4-8 días habitualmente (15,16,20). La eliminación de virus por las heces persiste tras la desaparición del cuadro, a la vez que existen infecciones asintomáticas que también eliminan gérmenes por las heces, lo que favorece el contagio (16). La primera infección normalmente es la más severa, disminuyendo la gravedad o siendo asintomática en contagios futuros. Aunque una protección completa ante la reinfección con otras cepas de RV no se logra, se estima que tras tres infecciones se reduce el riesgo de formas graves casi un 100% (25).

El RV también produce manifestaciones extraintestinales, como miositis o afectación del sistema nervioso central en forma de encefalitis, meningitis aséptica y convulsiones (16,20). En pacientes inmunodeprimidos, la sintomatología es similar siendo más probable que el cuadro dure más tiempo, así como la eliminación fecal de virus en fase asintomática. En este grupo de pacientes se han documentado casos de hepatitis (20).

El cuadro clínico producido por el NV aparece tras 24-48 horas (3,53,58), como una GEA viral característica. Se presenta con náuseas, vómitos, diarrea acuosa, dolor abdominal cólico, anorexia, malestar general y fiebre no excesivamente elevada. El NV no es un patógeno invasivo, por lo que síntomas disentéricos como sangre o moco en la diarrea o fiebre alta son infrecuentes. Hasta un tercio de las personas expuestas a los NV pueden desarrollar una infección asintomática. El cuadro suele ser autolimitado y se resuelve en 24-60 horas en la mayoría de los casos. Sin embargo, las personas infectadas pueden continuar eliminando NV hasta aproximadamente 8 semanas con carga viral alta tras la resolución de los síntomas (3,53). Se han descrito complicaciones

como colon irritable, convulsiones, enterocolitis necrotizante y en raras ocasiones enfermedad diseminada con fallo multiorgánico (28,53).

Los ASTV tienen un periodo de incubación aproximado de 4 días (58), tras los que aparecen diarrea acuosa y menos frecuentemente vómitos, dolor de cabeza, fiebre, dolor abdominal y pérdida de apetito. La diarrea es más corta y menos grave que la causada por otros virus entéricos (35). La sintomatología dura de 2 a 4 días, pero también hay formas asintomáticas. Puede ocurrir diseminación sistémica documentada en inmunodeprimidos produciendo encefalitis (36).

Los ADV entéricos tienen el período de incubación más largo de todos los virus entéricos, de 8-10 días (17), así como la duración más larga de la diarrea. La enfermedad normalmente es leve y autolimitada, pero puede ser persistente y grave en pacientes inmunodeprimidos. Se han descrito colitis por adenovirus en pacientes infectados por el virus de la inmunodeficiencia humana (35).

La deshidratación relacionada con la GEA es una de las principales preocupaciones en los pacientes pediátricos. La exploración física debe centrarse en identificar signos de deshidratación tales como el nivel de alerta alterado, la presencia de ojos hundidos, mucosas secas y turgencia de la piel disminuida. Esta evaluación permite identificar qué pacientes pueden ser enviados a casa con seguridad, cuáles deben permanecer en observación y los que son candidatos a terapia intravenosa más agresiva. En 1995 la OMS y posteriormente en 1996 el Centro de Control de Enfermedades (CDC) de los Estados Unidos (EEUU), realizaron clasificaciones en función del déficit de líquidos estimado por los signos observados (47). De esta manera la deshidratación la clasifican en leve (3-5%), moderada (5-10%) o severa (>10%). En la tabla 7 se muestra dicha clasificación y los signos que presentan.

Existen herramientas validadas como escalas de puntuación o “scores” que ayudan a evaluar la deshidratación. El “Children Deshidratation Score” (CDS), evalúa 4 ítems clínicos que son: estado general, ojos, mucosas y lágrimas. Cada categoría puntúa de 0 a 2, a partir de las que se obtiene una puntuación final con un rango de 0 a 8. Los pacientes se clasifican como sin deshidratación (CDS 0), algo de deshidratación (CDS 1-4) o deshidratación moderada-severa (CDS 5-8) (1).

Síntomas/signos clínicos	Deshidratación leve	Deshidratación moderada	Deshidratación grave
Pérdida de peso (%)			
Lactante	<5%	5-10%	>10%
Niño mayor	<3%	3-9%	>9%
Turgencia cutánea	Normal	Algo disminuida	Muy disminuida
Relleno capilar	Normal	Algo lento	Muy lento
Respiración	Normal	Normal, taquipnea	Profunda, taquipnea
Mucosas	Normal	Pastosas	Muy pastosas
Diuresis	Escasa	Oliguria	Oligoanuria
Sed	Normal	Sediento	Rechazo
Fontanela	Normal	Algo deprimida	Deprimida
Perfusión periférica	Normal	Extremidades frías	Acrocianosis
Ojos	Normal	Levemente hundidos	Hundidos
Lágrimas	Normal	Disminuidas	Ausentes
Pulso radial	Normal	Débil, rápido	Débil, filiforme
Tensión arterial	Normal	Hipotensión leve	Hipotensión
Frecuencia cardíaca	Normal	Taquicardia leve	Taquicardia
Estado neurológico	Normal	Inquieto, irritable	Apatía, letargia

Tabla 7. Tipos de deshidratación y sus síntomas.

Otras escalas evalúan la severidad de la GEA uniendo el estado de deshidratación a otros parámetros. La escala de Vesikari es un score de 20 puntos obtenidos a partir de 7 variables clasificándose los casos en leves, moderados o graves que corresponden a puntuaciones de 0-8, 9-10, y ≥ 11 respectivamente (1). Surgió para evaluar la severidad de la GEA producida por RV, pero su uso actual es generalizado. En las tablas 8 y 9 se muestran la escala de Vesikari y el CDS respectivamente.

SINTOMA O SIGNO	PUNTOS
DIARREA	
Duración de las diarrea (días)	
1-4	1
5	2
≥6	3
Máximo n° de diarreas en 24 horas	
1-3	1
4-5	2
≥6	3
VÓMITOS	
Duración de los vómitos (días)	
1	1
2	2
≥3	3
Máximo n° de vómitos en 24 horas	
1	1
2-4	2
≥5	3
FIEBRE	
37,1-38,4°C	1
38,5-38,9°C	2
≥39°C	3
DESHIDRATACIÓN	
No	0
1-5%	2
≥6%	3
TRATAMIENTO	
No	0
Rehidratación	1
Hospitalización	2

Tabla 8. Escala de gravedad de Vesikari.

Características	0	1	2
Apariencia general	Normal	Sediento, inquieto o letárgico pero irritable cuando se le toca	Somnoliento, hipotónico, frío sudoroso más o menos comatoso
Ojos	Normal	Ligeramente hundidos	Extremadamente hundidos
Membranas mucosas, lengua	Húmedo	Pegajosas	Secas
Lágrimas	Lágrimas	Lágrimas disminuidas	Ausencia de lágrimas

Tabla 9. Escala clínica de deshidratación infantil CDS.

1.7 DIAGNÓSTICO

El diagnóstico de la GEA como síndrome es clínico (20). No son necesarias pruebas complementarias para determinar que un niño tiene diarrea, pero sí son necesarias para el diagnóstico etiológico. Sin embargo, la investigación microbiológica no es útil desde un punto de vista práctico ya que la diferenciación entre vírico o bacteriano es probable que no cambie el tratamiento (1). En tabla 10 se muestran situaciones en las que el diagnóstico etiológico debe realizarse (1,47).

Indicación de diagnóstico etiológico
Niños menores de 3 meses
Pacientes inmunocomprometidos con fiebre elevada
Pacientes con diarrea sanguinolenta severa
Pacientes con antecedente de viaje a zonas en situación de riesgo
Brotos de GEA (hospital, guardería)

Tabla 10. Indicación de diagnóstico etiológico.

A nivel clínico, tampoco es posible diferenciar con total certeza, si la causa es vírica o bacteriana y mucho menos discernir entre virus o bacterias entre sí. Sin embargo, según el contexto epidemiológico, época del año y datos de la historia clínica podríamos enfocar el diagnóstico etiológico. De forma general, las infecciones virales se caracterizan por fiebre de bajo grado y diarrea acuosa sin sangre; en cambio las infecciones bacterianas son más propensas a presentar fiebre alta con sangre, moco o pus en las heces. El médico debe preguntar acerca de la duración de la enfermedad, el número de episodios de vómitos y de diarreas por día, la producción de orina y la presencia de productos patológicos en las heces. Preguntar sobre síntomas acompañantes, como fiebre, dolor abdominal y molestias urinarias; así como reciente ingesta de líquidos y/o alimentos. La toma de medicamentos recientes y el historial de vacunación del niño también debe revisarse. El examen físico debería centrarse en la identificación de signos de deshidratación (47).

Se ha intentado identificar algún marcador de laboratorio que ayude a discernir entre causa vírica o bacteriana, pero con los estudios disponibles no ha sido posible (59). La procalcitonina es más efectiva que la proteína C reactiva para identificar causa bacteriana, pero no como para ser recomendada rutinariamente (1). Tampoco se

recomienda el uso habitual de marcadores fecales para distinguir entre GEA viral o bacteriana en el ámbito clínico. Sin embargo, la evaluación de la calprotectina fecal combinada con la proteína C reactiva mostró una precisión diagnóstica del 94% para GEA bacteriana y la lactoferrina fecal es mayor en pacientes con *Salmonella* o infección por *Campylobacter* que en los pacientes con infección viral; y se correlaciona significativamente con la gravedad de la enfermedad medida con las escalas de Vesikari y Clark (1).

Los exámenes de laboratorio tampoco están indicados de forma general para evaluar el estado de hidratación ya que no son predictores de deshidratación y sólo son útiles cuando sus valores están muy alterados. La medición de nitrógeno ureico en sangre, bicarbonato, densidad urinaria o cetonuria no son útiles para evaluar el estado de deshidratación. El estudio de electrolitos debe reservarse para los pacientes afectados por la deshidratación severa que requieren hidratación iv en la evaluación clínica inicial y para aquellos en los que se sospecha deshidratación hipernatrémica (47).

1.7.1 DIAGNÓSTICO ETIOLÓGICO

La capacidad de obtener un diagnóstico etiológico en un niño con GEA es altamente dependiente de la calidad de la muestra, la experiencia y habilidad del microbiólogo y los recursos disponibles para la evaluación de las heces (57). El manejo adecuado de la muestra requiere la recolección de una deposición reciente directamente del pañal o del orinal, un tubo rectal apropiadamente obtenido o una muestra de hisopo. Las áreas de heces con pus, sangre o moco son óptimas para el muestreo. Todas las muestras deben ser procesadas inmediatamente o colocadas en medios de transporte de comunicación y llevadas al laboratorio (57).

Las técnicas de cultivo utilizadas en laboratorios de microbiología deben ser capaces de identificar *Shigella*, *Salmonella*, *Yersinia* y *Campylobacter*. La identificación de otros enteropatógenos requiere pruebas adicionales que no siempre están disponibles salvo en los laboratorios de referencia (57).

El diagnóstico de las infecciones víricas intestinales se basa en métodos directos,

consistentes en la detección en la muestra de heces del paciente de partículas víricas, antígenos o ácidos nucleicos del virus implicado en la etiología del cuadro de GEA. Los métodos serológicos tienen utilidad en estudios de seroprevalencia o de análisis de la respuesta inmunitaria, como en el estudio de seroconversión en niños vacunados frente a rotavirus.

1.7.1.1 Cultivos celulares

Los virus entéricos resultan difíciles de aislar en cultivos celulares, pudiéndose sólo lograr el cultivo de algunos de ellos. Algunas cepas de RV del grupo A se pueden cultivar en líneas celulares continuas de riñón de mono MA104, en células LLC-MK2 o en células Caco-2 de adenocarcinoma de colon. Los ASTV pueden también cultivarse en células Caco-2. Otros virus entéricos como los NV no se han logrado replicar *in vitro* de forma estable, a pesar de los numerosos intentos realizados (34), o lo hacen con dificultad (adenovirus entéricos serotipos 40 y 41 en fibroblastos de pulmón G). Por todo ello, en general, el aislamiento en cultivo no es un procedimiento aplicable al diagnóstico de rutina de las gastroenteritis víricas (20, 60).

1.7.1.2 Microscopía electrónica

La microscopía electrónica (ME) de transmisión, así como la IME, continúa siendo una técnica de gran valor en el diagnóstico de las infecciones víricas intestinales, principalmente porque permite detectar cualquier tipo de partículas víricas presentes en la muestra, sin necesidad de recurrir al empleo de “sondas específicas” (anticuerpos, cebadores, etc.). Con esta técnica se visualizó por primera vez en los años 70 partículas virales en pacientes con GEA que correspondían al virus Norwalk (13) y posteriormente RV (20). Es una técnica rápida que no requiere un procesamiento complejo de la muestra; sin embargo, su utilidad en la evaluación de un gran número de muestras durante la temporada alta está gravado por la lentitud de la técnica de visualización directa (20). Otras de sus limitaciones más importantes son la necesidad de disponer de un microscopio electrónico, de personal experimentado y la relativa baja sensibilidad de las técnicas de tinción negativa habitualmente empleadas, ya que se considera que se requiere la presencia de más 10^6 partículas víricas por gramo de muestra para que puedan ser visualizadas al microscopio electrónico. Aunque muchos virus entéricos se

excretan en las heces en el curso de la infección en cantidades de 10^{11} - 10^{12} partículas víricas por gramo, se recomienda concentrar la muestra para observarla al microscopio electrónico.

La identificación de las partículas víricas se realiza atendiendo a las características morfológicas (tamaño, simetría, contorno, estructuras internas, etc.), resultando fácil la identificación de RV y ADV, y algo más compleja la de ASTV y calicivirus (sapovirus y NV). Es posible la identificación de otros virus implicados en la producción de gastroenteritis como coronavirus, torovirus, etc., así como otros virus presentes en las heces (enterovirus, bacteriófagos, etc.) (60,61).

1.7.1.3 Técnicas de detección de antígenos

En los últimos años se han desarrollado diversos métodos inmunológicos de detección de antígeno en heces, considerados hoy día de elección en el área clínica (13). Son los métodos más asequibles, rápidos, y a la vez suficientemente sensibles y específicos en el diagnóstico de las infecciones víricas intestinales. Éstos son los métodos más empleados por la mayoría de los laboratorios y están ampliamente disponibles en el mercado (20). En la actualidad se dispone de métodos de inmunocromatografía (ICG), técnicas de enzimoanálisis (EIA) convencional, técnicas de EIA de membrana y técnicas de aglutinación de partículas de látex para distintos virus entéricos (13,60,61). Estos ensayos son fáciles y muy fiables en los primeros días de la enfermedad, cuando la carga viral es alta y tienen un excelente valor predictivo positivo en la temporada alta (20). En la tabla 11 se muestra un listado de las diferentes técnicas comercializadas de detección de antígeno.

Detección de antígenos de rotavirus

Existe una amplia variedad de inmunoensayos comercializados para la detección de antígenos de rotavirus del grupo A en las heces, la mayoría de ellos con valores de sensibilidad y especificidad superiores al 90%.

Las técnicas de EIA convencionales se consideran los métodos de referencia por su alta sensibilidad y especificidad, además permiten la realización de muchas determinaciones simultáneas. Sin embargo, el tiempo de la técnica es más largo y se

requiere un equipamiento específico (espectrofotómetro). Debido a que la rapidez en el diagnóstico es de gran valor en las gastroenteritis víricas es recomendable recurrir a un método rápido como la ICG, un EIA de membrana o la aglutinación de partículas de látex. No obstante, dado que en ocasiones la especificidad de estas técnicas no es elevada, las muestras positivas deberían ser confirmadas con un ensayo por inmunoadsorción ligado a enzimas (ELISA) de captura o una técnica de RT-PCR.

- Técnicas de inmunocromatografía

Actualmente existen comercializadas numerosas técnicas inmunocromatográficas para la detección de antígeno de rotavirus sólo o frecuentemente en combinación con la detección de antígenos de adenovirus en las heces. La prueba se realiza mediante un dispositivo que contiene un pocillo para dispensar la muestra, donde se mezcla con un conjugado constituido por microesferas de poliestireno de diferentes colores unidas respectivamente a anticuerpos monoclonales antirotavirus y antiadenovirus, una zona de prueba con una membrana de cromatografía con un anticuerpo monoclonal antirotavirus y un anticuerpo monoclonal antiadenovirus fijados, y una zona de control con un anticuerpo policlonal anti-IgG de ratón. En la membrana aparecerán unas bandas coloreadas indicando si la prueba es positiva o negativa y cuál es el antígeno detectado. Como limitación a la especificidad de estas técnicas inmunocromatográficas se ha observado que en algunos casos, la presencia de sangre en las heces puede originar resultados falsos positivos (60, 61).

- Técnicas de enzimoanálisis

Los EIA realizan la detección cualitativa de antígeno de RV en heces. Estas técnicas pueden ser consideradas semicuantitativas, ya que aportan cierta información sobre la cantidad de antígeno vírico excretado por las heces en comparación con las otras técnicas antigénicas en las que el resultado sólo es cualitativo (60, 61).

- Técnicas de EIA de membrana

Son métodos cualitativos, rápidos y fáciles de realizar que se presentan en pruebas individualizadas. Para su realización se requiere un equipamiento mínimo y el resultado, que se lee visualmente, se obtiene en menos de 30 minutos (60,61).

Detección de antígenos de norovirus

Existen dos métodos de EIA comercializados para el diagnóstico de norovirus: IDEIA[®] Norovirus (Oxoid, Thermo Fisher Scientific) y RIDASCREEN[®] Norovirus (R-Biopharm). El ensayo IDEIA Norovirus muestra una reactividad más amplia, detectando una mayor variedad de genotipos que el RIDASCREEN. En todos los casos se recomienda confirmar los resultados del EIA por RT-PCR. La escasa sensibilidad de los métodos EIA hace que sean poco eficaces en el diagnóstico de casos esporádicos de gastroenteritis, pero sí tienen aplicación en el estudio de brotes epidémicos de los que se disponga un número amplio de muestras (al menos 5-10) procedentes de individuos afectados (60,61). Una evaluación de ambos métodos llevada cabo en España por Wilhelmi de Cal y cols. (62), considerando la RT-PCR la técnica de referencia, determinó que la sensibilidad de IDEIA Norovirus y de RIDASCREEN Norovirus es del 76,9% y del 59%, respectivamente, y la especificidad del 85,9% y del 73,1%, respectivamente. Se concluyó que estos tests pueden ser usados en laboratorios clínicos, pero deben mejorarse.

Detección de antígenos de astrovirus

Desde hace años se dispone de un EIA comercializado (IDEIA[®] Astrovirus, Oxoid) basado en anticuerpos monoclonales y policlonales frente a antígenos conservados de la cápside vírica, con una sensibilidad (91%) y una especificidad (98%) similares a las de la IME. En 1995 se desarrolló un EIA para tipificar astrovirus en muestras humanas (TYPE-EIA), basado en anticuerpos monoclonales frente a los distintos serotipos para capturar los antígenos y un anticuerpo monoclonal reactivo de grupo (8E7) como anticuerpo detector (60,61).

Detección de antígenos de adenovirus

El diagnóstico habitualmente se realiza por métodos de ICG, aglutinación de partículas de látex, y EIA.

Es importante distinguir si el método que se utiliza detecta antígeno de género (antígeno común de hexón) o antígenos específicos de los serotipos 40 y 41, pues sólo en este último caso el diagnóstico será atribuible a estos adenovirus entéricos (60,61).

Técnicas	Nombres comerciales
ICG para RV/ADV	Combi-Strip (Coris Bioconcept) GastroVir-Strip (Coris Bioconcept) Biorapid Rota/Adeno (Biokit) Simple Rota-Adeno (Operón) Combo-Strip (Real) Rotascreen® Dipstick (Microgen Bioproducts) Diarlex Rota-Adeno (Orion Diagnóstica) VIKIA Rota-Adeno (bioMérieux) RIDA® Quick Rotavirus/Adenovirus Combi (r-Biopharm) Rotavirus CerTest- sólo RV Rota-Strip (Coris Bioconcept)- sólo RV
ICG para ASTV	Astrovirus CerTest Biotec
EIA para RV	IDEIA® Rotavirus (Oxoid) Premier™ Rotaclone® (Meridian Bioscience) Pathfinder Rotavirus EIA (Bio-Rad) RIDASCREEN Rotavirus R-Biopharm VIDAS Rotavirus (bioMérieux) Rotascreen® EIA (Microgen Bioproducts)
EIA para NV	RIDASCREEN® Norovirus (R-Biopharm) IDEIA® Norovirus (Oxoid)
EIA para ADV	Adenovirus RIDASCREEN (R-Biopharm, UK) Premier Adenoclone- Types 40/41 EIA (Meridian Bioscience)
EIA para ASTV	IDEIA® Astrovirus (Oxoid)
EIA de membrana	InmunoCard Start! Rotavirus (MeridianBioscience) Inmunocard Start! Adenovirus (Meridian Bioscience)
Aglutinación con látex	Slide Adenokit-Slide Rotakit (bioMérieux) Rotagen (Biokit) Adenogen (Biokit) Rotascreen® Latex (Microgen Bioproducts) Diarlex Rota-Adeno (Orion Diagnóstica) Pastorex Rotavirus (Bio-Rad)

Tabla 11. Relación de técnicas comercializadas para el diagnóstico de infecciones por virus entéricos.

1.7.1.4 Técnicas moleculares

Los métodos moleculares, en particular los de PCR, RT-PCR y secuenciación, se han desarrollado para los principales virus productores de GEA y constituyen el método estándar de detección y caracterización de estos patógenos en los laboratorios de investigación y de referencia (13,20). Estas pruebas tienen el mayor potencial de sensibilidad y especificidad y se pueden realizar en muestras pequeñas con pocos viriones haciendo posible un diagnóstico más tardío. Como inconvenientes tiene su

coste económico, el riesgo de contaminación cruzada y su disponibilidad limitada a ciertos laboratorios (20).

Rotavirus

Las técnicas moleculares de RT-PCR se han generalizado como métodos de detección de rotavirus en heces, en otras muestras clínicas (suero, LCR) y en muestras ambientales utilizando cebadores específicos de los segmentos génicos que codifican las proteínas VP6, VP7 y VP4. Se trata de métodos “in house” (caseros) que requieren la visualización de los productos amplificados en geles de agarosa teñidos con bromuro de etidio y que posteriormente permiten además la identificación de los genotipos detectados. Estas técnicas mejoran la sensibilidad de los métodos inmunoenzimáticos, aunque no proporcionan información cuantitativa. En los últimos años se han desarrollado instrumentos y técnicas de PCR a tiempo real que detectan y cuantifican la concentración de virus en la muestra. Además, todo el análisis se realiza en un solo tubo y se reduce el tiempo necesario para disponer de los resultados (60,61). Las técnicas de biología molecular han permitido conocer cuáles son los genotipos circulantes prevalentes en todo el mundo y los cambios a lo largo del tiempo antes y después de la implantación de la vacuna frente a RV (13).

Norovirus

Los métodos de biología molecular son el principal medio diagnóstico para los calicivirus y otros virus para los que no se dispone de técnicas inmunológicas estandarizadas. Además, son los métodos de elección para conocer la distribución de los genotipos circulantes de estos virus y su variación geográfica y temporal (13). El desarrollo de estos métodos ha permitido conocer más ampliamente el papel etiológico de los NV en epidemias y gastroenteritis esporádica donde estaban subestimados (54).

Se han descrito muy diversos pares de cebadores para amplificar secuencias diana, generalmente del gen de la ARN polimerasa vírica, aunque también del gen de la cápside. La posterior secuenciación de los amplificados obtenidos permite identificar el genogrupo (I o II) y el genotipo de la cepa de NV detectada (GI.1 a GI.8 y GII.1 a GII.17) (60). También se disponen de técnicas de RT-PCR en los laboratorios más importantes (61).

Astrovirus

Se han desarrollado distintos métodos de RT-PCR para diagnosticar infecciones por ASTV. Para aumentar la sensibilidad de la RT-PCR se ha combinado el aislamiento en cultivo celular con la RT-PCR, con buenos resultados. Existen también comercializados métodos de RT-PCR para diagnóstico de calicivirus y astrovirus (Argene[®]) (60,61).

Adenovirus

Se puede realizar PCR con oligonucleótidos específicos, tanto PCR convencional como a tiempo real. Otros métodos de caracterización de ADV entéricos son el análisis de polimorfismos de fragmentos de restricción (RFLPs), la hibridación en *dot-blot*, y la secuenciación de los productos amplificados (60,61).

La tabla 12 recoge las técnicas disponibles para cada virus.

Procedimiento	Virus buscado
Pruebas de detección de antígeno	
ICD	Rotavirus, Adenovirus
EIA	Rotavirus, Adenovirus, Norovirus, Astrovirus
EIA de membrana	Rotavirus
Aglutinación de partículas de látex	Adenovirus
Técnicas de biología molecular	
Extracción ácidos nucleicos	Rotavirus, Adenovirus
RT-PCR	Rotavirus, Adenovirus, Norovirus, Astrovirus
PCR-t real	Rotavirus, Adenovirus, Norovirus
RFLPS	Adenovirus
Hibridación en Dot-blot	Adenovirus

Tabla 12. Resumen de los procedimientos para el diagnóstico de GEA de origen vírico.

1.7.2 INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

Todos los resultados positivos deberán en principio informarse como indicativos de la presencia del virus detectado en la muestra, a no ser que deban confirmarse por un método con mayor especificidad. Los resultados obtenidos con técnicas consideradas de cribado (ICG, látex) deberían ser confirmados por un EIA de captura o por una técnica molecular.

En condiciones óptimas, los resultados de las técnicas de PCR deberían confirmarse por hibridación con sondas específicas (Southern blot) o por secuenciación de los amplificados.

Existen infecciones por virus entéricos sintomáticas y asintomáticas, por lo que es posible la detección de un virus patógeno intestinal en ausencia de sintomatología. Es también factible el aislamiento de más de un virus distinto, pues son posibles las infecciones mixtas, sobre todo como consecuencia de una transmisión hídrica o por alimentos contaminados de la infección. En estos casos también son posibles las infecciones mixtas por patógenos bacterianos y víricos (60). Se debe tener precaución cuando los bebés que se evalúan con GEA han recibido recientemente la vacuna contra el rotavirus. Estos niños pueden tener antígeno detectable de 3 a 9 días después de la vacunación, con un pico de eliminación observado entre el sexto y octavo día tras la administración de la vacuna (20).

En los brotes epidémicos se considera necesario demostrar la presencia del mismo agente en al menos un 50% de las muestras analizadas para poder atribuirle la etiología del brote (60).

1.8 TRATAMIENTO

El objetivo principal del tratamiento de la GEA es evitar la deshidratación. Para ello, los pilares fundamentales son la reposición de líquidos, el apoyo nutricional y el alivio sintomático (20). La administración de líquidos debe realizarse por vía oral y la alimentación ha de introducirse de forma precoz (37).

1.8.1 REPOSICIÓN DE LÍQUIDOS

Las soluciones de rehidratación oral (SRO) son las indicadas y recomendadas por los organismos y las sociedades científicas principales como la Organización Mundial de la Salud (OMS), UNICEF, la Academia Americana de Pediatría (AAP) o la Sociedad Europea de Gastroenterología Hepatología y Nutrición Pediátrica (ESPGHAN) (1,4,47). Las SRO son el tratamiento de elección en los casos de deshidratación leve y moderada, incluso se ha equiparado su eficacia a la rehidratación

iv en algunos estudios en situaciones de rehidratación severa (1). Las tasas globales de cobertura de SRO son inferiores al 50%. El tratamiento oral es más eficaz y menos invasivo que la rehidratación iv y reduce la hospitalización en países desarrollados y en países en vías de desarrollo. Por lo tanto, debe ser promovida la administración de SRO (1,4).

La primera SRO fue diseñada por la OMS para combatir la diarrea por cólera y tenía una elevada osmolaridad (311 mmol/l), ya que estos sujetos tienen pérdidas fecales de sodio de hasta 90-120 mmol/l. Esta solución también tenía eficacia para la diarrea producida por otros patógenos, sin embargo, la pérdida fecal de sodio producida por RV no suele sobrepasar los 30-40 mmol/l. En los países desarrollados la ausencia de cólera y en general, el adecuado estado nutricional y niveles de sodio corporal en niños llevaron al desarrollo por consenso de SRO que contienen menos cantidad de sodio. Ambas soluciones son seguras y eficaces en el tratamiento de la deshidratación asociada a la diarrea aguda (37), pero las de menor osmolaridad tienen mejor resultado clínico y se asocian a menor producción de heces, menos vómitos, menor riesgo de hiponatremia y una menor necesidad de infusiones iv en comparación con la SRO estándar (1,4). Por este motivo la OMS cambió su recomendación en el año 2002 por una SRO de baja osmolaridad pasando a 245 mmol/l con 75 mmol/l de sodio (4).

El uso de SRO de osmolaridad reducida como tratamiento de primera línea de la GEA tiene el máximo grado de recomendación y evidencia científica IA (1). Sólo estas soluciones tienen las proporciones adecuadas de agua y electrolitos para reponer las pérdidas producidas por las heces y los vómitos. La tabla 13 recoge las características de las distintas soluciones de rehidratación oral comercializadas en España.

Solución	Glucosa (mmol/l)	Na ⁺ (mEq/l)	K ⁺ (mEq/l)	Cl ⁻ (mEq/l)	Citrato (mmol/l)	Osm (mOsm/l)
OMS (osm reducida)	75	75	20	65	10	245
ESPGHAN	75-110 (glucosa/Na ⁺ 2)	60	20	25-50	10	200-250
Bi-oralsuero	80,5	59,7	20,1	38	13,9	212
Bi-oralsuero baby	80,5	59,7	20,1	37,9	13,9	212
Cito-Oral	90	60	20,2	50	10	230
Cito-Oral Junior Zinc	89,9	62,4	22,5	50	21,7	261
Citorsal	278	50	20	30	35	420
Isotonar	110	48	20	39	10	230
Miltina Electrolit	89	60	20	50	10	230
Oralsuero	80,5	60	20	38	14	211
Recuperat-ion	80	60	20	38	14	212
Sueroral	111	90	20	80	10	311
Sueroral hiposódico	111	50	20	41	10	232

Tabla 13. Soluciones de rehidratación oral comercializadas en España.

Se deben evitar zumos de frutas, bebidas deportivas, té y refrescos en el manejo de la GEA, ya que muchas de estas bebidas tienen una alta osmolaridad debido a su alto contenido de azúcar y contienen poca cantidad de sodio y potasio. El uso de estos fluidos se relaciona con un aumento de la producción de heces y riesgo de hiponatremia (47). Tampoco hay evidencias suficientes para recomendar o no SRO enriquecidas con zinc o prebióticos con respecto a la estándar. En cuanto al sabor, la eficacia de las SRO con sabores frutales es similar a la estándar aunque pueden ser mejor aceptadas (1). La tabla 14 muestra los componentes que se le añaden a las SRO para mejorar su eficacia y su nivel de evidencia.

Cuando la rehidratación oral no es tolerada se recomienda la rehidratación enteral a través de sonda nasogástrica antes de pasar a la terapia iv. Esta forma de reponer líquidos se asocia significativamente con un menor número de eventos adversos, una estancia hospitalaria más corta y una reducción en la necesidad de ingreso que la rehidratación iv, obteniéndose éxito en la mayoría de los niños. Esta recomendación también posee un grado de evidencia IA.

Componente	Funcionalidad	Recomendación
Almidón amilasa-resistente/goma guar	Producción de ácidos grasos de cadena corta que favorecen la reabsorción de agua y Na ⁺ en el colon	No existe evidencia para su uso sistemático en los niños con GEA
Carbohidratos no absorbibles	Similar al grupo anterior	No existe evidencia para su uso sistemático en los niños con GEA
Glutamina	Favorecer la reabsorción de agua por transporte combinado con aminoácidos	No existe evidencia para su uso sistemático en los niños con GEA
Zinc	El déficit de Zinc se asocia a una disminución en la reabsorción de agua y electrolitos	Reduce la severidad de la diarrea en niños malnutridos. No estudios fiables en nuestro medio
Probióticos	Efecto trófico, competitivo	El uso de SRO con probióticos mejora la evolución y pronóstico de las GEA

Tabla 14. Componentes añadidos a las SRO.

La hidratación iv es requerida en determinadas situaciones que corresponden a casos severos. En la tabla 15 se recogen las indicaciones de rehidratación iv. En el caso de los niños en terapia intravenosa, deberían pasar a la rehidratación oral tan pronto como las indicaciones de rehidratación parenteral hayan cesado (1).

Indicación de rehidratación intravenosa
Shock
Deshidratación con alteración del nivel de conciencia
Deshidratación con acidosis grave
Empeoramiento de la deshidratación
No mejoría con terapia de rehidratación oral/enteral
Vómitos persistentes con terapia de rehidratación oral/enteral
Distensión abdominal severa
Íleo

Tabla 15. Indicación de rehidratación intravenosa.

1.8.2 APOYO NUTRICIONAL

La introducción de una dieta normal adecuada a la edad tras unas pocas horas (2-4 horas) de rehidratación o continuar la dieta habitual si no hay deshidratación ha

demostrado que acorta la duración de la enfermedad (1,4,37,47). La realimentación temprana se recomienda en el manejo de la gastroenteritis aguda porque los contenidos luminales son un factor de crecimiento conocido para los enterocitos promoviendo la recuperación de disacaridasas, la absorción de nutrientes y el aumento del peso. Ayuda a la reparación de la mucosa después de la lesión (1, 37).

No está indicado interrumpir la lactancia materna y los lactantes alimentados con leche artificial deben continuar con su fórmula habitual sin diluir ni utilizar fórmulas sin lactosa o modificadas (1,4,37,47). La restricción de lactosa podría ser útil en los casos de diarrea en niños desnutridos, enteropatía severa o diarrea prolongada con signos de intolerancia secundaria (47). Una revisión Cochrane evaluó la eficacia de dietas sin lactosa versus dietas que contienen lactosa en niños menores 5 años de edad. Se revisaron 33 ensayos realizados en países de renta media-alta, de los cuales 29 fueron en pacientes hospitalizados. Los productos sin lactosa se asociaron con una reducción de la diarrea en niños hospitalizados de aproximadamente 18 horas. Los datos fueron, sin embargo, diferentes en pacientes ambulatorios (1). La realimentación precoz no se ha asociado a aumento de la morbilidad (37).

1.8.3 TRATAMIENTO FARMACOLÓGICO

De forma general no están indicados medicamentos en el manejo habitual de la GEA en niños (4). Sin embargo, en ciertas indicaciones algunos fármacos y/o suplementos pueden ser beneficiosos ya que acortan la duración del proceso o la capacidad de tolerar la SRO.

1.8.3.1 Antieméticos

El objetivo de aliviar los vómitos surge para evitar una mayor deshidratación y la necesidad de terapia iv con hospitalización posterior. Antieméticos como la metoclopramida, no están recomendados en el manejo de la GEA en niños (1). La metoclopramida se ha demostrado ser más efectiva que el placebo, pero la tasa de reacciones extrapiramidales con su uso es de hasta 25% en los niños (1,47).

El ondansetrón es un antiemético antagonista selectivo de los receptores de la serotonina y ha demostrado ser eficaz administrado oral o iv en dosis única. Este

fármaco se asocia a una disminución del riesgo de vómitos persistentes, reducción de la necesidad de terapia iv y de la necesidad de ingreso. Comparado con placebo, ondansetrón aumenta significativamente el volumen de las heces. Sólo la Sociedad Pediátrica Canadiense ha recomendado la terapia de ondansetrón oral en una dosis única, para los niños de 6 meses a 12 años de edad con vómitos relacionados con sospecha de GEA, y que tienen deshidratación de leve a moderada o que han fracasado la terapia de rehidratación oral (1,47).

1.8.3.2 Antidiarreicos

Este conjunto de fármacos, cuyo fin es disminuir la cantidad de heces a través de diferentes mecanismos, no están recomendados para el manejo de la GEA pediátrica por sus efectos adversos y dudosa eficacia (1,4,47). Antimotílicos o antiperistálticos como la loperamida causan íleo, somnolencia y náuseas en niños menores de 3 años al ser agonista de receptores opiáceos (1,47). Absorbentes como la diosmectita ofrece resultados dudosos y el carbón activado no se recomienda (1). Antisecretores como las sales de bismuto tienen eficacia limitada (47). El racecadotril es un inhibidor de la encefalinasa y actúa como antisecretor inhibiendo la secreción de agua y electrolitos sin efecto sobre la motilidad intestinal. Un meta-análisis reciente evaluó su eficacia como complemento de la SRO en comparación con SRO sola o con placebo. En los estudios de pacientes hospitalizados, la relación media de deposiciones racecadotril/placebo se redujo ($p < 0,001$). En estudios de pacientes ambulatorios, el número de deposiciones diarreas fue menor en el grupo del racecadotril ($p < 0,001$) (1,47). El racecadotril se podría contemplar en el manejo de la diarrea aguda con un grado de evidencia IIB (1).

1.8.3.3 Antimicrobianos

La terapia antinfeciosa no se debe dar en la inmensa mayoría de los niños con GEA. Los antibióticos en caso de etiología bacteriana se reservan para casos particulares, ya que pueden tener efectos adversos como aumentar la fase de portador y recaídas en el caso de *Salmonella* o incrementar el riesgo de síndrome hemolítico urémico en caso de toxina Shiga producida por *Escherichia coli* (47). En la tabla 16 se recogen las principales situaciones en las que está indicada la terapia antibiótica en caso de GEA. No se recomiendan los antivirales (1).

Agente infeccioso	Indicación de tratamiento antimicrobiano
<i>Shigella</i>	Si existe alto grado de sospecha o comprobación por cultivo
<i>Salmonella</i>	Sepsis Manifestación extraintestinal Menores de 3 meses de edad Niños inmunocomprometidos (inmunodeficiencia, tratamiento corticoideo o inmunosupresor, asplenia anatómica/funcional) Enfermedad inflamatoria intestinal aclorhidia
<i>Campylobacter</i>	En su forma disentérica para reducir contagio
<i>Escherichia coli enterotoxigénica</i>	En la diarrea del viajero
<i>Vibrio cholerae</i>	Casos confirmados o sospechosos con historia de viajes
<i>Giardia lamblia</i> <i>Cryptosporidium</i>	Inmunodeprimidos o casos severos

Tabla 16. Indicación de tratamiento antimicrobiano en la GEA.

1.8.3.4 Suplementos: zinc, prebióticos y simbióticos, probióticos

Zinc

El zinc es un micronutriente esencial que protege a las células de lesión oxidativa. En los casos de diarrea aguda o crónica, hay una pérdida significativa de zinc a nivel intestinal (47). En los países en desarrollo los niños mayores de 6 meses pueden beneficiarse de la utilización de zinc en el tratamiento de GEA; sin embargo, en las regiones donde la deficiencia de zinc es rara, no se benefician de su uso, con un grado de recomendación IA (1). Sin embargo, en 2004 se aconsejó por parte de la OMS y UNICEF añadir zinc a las SRO en todos los países (4,47) tras el cambio de sus recomendaciones de bajar a SRO de baja osmolaridad. En los países donde se han introducido las nuevas SRO y el zinc, la tasa del uso de SRO ha aumentado (4). El zinc parece poseer un mayor efecto sobre la duración de la diarrea que sobre el número y el volumen de las deposiciones, pudiendo aumentar los vómitos (1).

Prebióticos y simbióticos, probióticos

Los prebióticos son alimentos funcionales no digeribles, generalmente fructooligosacáridos, que promueven el mantenimiento y la funcionalidad de los organismos que forman la flora intestinal. Según la OMS, los probióticos son microorganismos vivos que administrados en cantidades suficientes producen efectos beneficiosos para la salud. Los probióticos pueden proteger al huésped de los gérmenes patógenos por dos mecanismos principales: la resistencia a la colonización o efecto barrera y la modulación de los mecanismos de defensa del huésped. Por una parte pueden inhibir competitivamente la adhesión microbiana, sintetizar componentes que inhiben o destruyen patógenos, estimular la respuesta inmune a los patógenos o competir por el consumo de nutrientes necesarios para el crecimiento bacteriano. Los simbióticos son preparados que contienen la combinación de prebiótico y probiótico.

Los prebióticos no se recomiendan y los simbióticos precisan de más evidencias para ser recomendados (1, 47).

En cuanto a los probióticos, la administración de determinadas cepas como complemento a la SRO, han demostrado que son capaces de reducir la duración de la diarrea y disminuir la duración e intensidad de los síntomas de GEA. El uso de probióticos tiene un alto grado de recomendación IA (1,4,20). Los mecanismos de acción de los probióticos son dependientes de la cepa. Las cepas que han demostrado evidencia para ser recomendadas son: *Lactobacillus rhamnosus GG*, *Sacharomyces boulardii*, *Lactobacillus reuteri ATCC 55730*, *Lactobacillus casei DN-114 001*, *Bifidobacterium lactis* y *Streptococcus thermophilus*. Los probióticos reducen la duración de la diarrea en 1-2 días (4,47) y es importante administrarlos en los 2-3 primeros días del proceso. Los efectos de los probióticos son más consistentes en caso de etiología viral y en concreto de rotavirus (4). También se han mostrado eficaces en reducir la estancia media hospitalaria en 1,12 días (1).

Probióticos combinados con otros fármacos como la nitazoxanida, un agente antiparasitario utilizado para tratar *Cryptosporidium* y *Giardia*, reduce la duración media de hospitalización y duración de la diarrea significativamente en comparación con la terapia con SRO sola (20).

1.8.4 MANEJO TERAPÉUTICO

Ante un niño con GEA el manejo sería el siguiente (63):

1.8.4.1 Paciente no deshidratado

- Valorar la presencia de factores de riesgo de deshidratación: lactante de corta edad, pérdida rápida e importante de líquidos o ingesta reducida, mal estado general, incapacidad del cuidador para administrar SRO.
- Sin factores de riesgo: manejo domiciliario, continuando con alimentación adecuada a la edad y dando aportes suplementarios de líquidos (10ml/Kg por cada deposición diarreica y 2ml/kg por cada vómito).
- Con factores de riesgo: misma actitud, pero manteniendo al niño en observación un tiempo prudencial para asegurarnos de que mantiene una buena hidratación con una ingesta adecuada de líquidos.

1.8.4.2 Deshidratación leve

- Si presenta vómitos: probar tolerancia con SRO en pequeñas cantidades (5ml cada 5 minutos durante una hora) y si sigue sin tolerar tras varios intentos pasar a rehidratación con sonda nasogástrica o intravenosa.
- Si tolera: rehidratación oral con SRO reponiendo el déficit estimado (50ml por Kg) en 4 horas
- Tras completar la rehidratación: reiniciar la alimentación normal adecuada para su edad, suplementando con SRO para las pérdidas mantenidas (10ml/Kg por cada deposición diarreica y 2ml/kg por cada vómito).

1.8.4.3 Deshidratación moderada

- Si presenta vómitos: la misma actitud que en el caso anterior (probar tolerancia).
- Si tolera: rehidratación oral con SRO, reponiendo el déficit estimado (alrededor de 100 ml/kg) también en 4 horas.
- Tras completar la rehidratación: la misma actitud que en la deshidratación leve (reiniciar alimentación normal, reponiendo las pérdidas mantenidas con SRO).

El proceso de rehidratación se completaría bajo supervisión médica, pudiendo dar el

alta tras finalizar el mismo y siempre que no tengamos dudas diagnósticas.

1.8.4.4 Deshidratación severa

Es indicación de rehidratación intravenosa. La figura 8 muestra un algoritmo de tratamiento en función del grado de deshidratación observado. En la tabla 17 se muestran las situaciones en las que se debe acudir a ser valorado por un pediatra.

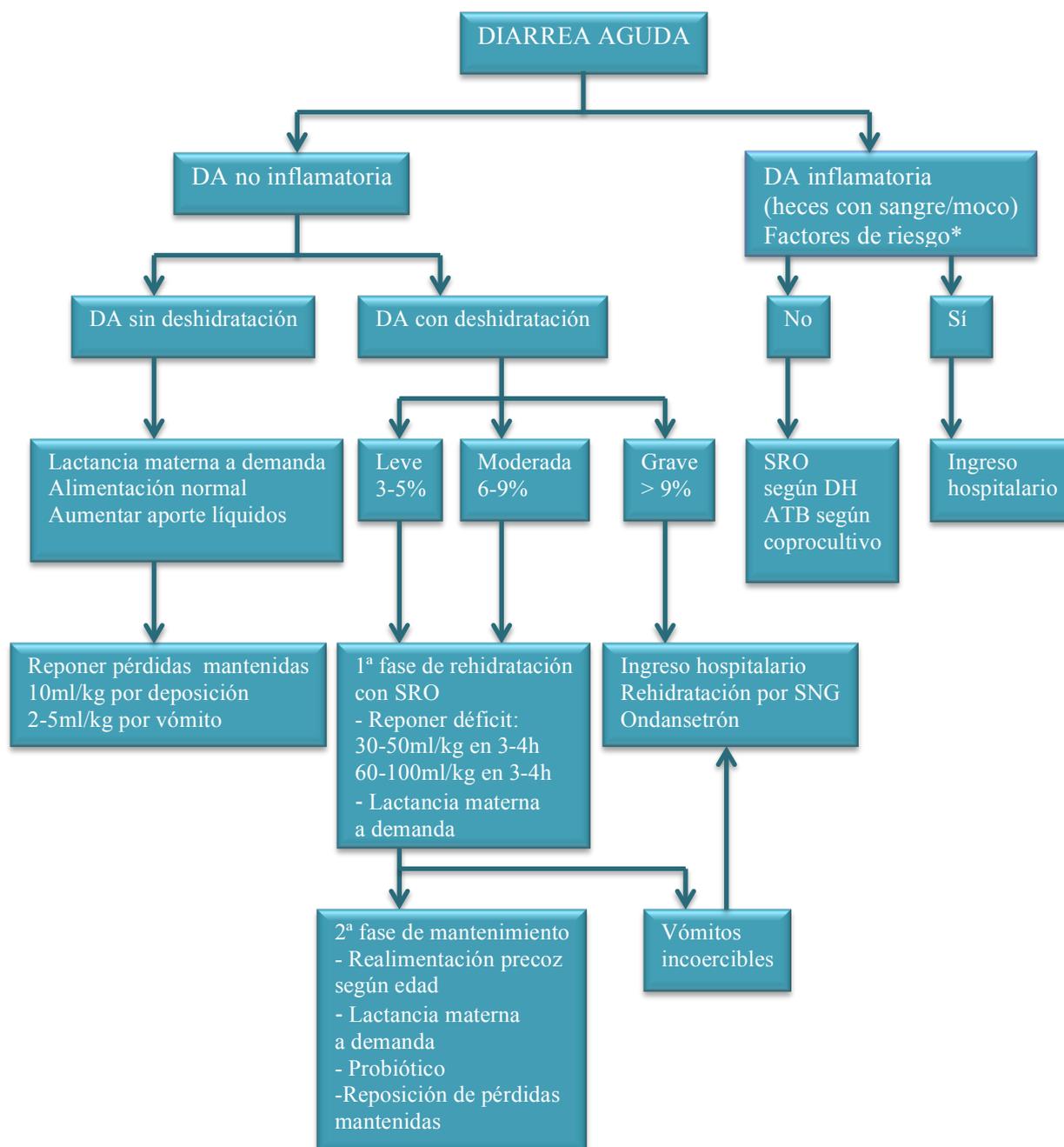


Figura 8. Algoritmo de tratamiento según el grado de deshidratación.

GEA: Indicaciones de consulta médica
Signos de deshidratación
Alteración nivel de conciencia
Niños pequeños (menores de 6 meses/ 8 Kg de peso)
Fiebre >38° en menores de 3 meses o > 39° en niños entre 3-36 meses
Sangre visible en heces
Diarrea de alta producción en volumen y frecuencia
Vómitos persistentes
Respuesta subóptima de la TRO o incapacidad del cuidador para administrar TRO
No mejoría en 48 horas /exacerbación de los síntomas
Empeoramiento estado general
Anuria en las 12 horas previas
Historia de prematuridad, enfermedades crónicas o enfermedad concurrente

Tabla 17. Indicaciones de consulta médica.

1.9 PREVENCIÓN Y VACUNAS

La prevención es la medida más importante en el manejo de las enfermedades diarreicas. Las vacunas no están disponibles actualmente para todos los patógenos entéricos, por lo que los esfuerzos para interrumpir la transmisión de la infección son cruciales. Las medidas más importantes para prevenir la propagación de patógenos entéricos incluyen el saneamiento adecuado en los métodos de elaboración y preparación de alimentos, los suministros de agua potable, la pasteurización de la leche, la higiene adecuada de las manos, el alcantarillado, la exclusión de las personas infectadas de manipular alimentos o la prestación de servicios de salud, y la exclusión de las personas con diarrea para el uso del agua pública de recreo. Los procedimientos más importante para reducir al mínimo la transmisión fecal-oral en guarderías son las medidas de higiene de manos frecuente, combinadas con la formación del personal y el seguimiento de los procedimientos empleados (37). La promoción de la lactancia materna y un adecuado estado de nutrición ayudan a la disminución de la morbimortalidad (5).

Las primeras líneas de defensa contra cualquier enfermedad infecciosa son la higiene de las manos y los esfuerzos en el saneamiento; la infección por rotavirus no es una excepción. Sin embargo, aunque las mejoras en la calidad del agua, la vivienda y las infraestructuras sanitarias, ha reducido la frecuencia de la GEA causada por otros patógenos entéricos como bacterias o parásitos, la magnitud de la infección por agentes

víricos como el RV no ha disminuido en igual medida (20). Por tanto, son necesarias otras medidas en la prevención, y ese lugar lo ocupan las vacunas.

1.9.1 VACUNAS

El desarrollo de vacunas contra el rotavirus ha tenido una serie de inconvenientes. Las primeras vacunas se realizaron con cepas atenuadas de origen animal, pero aunque sus resultados en países desarrollados fueron positivos, éstos no se acompañaron de la misma eficacia reduciendo la mortalidad en los países en desarrollo. La primera vacuna recombinante se comercializó en EEUU en 1998, RotaShield[®] (Wyeth[®]). Se trataba de una vacuna tetravalente para la inmunización rutinaria de los lactantes (64). En 1999, la producción se detuvo después de que la vacuna se asociara a la invaginación intestinal (4). Esto retrasó el desarrollo de nuevas vacunas casi una década (20).

La OMS en coordinación con los Centros de Control y Prevención de Enfermedades, desarrollan a principios de siglo redes de vigilancia para casos graves de enfermedad por rotavirus que requieren hospitalización. Por medio de estas redes, se confirmó que el desarrollo y la introducción mundial de vacunas contra el rotavirus es una estrategia clave para reducir la carga de esta enfermedad (51,64).

En el año 2006 se comercializan dos tipos de vacunas atenuadas frente al RV. Rotarix[®] (GlaxoSmithKline Biologicals[®], Wavre, Bélgica) y RotaTeq[®] (Merck & Co[®], West Point, PA, EEUU, Sanofi Pasteur MSD[®], Europa). Rotarix[®] es una vacuna monovalente oral basada en una cepa atenuada del RV G1P[8] (cepa vacunal RIX4414) humano y se administra por vía oral en dos dosis, a los 2 y 4 meses de edad. RotaTeq[®] es una vacuna pentavalente viva atenuada oral que utiliza la cepa de rotavirus bovino WC3. Contiene cinco cepas atenuadas, obtenidas por recombinación genética entre esta cepa y cepas de rotavirus humanos, que expresan cada una los antígenos G1, G2, G3, G4 y P[8]. Se administra con una pauta de 3 dosis a los 2, 4, y 6 meses de edad (26,51,65).

Los ensayos iniciales de estas vacunas realizados en Europa y América, demostraron una eficacia del 85-95% para la diarrea grave por RV reduciendo la hospitalización y 72-74% de protección contra toda infección por rotavirus (66). No se asociaron a aumento de los casos de invaginación intestinal (20, 51).

En 2006, la OMS recomendó la introducción de estas vacunas en América y Europa. Países como Nicaragua, Venezuela, México, Brasil, Panamá y El Salvador introdujeron la vacuna en sus calendarios de inmunización. EEUU fue el primer país desarrollado en administrar la vacuna en su calendario, también ese mismo año (51).

La introducción de estas dos vacunas ha dado como resultado una reducción significativa en el número de casos de gastroenteritis grave en los países desarrollados. Al año siguiente de la aplicación de la medida en EEUU, la magnitud de la carga producida por el RV se redujo a la mitad. También se produce un descenso en las muertes infantiles causadas por la GEA por RV en los países en desarrollo donde se ha introducido el uso de la vacuna (16,20,67).

En el año 2009, la OMS aumentó sus recomendaciones basándose en estos resultados, aconsejando la inclusión de la vacuna contra el RV en todos los países. Se considera que debe hacerse un especial esfuerzo en las naciones que tengan cifras en las que la mortalidad asociada a diarrea sea $\geq 10\%$ en niños menores de 5 años (20,67).

Actualmente, ambas vacunas están ampliamente distribuidas a nivel mundial y son recomendadas por organismos como la Sociedad Europea de Enfermedades Infecciosas Pediátricas (ESPID), ESPGHAN y la Academia Americana de Pediatría (AAP) (26). En el panorama mundial actual existe diversidad entre los distintos países, encontrando naciones con la vacuna incluida de forma sistemática en el calendario de inmunizaciones, naciones que autorizan su comercialización sin ser sistemática y estados que no tienen acceso a la vacuna. Además, los distintos países optan por una vacuna para sus programas o incluso comercializan las dos de forma simultánea. España no tiene la vacuna en su programa sistemático de vacunación, a pesar de estar recomendado por la Asociación Española de Pediatría (AEP) en su calendario. Solamente se dispone de Rotateq[®], ya que Rotarix[®] no se encuentra en las farmacias españolas desde 2011 por decisión de la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios (AEMPS), a pesar de la autorización de la Agencia Europea de Medicamentos (EMA) (26,51,65). Las coberturas alcanzadas en España difieren de una comunidad autónoma a otra, oscilando entre el 26 % de Baleares y el 71% de la Comunidad de Madrid. Canarias alcanza una cobertura del 54% y en la provincia de Las Palmas del 50% a marzo de 2015 (figura 9). En la tabla 18 se muestra la evolución de

las coberturas vacunales en la provincia de Las Palmas, Canarias y España desde el año 2007 a marzo de 2015.

	Porcentaje de cobertura vacunal								
	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015
Las Palmas	11	35	45	18	18	37	41	46	50
Canarias	12	34	46	20	22	42	45	49	54
España	17	35	38	18	23	40	43	47	48

Tabla 18. Evolución de la cobertura vacunal.

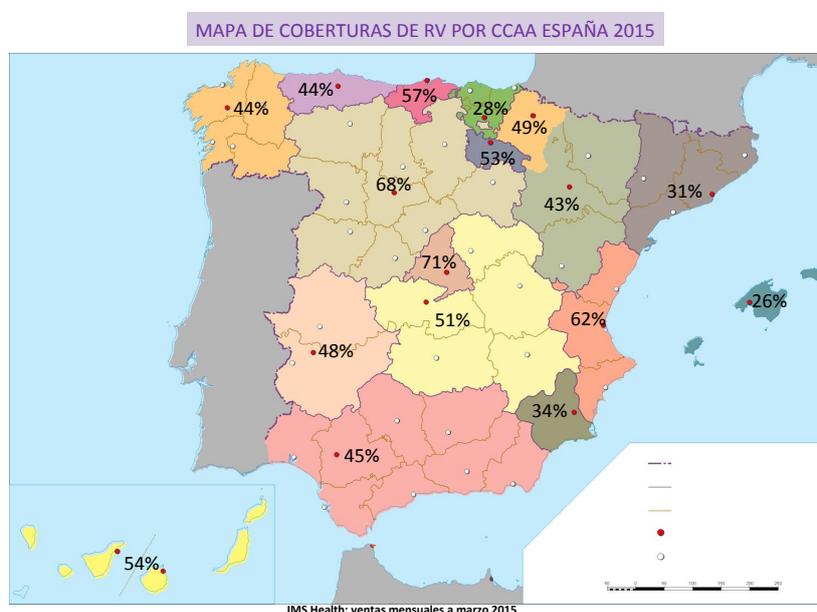


Figura 9. Mapa de coberturas vacunales de RV en las comunidades autónomas españolas a marzo de 2015.

Las vacunas confieren inmunidad basándose en la circunstancia que se observa en la historia natural de la infección por RV. Las infecciones por este germen, sean sintomáticas o no, proporcionan protección parcial y creciente ante futuros contactos frente a la misma cepa (inmunidad homotípica) y ante cepas diferentes (inmunidad heterotípica) desarrollándose cuadros cada vez más leves (26,51). Esto puede provocar

que el uso generalizado de estas vacunas produzca presiones selectivas sobre los RV humanos, desencadenando cambios genéticos y antigénicos que disminuyan la eficacia de los programas de vacunas. Por tanto, la importancia de la vigilancia de las cepas circulantes y su evolución es muy importante (16).

Existen otras vacunas de menor distribución. En China, la vacuna monovalente contra el rotavirus del cordero Lanzhou, que se basa en la cepa atenuada de cordero G10P[12]. En el Reino Unido, vacunas orales tetravalentes que combinan una cepa bovina G6P[7] con los antígenos humanos G1-G4 desarrolladas por el Instituto Nacional de Salud humano-bovinas y que tienen licencia para la fabricación de varias compañías farmacéuticas en China, Brasil y la India (51).

El aumento del papel de los NV tras la mejora y el acceso a las técnicas diagnósticas y la reducción de la carga producida por el RV a raíz de la vacuna, lo hace candidato al desarrollo de inmunización específica. Sin embargo, la principal limitación para el desarrollo de vacunas es la dificultad de establecer un sistema de cultivo celular. Una de las estrategias más prometedoras consiste en la producción de partículas similares a virus (VLP) recombinantes expresadas en baculovirus o en plantas transgénicas, ya que se ha demostrado que son inmunogénicas y seguras cuando se inoculan oralmente a voluntarios. No obstante, existen muchos retos en el desarrollo de una potencial vacuna, como son el conocimiento insuficiente de la correlación entre inmunidad y protección, la breve duración de la inmunidad, la ausencia de protección cruzada y la existencia de múltiples tipos genéticos y antigénicos de NV (3,28).

JUSTIFICACIÓN

2. JUSTIFICACIÓN

La gastroenteritis aguda es un problema de dimensión mundial que afecta a todos los países. En función de su nivel económico e infraestructuras sociosanitarias, las naciones tendrán un problema de morbilidad y gasto económico, con un elevado consumo de recursos sanitarios, a lo que se le puede añadir una elevada mortalidad infantil.

Esta relación de la economía con la morbimortalidad para la gastroenteritis aguda en general, se ha puesto de manifiesto en zonas geográficas y continentes diferentes para el rotavirus en particular. En la región del norte de África y Oriente Medio definida por la OMS como región geopolítica del Mediterráneo Oriental, países como Yemen, Irak, Somalia o Sudán presentan elevada mortalidad, en contraste con Bahrein, Israel o Kuwait cuyo problema de defunciones es menor; no así como la hospitalización y consultas médicas (19,68). En el África subsahariana, contrasta Nigeria con 71.400 muertes en menores de 5 años por rotavirus en 2009 con Sudáfrica con 323 fallecidos (69). En la región europea de la OMS, la mortalidad es mucho menor, pero se observa el mismo fenómeno. Se estiman aproximadamente 6.500 muertes en esta región, de las que el 93% se concentran en siete países: Azerbaiyán, Kazajstán, Kirguistán, Tayikistán, Turkmenistán, Uzbekistán y Turquía. Se da la circunstancia que Turquía es quien más contribuye a la mortalidad siendo de un nivel económico medio superior, porque la mortalidad se concentra en la zona oriental predominantemente rural, con menor nivel educacional y nutricional (66). En la Unión Europea las muertes son escasas, pero sí se producen hospitalizaciones y visitas médicas, con un coste medio de 1.417 euros por caso, 1.776 euros en España (48). 1 de cada 5 niños visitará un médico y 1 de cada 54-67 será hospitalizado por la enfermedad causada por rotavirus antes de los 5 años de edad (23,48,64).

Múltiples revisiones y estudios se han llevado a cabo para entender la enfermedad por rotavirus, sus manifestaciones y particularidades para poder mitigar el impacto de este virus en la salud y la sociedad mundial. Desde el año 2001, la OMS estableció redes de vigilancia hospitalaria para el seguimiento de las diferentes cepas de rotavirus circulantes en 35 países (21) que han pasado a ser 44 países, observándose que

los serotipos varían entre continentes, regiones y países. A nivel europeo también existen redes de vigilancia entre países asociados y muchas naciones en el mundo realizan monitorización de sus cepas, ya sea a nivel institucional o con estudios particulares. Existen incluidas las de la OMS, redes de vigilancia con datos de 196 zonas de 59 países (51). A pesar de que actualmente G1P[8], G2P[4], G3P[8], G4P[8], G9P[8] y G12P[8], constituyen la gran mayoría de las cepas aisladas, los porcentajes de aislamiento varían y cada año se detectan cepas emergentes diferentes en distintas partes del mundo y dentro de cada país que llegan a ser las más aisladas en años sucesivos en zonas diferentes a donde se comenzaron a aislar.

Desde que se introdujo la vacuna contra el rotavirus en 2007, la heterogeneidad de la situación es mayor. Existen países con la vacunación sistemática en los que se espera que la morbimortalidad disminuya y el papel del rotavirus como productor de gastroenteritis aguda decrezca, naciones con la vacuna comercializada pero no sistemática, donde la reducción será menor y lugares sin disponibilidad para la vacuna. Esta situación añade más variables al curso natural de las cepas de rotavirus, ya que se puede ejercer una presión sobre las cepas recogidas en la vacuna y hacer emerger otras, así como aumentar el papel de otros virus.

Por todo lo expuesto, se induce que hacer extrapolaciones sobre la epidemiología y las cepas circulantes de RV puede llevar a subestimar lo que ocurre realmente en una población determinada.

La gastroenteritis aguda producida por norovirus cada vez cobra más importancia a nivel mundial, no sólo vinculado a brotes epidémicos, sino como productor de casos esporádicos. Los norovirus se han convertido en importante causa de hospitalización por gastroenteritis en los niños de todo el mundo, con prevalencias e impacto clínico en el mismo rango que el observado para los rotavirus (31). La mejora y el acceso a los métodos diagnósticos adecuados ha puesto de manifiesto que el norovirus era un agente productor de diarrea aguda fuera de los brotes, antes incluso que se ejerciera la presión vacunal sobre el rotavirus. En 2008 se detectó el auge de los norovirus. Sin diferencias significativas, la prevalencia para norovirus parece ser mayor en Centroamérica, América del Sur y la región del Mediterráneo Oriental. Algunos estudios aportaron datos conjuntos de rotavirus y norovirus en niños hospitalizados;

siendo prácticamente igual de comunes (31). Los norovirus son responsables de más de 235.000 visitas médicas y 23.000 hospitalizaciones en menores de 5 años en EEUU, donde la vacuna contra rotavirus es sistemática (54). En España los norovirus no están sujetos a vigilancia específica; por tanto, los datos que se conocen son los publicados por algunos estudios (70, 71) que no recogen la situación en Canarias.

Los astrovirus y adenovirus sí han sido considerados como agentes productores de gastroenteritis aguda en casos esporádicos desde un inicio. Sin embargo, debido a la magnitud y la importancia del rotavirus junto con el auge de los norovirus, se consideran como causas menos importantes. De forma análoga a lo que ocurre con los norovirus, el peso específico de estos dos virus podría aumentar si en los años sucesivos la vacuna de rotavirus alcanzara coberturas altas de manera regular en todos los países.

En Canarias no se han realizado estudios en este sentido, ni en época prevacunal, ni al inicio de la comercialización, ni en la actualidad donde la cobertura ronda el 50%. Se desconocen las cepas de RV que circulan en Gran Canaria y los cambios que se han producido a lo largo de los años. La distribución de cepas en Canarias, debido a su nivel económico, se esperaría que tuviera semejanza con Europa. Sin embargo, el archipiélago canario se encuentra localizado en el continente africano del que recibe inmigración, tiene un clima subtropical y además forma parte de las rutas comerciales con América. Todas estas circunstancias pueden hacer que la realidad de la enfermedad por rotavirus en Gran Canaria tenga particularidades que no se han descrito. De otra parte, tampoco se conoce el papel de los norovirus y si tienen un peso tan importante como el que se le otorga actualmente en casos esporádicos. Los astrovirus y los adenovirus no han sido evaluados.

Esta tesis pretende aportar la situación de las gastroenteritis virales en pacientes ingresados menores de 5 años de edad en la isla de Gran Canaria al inicio de la comercialización de la vacuna del rotavirus, mediante el análisis de la frecuencia, distribución y características de los distintos agentes causales del cuadro diarreico.

OBJETIVOS

3. OBJETIVOS

3.1. OBJETIVOS PRIMARIOS

- Conocer la etiología de los casos de gastroenteritis aguda en los menores de 5 años ingresados en la isla de Gran Canaria.
- Describir los genotipos de rotavirus circulantes que ocasionan hospitalización en los niños menores de 5 años en Gran canaria.
- Definir los patrones estacionales, especialmente de rotavirus y sus cepas.
- Identificar factores implicados en la severidad de la gastroenteritis aguda.

3.2. OBJETIVOS SECUNDARIOS

- Describir las características clínicas y epidemiológicas de los pacientes menores de 5 años ingresados por gastroenteritis aguda en nuestro medio vinculándolas a cada germen.
- Estimar la incidencia anual de hospitalizaciones debidas a rotavirus y su evolución en relación con la cobertura vacunal en Gran Canaria.

PACIENTES Y MÉTODOS

4. PACIENTES Y MÉTODOS

Los datos analizados en esta tesis pertenecen al estudio interdisciplinar de gastroenteritis virales en España, llamado Vigess-net con el código de identificación E05-ROT-519. Participan centros hospitalarios de 15 Comunidades Autónomas españolas. El estudio se ajusta a las normas éticas sobre investigación biomédica con sujetos humanos (Asambleas Mundiales de Médicos. Declaraciones de Helsinki, Tokio, Venecia y Hong Kong) y es viable en cuanto a planteamiento científico, objetivos, material y métodos, etc.

El diseño empleado es el de un estudio observacional prospectivo realizado en el Complejo Hospitalario Universitario Insular Materno Infantil de Canarias (CHUIMIC) durante 21 meses, en el periodo comprendido entre Mayo 2007 y Marzo 2009, incluyendo 204 casos.

4.1 CRITERIOS DE INCLUSIÓN

- Niños menores de 5 años ingresados en la Unidad de Enfermedades Infecciosas del Servicio de Pediatría del CHUIMIC por gastroenteritis aguda de más de 12 horas de evolución, definiendo ésta como la presencia de 3 o más deposiciones blandas o líquidas las últimas 24 horas. Los síntomas debieron aparecer los últimos 7 días antes de la visita médica y debieron estar precedidos de un periodo asintomático de 14 días.
- Sus padres o tutores debieron aceptar el consentimiento informado.

4.2 CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

- Pacientes que tuvieran diagnóstico previo de enfermedad gastrointestinal no infecciosa cuyos síntomas fueran compatibles con la definición de GEA (celiaquía, enfermedad inflamatoria intestinal, Hirschsprung).
- Niños mayores de 5 años.

- Casos de GEA nosocomial.
- Niños con diarrea crónica (> de 2 semanas de duración).

4.3 PROCEDIMIENTO DE RECOGIDA DE DATOS

Cuestionario

A todos los niños incluidos en el estudio se le asignó un código de identificación del paciente.

El cuestionario se cumplimentó tras la inclusión del paciente durante su estancia hospitalaria. Este cuestionario recogió las siguientes variables:

1. Demográficas:
 - a. Edad.
 - b. Sexo.
 - c. Lugar de residencia.

2. Epidemiológicas:
 - a. Estancia en el extranjero los últimos 21 días indicando zona y país.
 - b. Contacto con personas que hayan estado en el extranjero los últimos 21 días indicando zona y país.
 - c. Contacto con personas afectas de diarrea los últimos 21 días.
 - d. Asistencia a guardería.
 - e. Vacunación frente a rotavirus indicando tipo, fecha y número de dosis.
 - f. Profesión, dedicación actual y nivel de estudios materno y paterno.

3. Clínicos:
 - a. Fecha de ingreso y alta.
 - b. Días de ingreso.
 - c. Fecha de inicio y fin de diarrea.
 - d. Duración de la diarrea.
 - e. Desenlace: recuperado, fallecimiento u otro.
 - f. Complicaciones: sepsis, osteomielitis, malnutrición, diarrea grave rebelde, intolerancia a la lactosa, alergia a las proteínas vacunas u otras.

- g. Presencia de vómitos y número máximo por día.
- h. Presencia de fiebre y temperatura máxima.
- i. Características de la diarrea: número máximo por día, presencia de moco o sangre.
- j. Grado de deshidratación: ausencia, leve $\leq 5\%$, moderada 6-9% o grave $\geq 10\%$.
- k. Puntuación en la escala de gravedad de Ruuska y Vesikari: leve < 6 , moderada 7-11, grave ≥ 11 .

4. Analíticas:

- a. Grupo sanguíneo.
- b. Nivel de sodio.
- c. Nivel de potasio.
- d. Niveles de transaminasas: AST, ALT, GGT.

5. Microbiológicas:

- a. Resultado de muestra de heces.
- b. Hemocultivo si procedía.

6. Terapéuticas:

- a. Uso de rehidratación oral.
- b. Uso de rehidratación intravenosa.
- c. Uso de antibióticos.
- d. Uso de probióticos.

4.4 PROCESO DE IDENTIFICACIÓN Y RECOGIDA DE LA MUESTRA

Para la recogida de muestras se utilizó el protocolo aplicado a todo paciente que ingresa por GEA en la Unidad de Enfermedades Infecciosas del Servicio de Pediatría del CHUIMIC. De este modo no era preciso recoger muestras de heces ni de plasma extra, sino que se aprovechaba la solicitada por el médico a cargo del paciente.

Se recogió una muestra de heces de aproximadamente 5 gramos y no menos de 1,5 gramos dentro de los 3 primeros días y siempre dentro de los 14 desde la aparición de los síntomas. Las muestras se mantuvieron y se enviaron refrigeradas a temperatura de 4 grados centígrados al Servicio de Microbiología del Hospital Universitario de Gran Canaria Doctor Negrín. Los tubos fueron identificados mediante una etiqueta adhesiva con el mismo código de identificación del cuestionario de recogida de datos.

Las muestras se conservaron en un congelador a -20°C hasta su envío al Centro Nacional de Microbiología Instituto de Salud Carlos III (CNM), que se realizó de manera periódica.

4.5 ANÁLISIS DE LA MUESTRA

Las muestras obtenidas fueron analizadas en 2 centros:

- **Servicio de Microbiología del Hospital Universitario de Gran Canaria Doctor Negrín.**

En este centro las muestras de heces se analizaron aplicando los procedimientos habituales de coprocultivo para enteropatógenos bacterianos.

Para el diagnóstico de los virus se aplicaron técnicas inmunológicas de detección de antígeno. La detección de RV y ADV se realizó por ICG mediante RIDA[®] Quick Rotavirus/Adenovirus Combi (r-Biopharm) y por EIA para ADV por el test Premier Adenoclone[®] 40/41 (Meridian Bioscience). La detección de ASTV se realizó mediante el EIA Prospect Astrovirus (OXOID).

- **Centro Nacional de Microbiología Instituto de Salud Carlos III.**

Las muestras recibidas en el CNM se analizaron para detectar los siguientes virus según el protocolo descrito a continuación:

Rotavirus

Las muestras se analizaron siguiendo el proceso reflejado en la figura 10.

Al final de este proceso, e independientemente del diagnóstico viral inicial realizado en el hospital, la muestra se clasificó como:

- rotavirus negativo
- rotavirus positivo, siendo clasificados con más detalle como:
 - rotavirus positivo genotipo especificado
 - rotavirus positivo genotipo indeterminado

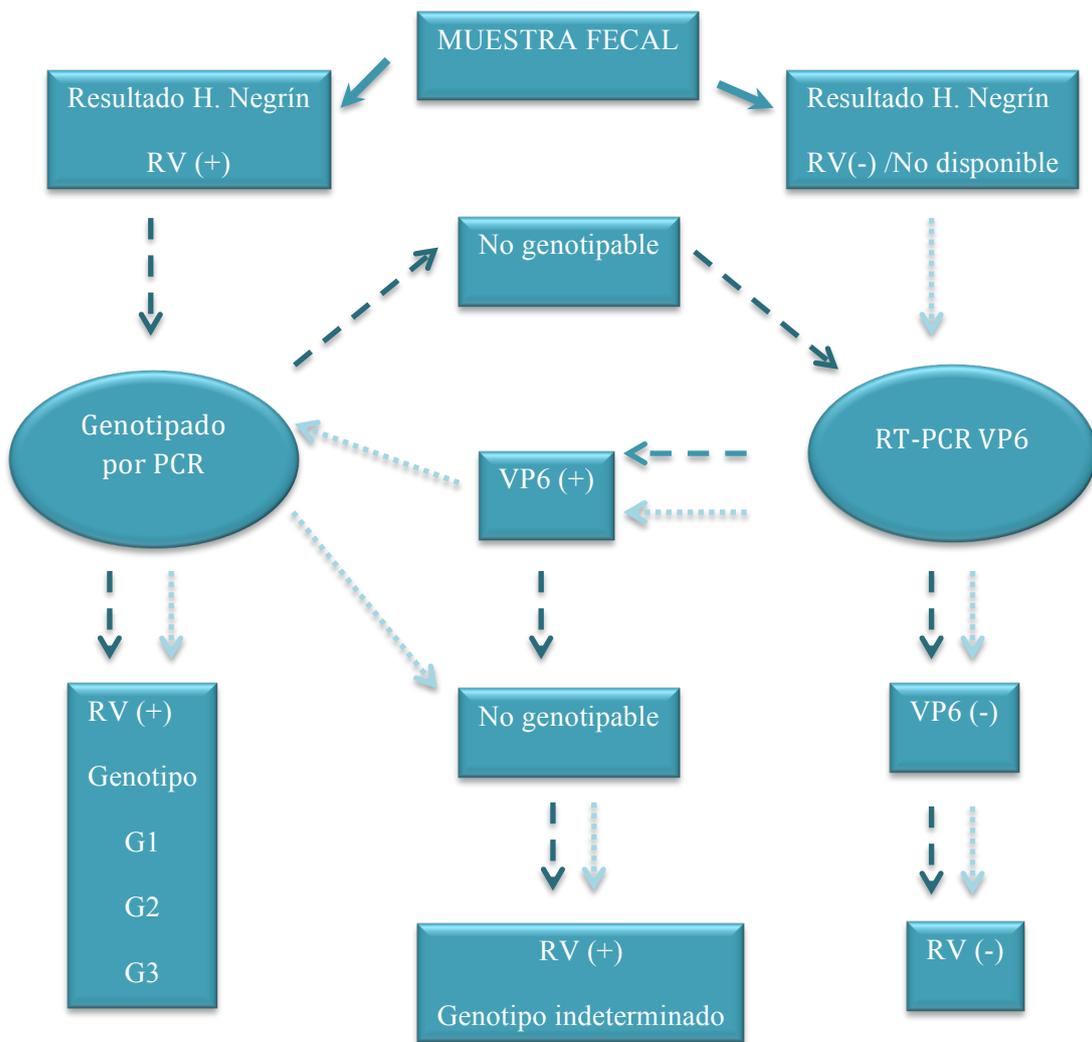


Figura 10. Diagrama del proceso para detección de rotavirus.

Adenovirus

La determinación de ADV se realizó mediante RT-PCR.

Astrovirus

Su determinación se realizó por medio de RT-PCR.

Calicivirus

La determinación de NV y sapovirus se realizó mediante RT-PCR.

Las muestras se procesaron obteniendo una suspensión al 10% de cada una en 0,1 mol/l de tampón fosfato salino, aplicando RT-PCR para rotavirus, astrovirus y norovirus. El ARN viral se extrajo 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 almacenó a -80 °C hasta que se usaban los métodos previamente descritos para la determinación de serotipos de rotavirus G y P (72,73,74).

4.6 DIAGNÓSTICO

La etiología final de la GEA se basó en los resultados del análisis viral realizado por el CNM y los resultados del análisis bacteriológico proporcionado por el Hospital Universitario de Gran Canaria Doctor Negrín. El resultado final pudo clasificarse como infección única por RV, NV, ADV, ASTV o bacterias, además de coinfecciones.

En la figura 11 se muestra el flujo de datos del estudio.

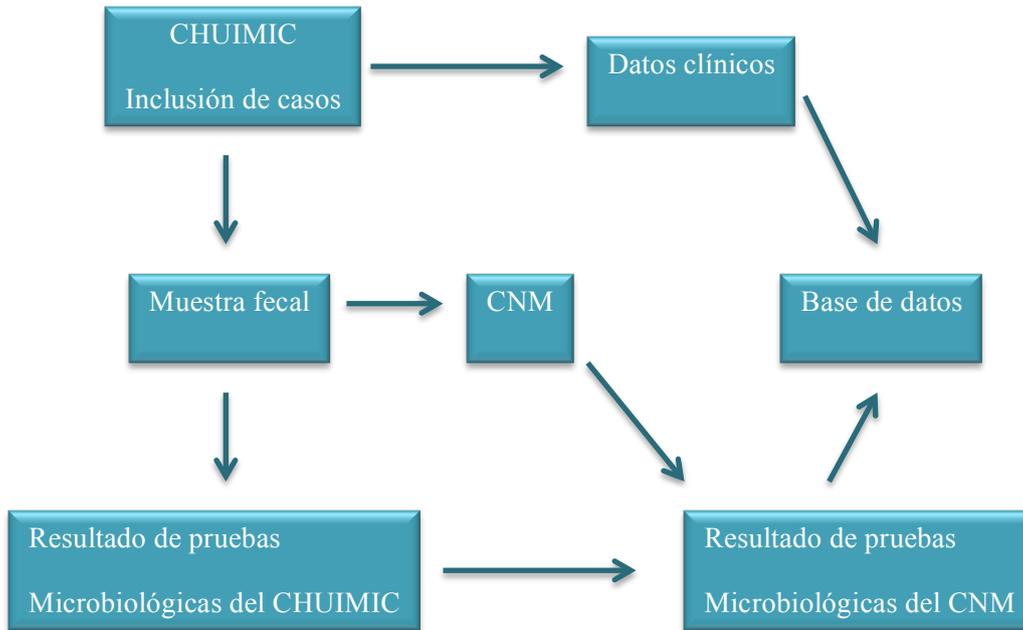


Figura 11. Flujo de datos.

4.7 MARCADORES EPIDEMIOLÓGICOS

El cálculo de la incidencia anual de ingreso hospitalario por GEA adquirida en la comunidad en menores de 5 años, se estimó dividiendo el número de casos de GEA ingresados por la población susceptible. Esta población se obtuvo de los datos recogidos en el padrón municipal (75).

$$\frac{\text{n}^\circ \text{ casos de GEA ingresados por año} \times 1000}{\text{Población susceptible por año}}$$

El cálculo de la incidencia anual de hospitalización por GEA debida a RV en menores de 5 años se estimó dividiendo el número de casos de GEA por RV ingresados por la población susceptible (datos del padrón municipal).

$$\frac{\text{n}^\circ \text{ casos de GEA por RV ingresados por año} \times 1000}{\text{Población susceptible por año}}$$

Año	Población < 5 años
1-1-2008	41699
1-1-2009	41433
1-1-2010	40442
1-1-2011	38994
1-1-2012	37726
1-1-2013	35982
1-1-2014	33870

Tabla 19. Población menor de 5 años en Gran Canaria por año (datos del padrón municipal).

El cálculo de la frecuencia de GEA como motivo de ingreso en menores de 5 años se estimó dividiendo el número de casos de GEA por el número total de niños menores de 5 años ingresados, que se obtuvo de la base de datos de codificación de altas del CHUIMIC. Para el cálculo de la frecuencia de GEA por RV como motivo de ingreso en menores de 5 años se cambió el numerador anterior por el número de casos de GEA por RV ingresados.

$$\frac{\text{nº casos de GEA ingresados por año}}{\text{nº total de niños ingresados por año}} \times 100$$

$$\frac{\text{nº casos de GEA por RV ingresados por año}}{\text{nº total de niños ingresados por año}} \times 100$$

Año	Niños ingresados < 5 años
1-1-2009	4055
1-1-2010	3664
1-1-2011	3694
1-1-2012	3812
1-1-2013	3144
1-1-2014	3213

Tabla 20. Número de ingresos de menores de 5 años en el CHUIMIC por año.

4.8 ANALISIS ESTADÍSTICO

Para las distintas clasificaciones consideradas en el estudio, las variables categóricas se resumieron en frecuencias y porcentajes y las numéricas en medianas y rangos intercuartílicos (IQR). Los porcentajes se compararon, según procediera, con el test de la χ^2 o el test exacto de Fisher y las medianas con el test de Kruskal-Wallis. En orden a identificar las variables de patógenos y serotipos que mantenían asociación simultánea con la escala de gravedad se realizó un análisis de regresión lineal en el que se incluyeron las referidas variables más la edad. Se realizó entonces una selección de variables mediante el método del mejor subconjunto de variables utilizando el algoritmo de enumeración completa, Morgan y Tatar (1972) (76) y el criterio de información bayesiano (BIC). Para las variables numéricas seleccionadas se exploraron sus posibles efectos no lineales utilizando los modelos aditivos, Hastie y Tibshirani (1986) (77). Tales efectos no lineales se estimaron mediante splines cúbicos obtenidos por la penalización de los mínimos cuadrados. Un contraste de hipótesis se consideró estadísticamente significativo, cuando el correspondiente p-valor fue inferior a 0.05. Los datos se analizaron utilizando el paquete R, versión 3.1.0 (R Development Core Team, 2014) (78).

RESULTADOS

5. RESULTADOS

5.1. CARACTERÍSTICAS DE LA POBLACIÓN DE ESTUDIO

El grupo de estudio se constituyó con 204 pacientes que ingresaron en la Unidad de Enfermedades Infecciosas del Servicio de Pediatría del CHUIMIC en las fechas comprendidas entre mayo del año 2007 y marzo de 2009.

Un 55.4 % (n=113) de los casos de la muestra eran varones y un 44.6% (n=91) eran mujeres (figura 12).

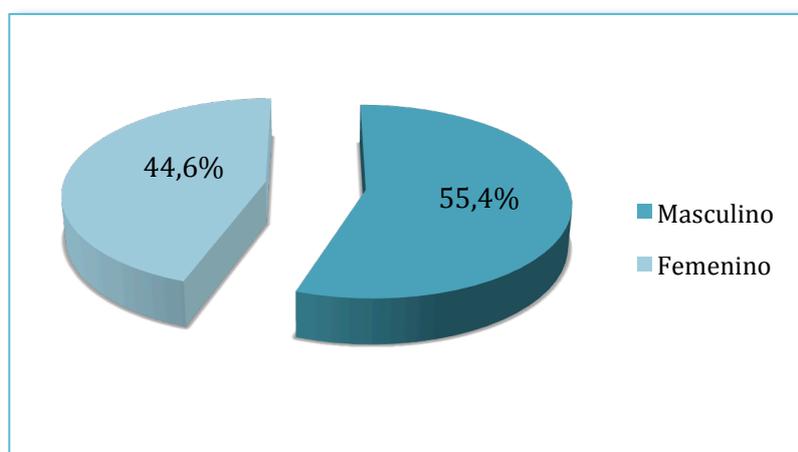


Figura 12. Distribución de los casos de la muestra según sexo.

La edad media de la muestra fue 16,9 meses y la mediana 12 meses. Los pacientes se dividieron en grupos etarios para los diversos análisis. Estos grupos fueron: niños menores de 6 meses (primer grupo), niños entre 6 y 24 meses (segundo grupo) y niños mayores de 24 meses (tercer grupo). El grupo más numeroso fue el segundo. El sexo masculino predominó en los grupos de menor rango de edad, mientras que en el grupo mayor de 24 meses predominó el sexo femenino (figura 13).

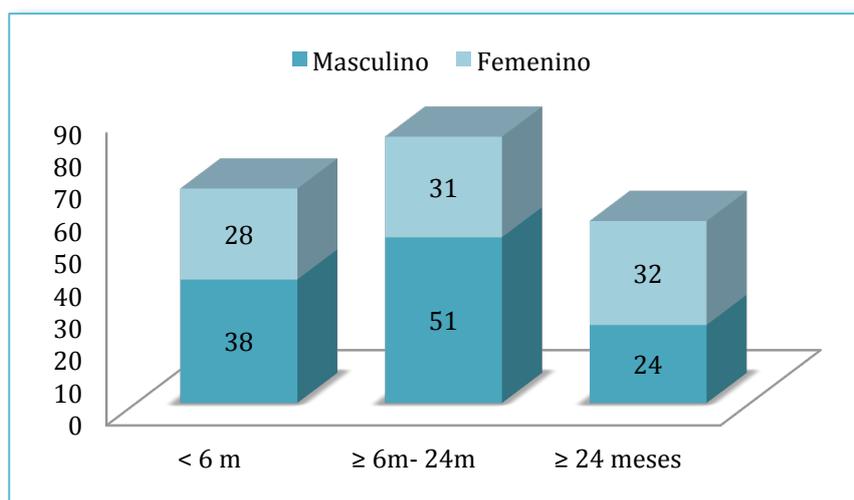


Figura 13. Distribución de los casos en los grupos etarios y distribución del sexo en cada uno de ellos.

En la primera temporada del estudio que abarcó los meses de mayo de 2007 a abril de 2008 los ingresos predominaron al final de la primavera, con picos máximos en los meses de marzo y abril.

En la segunda temporada del estudio que fue de mayo de 2008 a marzo de 2009, en el final del verano y del otoño hubo más casos (figura 14).

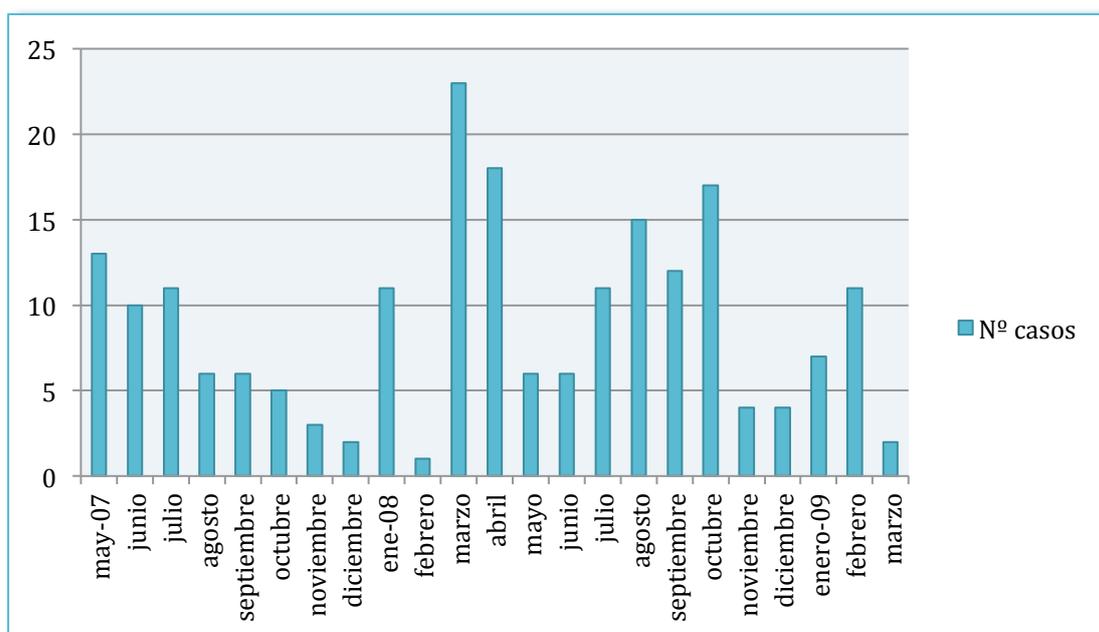


Figura 14. Distribución de los casos en los meses del estudio.

El 73,5% de la muestra (n=150) presentó un cuadro severo de GEA (puntuación mayor de 11 en la escala de Vesikari) y el 26,5% (n=54) obtuvo una puntuación entre 8-11, catalogándose como moderada. No hubo ningún caso leve. La puntuación media en la escala de severidad fue 13,28. El valor mínimo obtenido fue una puntuación de 8 y el máximo de 20.

La estancia media fue de 6,14 días (DE 3; mediana 5), siendo el tiempo mínimo de ingreso 2 días y el máximo de 20.

5.2. RESULTADOS DEL ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

5.2.1 ANÁLISIS DE LOS AISLAMIENTOS

El número total de gérmenes aislados fue 309 (tabla 21).

GERMEN	n	%
Rotavirus	91	29,4
Norovirus	74	23,9
Astrovirus	18	5,8
Adenovirus	10	3,2
<i>Salmonella</i>	72	23,3
<i>Campylobacter</i>	23	7,4
<i>Aeromona</i>	9	2,9
<i>E. coli</i>	2	0,6
<i>Cryptosporidium</i>	1	0,3
Negativo	9	2,9
TOTAL	309	100

Tabla 21. Gérmenes aislados.

El agente aislado en mayor frecuencia fue rotavirus, seguido de norovirus y *Salmonella*. En la primera temporada del estudio el porcentaje de aislamientos de RV y NV fue similar, mientras que en la segunda temporada el porcentaje de NV aislados fue menor. La presencia de *Salmonella* fue parecida en las dos temporadas (tabla 22).

Aislamientos	Primera temporada		Segunda temporada		TOTAL
Negativo	2	(1,2)	7	(4,7)	9
Rotavirus	50	(31,1)	41	(27,7)	91
Norovirus	50	(31,1)	24	(16,2)	74
Adenovirus	1	(0,6)	9	(6,1)	10
Astrovirus	2	(1,2)	16	(10,8)	18
<i>Salmonella</i>	40	(24,8)	32	(21,6)	72
<i>Campylobacter</i>	9	(5,6)	14	(9,5)	23
<i>Aeromona</i>	4	(2,5)	5	(3,4)	9
<i>E. coli</i>	2	(1,2)	0	(0)	2
<i>Cryptosporidium</i>	1	(0,6)	0	(0)	1
TOTAL	161	(100)	148	(100)	309

Tabla 22. Distribución de los gérmenes aislados en las temporadas del estudio [n y (%)].

El análisis por grupos de gérmenes mostró que la frecuencia de virus aislada en orden decreciente fue rotavirus, seguido de norovirus, astrovirus y adenovirus. En cuanto a las bacterias, *Salmonella* fue la bacteria más presente seguida de *Campylobacter*. En la figura 15 se muestra la distribución de los gérmenes aislados en mayor frecuencia durante el tiempo de estudio.

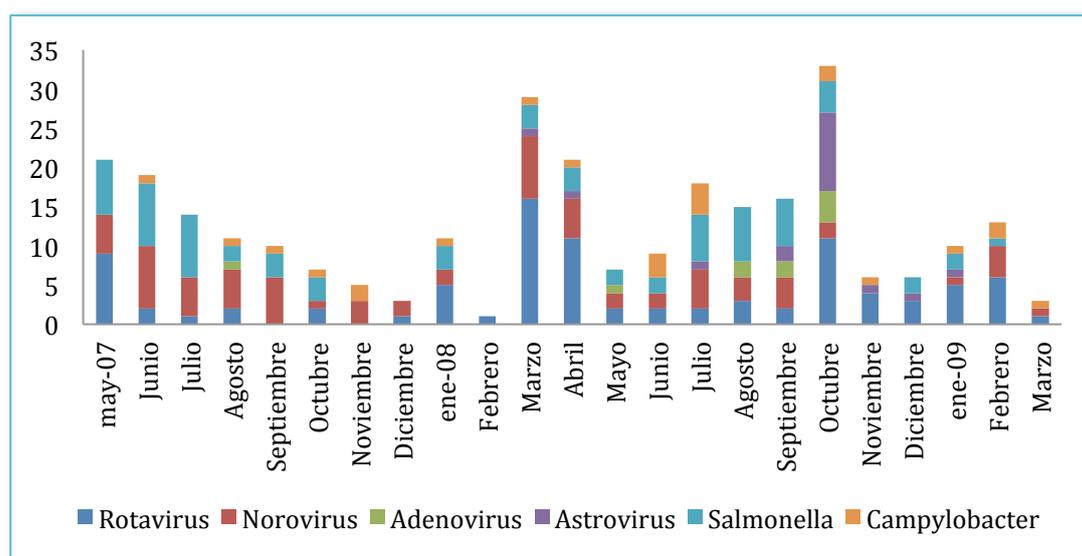


Figura 15. Distribución de los gérmenes aislados más frecuentes en el tiempo de estudio (n).

Estos agentes infecciosos se encontraron solos o en coinfección (tabla 23).

Gérmenes aislados	RV n=91	NV n=74	ASTV n=18	ADV n=10	<i>Salmonella</i> n=72	<i>Campylobacter</i> n=23	Otras bacterias n= 12
Solos	49	25	2	4	24	3	-
%	53,8	33,8	11,1	40	33,3	13	
En coinfección	42	49	16	6	48	20	12
%	46,2	66,2	88,9	60	66,7	87	100

Tabla 23. Gérmenes aislados solos o en coinfección.

Rotavirus fue el único patógeno que se aisló en mayor porcentaje sólo. Todos los demás patógenos se detectaron en mayor frecuencia en coinfección. En referencia a los virus destacó el caso de los ASTV y NV. La frecuencia de aislamiento de estos patógenos en los 204 casos se refleja en la figura 16.

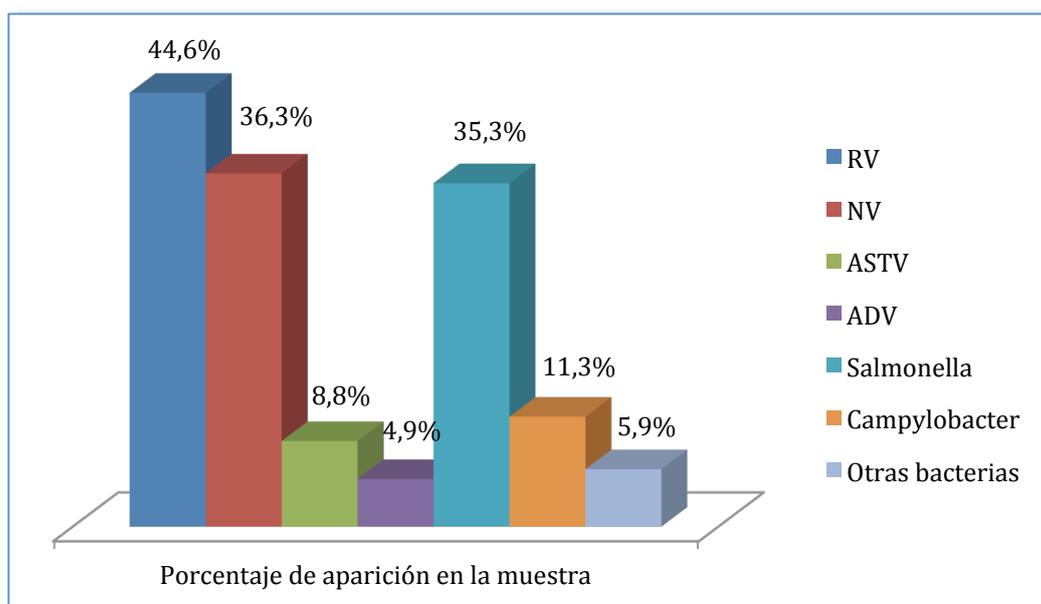


Figura 16. Frecuencia de aparición de los gérmenes en los 204 casos de la muestra.

La distribución de los gérmenes, solos o en coinfección, en los pacientes fue similar a la encontrada en el análisis de los aislamientos obtenidos. Hubo mayor porcentaje de casos con RV solo que en coinfección, mientras que pasó lo contrario para los otros gérmenes (tabla 24).

Gérmenes aislados	RV n=91	NV n=74	ASTV n=18	ADV n=10	<i>Salmonella</i> n=72	<i>Campylobacter</i> n=23	Otras bacterias n= 12
Solos	49	25	2	4	24	3	-
%	24	12,3	1	2	11,8	1,5	
En coinfección	42	49	16	6	48	20	12
%	20,6	24	7,8	2,9	23,5	9,8	5,9

Tabla 24. Distribución de los gérmenes solos o en coinfección en los 204 casos.

5.2.2 ANÁLISIS DE CASOS

Los 204 casos se produjeron por un único agente causal o asociados entre sí produciendo coinfecciones (tabla 25).

GERMEN	n	%
Rotavirus	49	24
Norovirus	25	12,3
Astrovirus	2	1
Adenovirus	4	2
Bacterias	27	13,2
Coinfección	88	43,1
Negativo	9	4,4
TOTAL	204	100

Tabla 25. Etiología de los casos.

La coinfección fue el grupo más numeroso del estudio (43,1%). La asociación virus-bacteria apareció en el 34,3% y la vírica pura en el 8,8% de los casos. En los pacientes con GEA de etiología única el germen más frecuente fue RV (n=49).

En la primera temporada del estudio el porcentaje de individuos con RV y NV fue mayor que en la segunda temporada. En los casos de bacterias y coinfección fue similar en ambas. ASTV y ADV sólo aparecieron en la segunda temporada (tabla 26).

Casos	Primera temporada		Segunda temporada		TOTAL
Negativo	2	(1,8)	7	(7,4)	9
Rotavirus	32	(29,4)	17	(17,9)	49
Norovirus	17	(15,6)	8	(8,4)	25
Astrovirus	0	(0)	2	(2,1)	2
Adenovirus	0	(0)	4	(4,2)	4
Bacterias	12	(11)	15	(15,8)	27
Coinfección	46	(42,2)	42	(44,2)	88
TOTAL	109	(100)	95	(100)	204

Tabla 26. Distribución de los casos en las temporadas del estudio en función de su etiología [n y (%)].

La distribución de los casos durante el estudio se muestra en la figura 17.

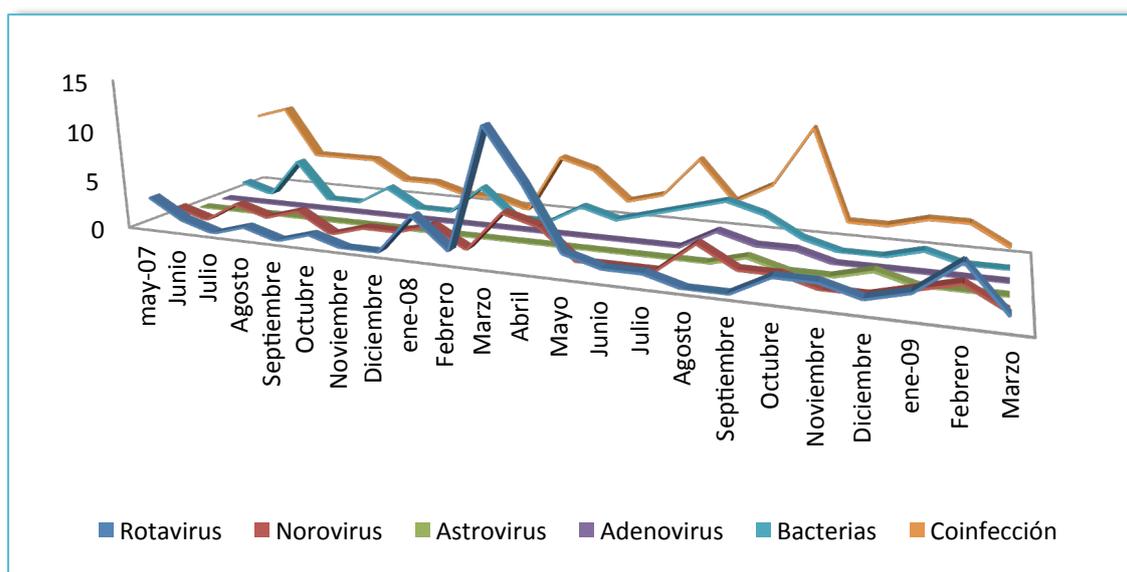


Figura 17. Distribución de los casos en los meses del estudio en función de su etiología.

5.2.3 COINFECCIONES

En la tabla 27 se muestra el resultado microbiológico de las muestras fecales en las que se encontró coinfección (n=88). El tipo de coinfección más frecuente fue virus – bacteria con un 79,5%. La coinfección vírica pura representó un 20,5% de los casos. Norovirus fue el agente vírico que apareció en mayor frecuencia asociado a bacteria y su presentación habitual fue con *Salmonella* (n=27), seguido de rotavirus asociado a *Salmonella* (n=13). La coinfección vírica más frecuente fue rotavirus con astrovirus (n=8). La coinfección rotavirus-norovirus apareció sólo en 6 muestras fecales. Se dieron casos de triple (n=9) y cuádruple coinfección (n=2).

Patógeno	Asociación	n
Rotavirus +	Norovirus	4
	Adenovirus	2
	Astrovirus	8
	Adenovirus+ Astrovirus	2
	Adenovirus+ Norovirus	1
	<i>Salmonella</i>	13
	<i>Salmonella</i> + Astrovirus	1
	<i>Salmonella</i> + Astrovirus+ Norovirus	1
	<i>Salmonella</i> + <i>Aeromona</i>	2
	<i>Campylobacter</i>	5
	<i>Campylobacter</i> + <i>Aeromona</i> + Astrovirus	1
	<i>E. coli</i>	2
Norovirus +	Adenovirus	1
	<i>Salmonella</i>	27
	<i>Campylobacter</i>	13
	<i>Salmonella</i> + <i>Aeromona</i>	1
	<i>Campylobacter</i> + <i>Aeromona</i>	1
<i>Salmonella</i> +	Astrovirus	2
	Astrovirus+ <i>Aeromona</i>	1
TOTAL	TOTAL	88

Tabla 27. Casos en los que se encontraron coinfecciones y sus componentes.

La presencia de los gérmenes en los sujetos con coinfección se refleja en la tabla 28. NV fue el patógeno que apareció en mayor frecuencia, seguido de *Salmonella* y RV en tercer lugar.

Germen	Presencia en los casos de coinfección	
RV	42	47,7%
NV	49	55,7%
ASTV	16	18,2%
ADV	6	6,8%
<i>Salmonella</i>	48	54,6%
<i>Campylobacter</i>	20	22,7%
Otras bacterias	12	13,6%

Tabla 28. Presencia de los gérmenes en los 88 casos de coinfección de la muestra (n y %).

5.2.4 ANÁLISIS DE LOS VIRUS

5.2.4.1 Rotavirus

El RV fue el patógeno más frecuente aislado en la muestra (n=91). Se encontró en el 45,9% y en el 43,2% de los niños ingresados en la primera y segunda temporada respectivamente. Apareció como agente único causal de GEA en 49 casos y en coinfección en 42. Su asociación más frecuente fue con *Salmonella*. En coinfección vírica apareció en el 8,3% de los pacientes.

La distribución de los 91 RV durante el periodo de estudio se representa en la figura 18. En la primera temporada el RV tuvo dos picos en primavera, en los meses de marzo y abril de 2008. En la segunda temporada RV estuvo presente en todos los meses, pero destacaron dos picos de detección. El mayor en octubre de 2008 y un segundo repunte menor en febrero de 2009.

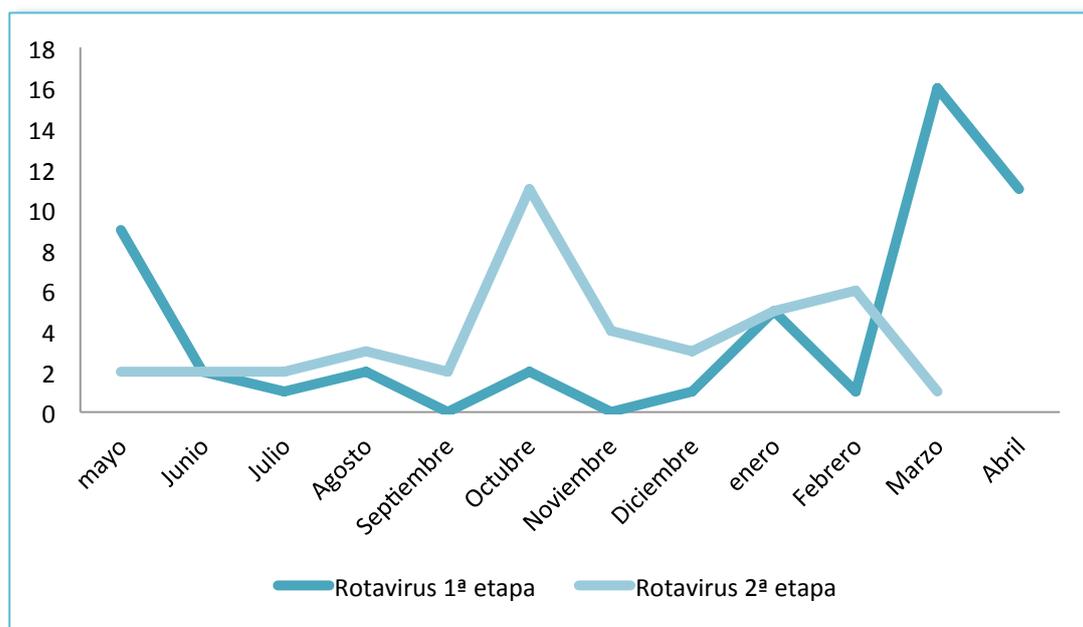


Figura 18. Distribución de los rotavirus en las dos temporadas del estudio. (1ª temporada de mayo 2007 a abril 2008. 2ª temporada de mayo 2008 a marzo 2009).

El patrón estacional de los casos de rotavirus se muestra en la figura 19. Su presencia como agente único causal de GEA aumentó en otoño, alcanzando su pico máximo en los meses de invierno de la primera temporada. Asociado a coinfección su pico máximo apareció durante los meses de otoño de la segunda temporada (15 casos), de los cuales en 10 sujetos estuvo presente el astrovirus (62,5% de los ASTV presentes en coinfección de la muestra). La coinfección RV-ASTV exclusivamente se dio en 5 de ellos.

En la figura 20 se muestra la distribución de la coinfección RV+ASTV solos o asociados a otros gérmenes. En 8 de los 13 casos se trató de RV+ASTV solos.

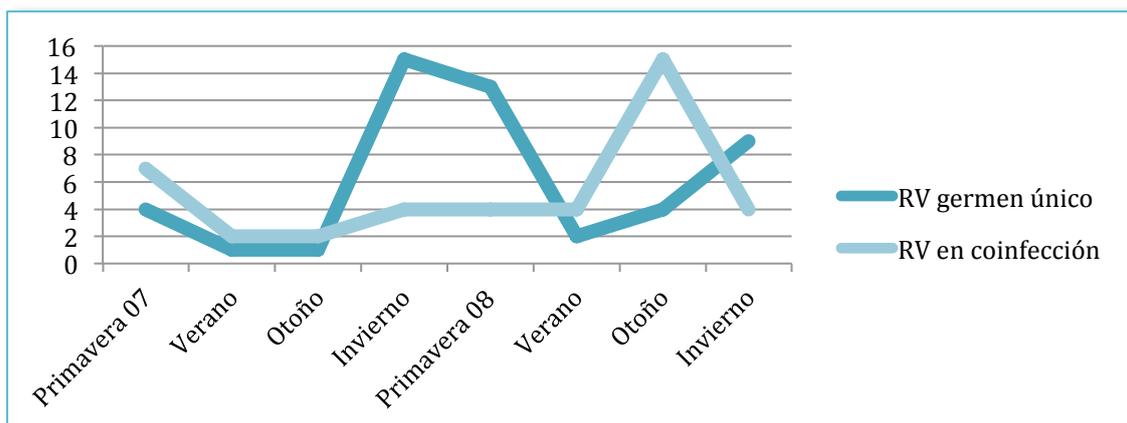


Figura 19. Estacionalidad del RV como agente causal único de GEA o en coinfección.

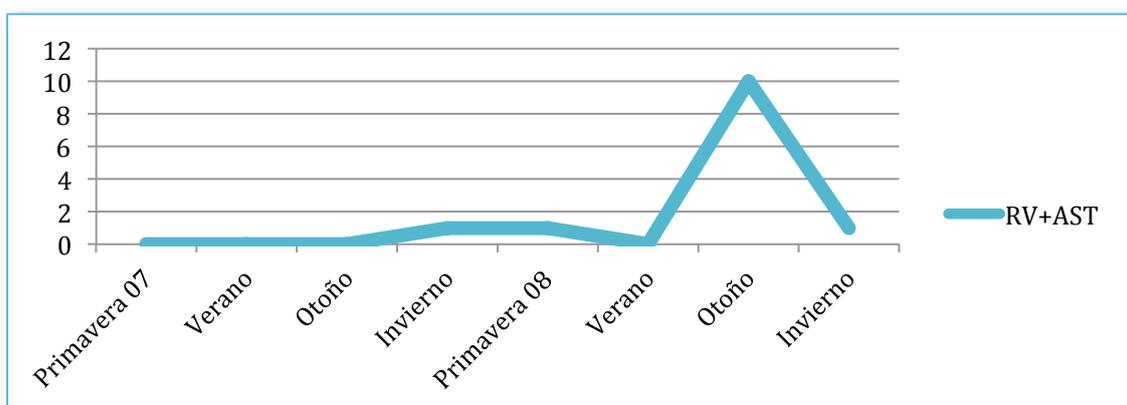


Figura 20. Distribución de la coinfección RV-ASTV (solos o asociados a otros gérmenes).

5.2.4.1.1 Cepas de rotavirus

Se consiguió el genotipo completo de 57 de los 91 rotavirus aislados. El más frecuente fue G1P[8] (n=25), seguido de G2P[6] (n=12), G4P[8] (n=7), G2P[8] (n=6), G9P[8] (n=4) y los mixtos G1-G9P[8] (n=1) y G1-G4P[8] (n=1). Los rotavirus con genotipado parcial fueron G1PIND (n=9), G2PIND (n=4), G3PIND (n=2), G4PIND (n=2) y GINDP[8] (n=2). En el 16,5% de los RV no se consiguió determinar el genotipo. Este grupo de RV fue el segundo en frecuencia (tabla 29) (figura 21).

Serotipo	n	%
G1 PIND	9	9,9
G1 P[8]	25	27,5
G1-G9 P[8]	1	1,1
G1-G4 P[8]	1	1,1
G2 P[4]	1	1,1
G2 P[6]	12	13,2
G2 P[8]	6	6,6
G2 PIND	4	4,4
G3 PIND	2	2,2
G4 P[8]	7	7,7
G4 PIND	2	2,2
G9 P[8]	4	4,4
GIND P[8]	2	2,2
GIND PIND	15	16,5
TOTAL	91	100%

Tabla 29. Genotipos de rotavirus aislados.

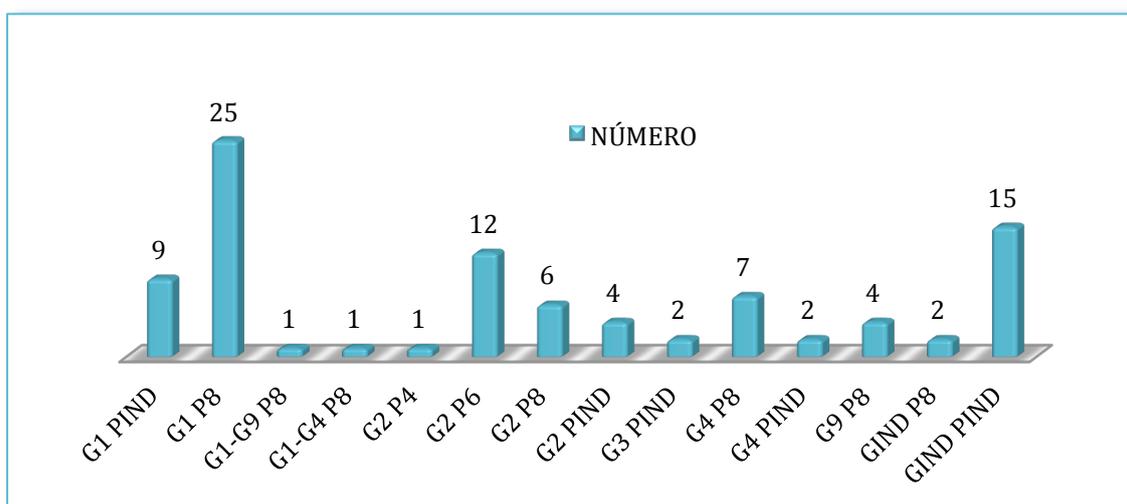


Figura 21. Genotipos de los rotavirus aislados (n).

5.2.4.1.2 Cepas de rotavirus en coinfección

Los genotipos G1-G4P[8] y G2P[4] no se asociaron a coinfección, mientras que los genotipos que más se asociaron a ella fueron G1P[8] (n=9) y G9P[8] (n=3).

G2P[6] es el único de la muestra asociado exclusivamente a coinfección vírica. Ese virus fue norovirus. El genotipo G2P[8] es el único de la muestra asociado exclusivamente a coinfección con bacteria, siendo ésta *Campylobacter*.

Las tres coinfecciones en las que estuvo presente G9P[8] fueron triple o cuádruple. El astrovirus estuvo presente en todas ellas.

G1P[8] apareció en 9 coinfecciones, 3 de ellas asociado a virus y en las restantes con bacterias, siendo la más frecuente con *Salmonella* en 4 ocasiones. G4P[8] apareció en dos coinfecciones, asociado a ASTV y *Salmonella* respectivamente (tabla 30).

Genotipo	Coinfección	n
G1 P1ND +	<i>Salmonella</i>	1
	Astrovirus	3
	Adenovirus	1
	Adenovirus+ Astrovirus	1
	<i>Campylobacter</i> + Astrovirus+ <i>Aeromona</i>	1
G1 P[8] +	Norovirus	2
	<i>Salmonella</i>	4
	Astrovirus	1
	<i>E. coli</i>	2
G1-G9 P[8] +	<i>Salmonella</i>	1
G2 P[6] +	Norovirus	1
G2 P[8] +	<i>Campylobacter</i>	1
G2 P1ND +	<i>Salmonella</i>	1
	Astrovirus	1
G3 P1ND +	<i>Campylobacter</i>	1
G4 P[8] +	Astrovirus	1
	<i>Salmonella</i>	1
G4 P1ND +	Astrovirus	1
G9 P[8] +	Adenovirus+ Astrovirus	1
	<i>Salmonella</i> + Astrovirus	1
	<i>Salmonella</i> + Astrovirus+ Norovirus	1
G1ND P[8] +	<i>Campylobacter</i>	1
	<i>Salmonella</i>	1
G1ND P1ND +	Norovirus	1
	Astrovirus	1
	Adenovirus	1
	Norovirus+ Adenovirus	1
	<i>Salmonella</i>	4
	<i>Salmonella</i> + <i>Aeromona</i>	2
	<i>Campylobacter</i>	2
TOTAL	TOTAL	42

Tabla 30. Cepas de los rotavirus aislados en coinfección y sus asociaciones.

5.2.4.1.3 Distribución temporal de las cepas

La distribución de las cepas en las temporadas del estudio se muestra en la tabla 31.

Genotipos RV	Primera temporada		Segunda temporada		TOTAL
G1PIND	3	(6)	6	(14,6)	9
G1P[8]	22	(44)	3	(7,3)	25
G1-G9P[8]	1	(2)	0	(0)	1
G1-G4P[8]	0	(0)	1	(2,4)	1
G2P[4]	1	(2)	0	(0)	1
G2P[6]	12	(24)	0	(0)	12
G2P[8]	1	(2)	5	(12,2)	6
G2PIND	3	(6)	1	(2,4)	4
G3PIND	0	(0)	2	(4,9)	2
G4P[8]	0	(0)	7	(17,1)	7
G4PIND	0	(0)	2	(4,9)	2
G9P[8]	1	(2)	3	(7,3)	4
GINDP[8]	1	(2)	1	(2,4)	2
GINDPIND	5	(10)	10	(24,4)	15
TOTAL	50	(100)	41	(100)	91

Tabla 31. Distribución de las cepas de rotavirus en las temporadas del estudio [n y (%)].

En la primera etapa (mayo 2007- abril 2008) apareció el primer pico de rotavirus en el mes de mayo, siendo las cepas responsables G1P[8] (n=7) junto a G1-G9P[8] (n=1) y G9P[8] (n=1). Hubo otro repunte de G1[P8] en los meses comprendidos entre enero y abril del año 2008. En marzo se detectó el único caso de la cepa G2P[4] coincidiendo con la aparición del pico (n=8) del genotipo G2P[6] que también estuvo presente en el mes de abril. En este último mes se detectó la primera cepa G2P[8] de la muestra.

En la segunda etapa (mayo 2008- marzo 2009) el primer pico de rotavirus estuvo representado por la cepa G2P[8] presente en los meses de mayo, junio y julio. En el mes de octubre apareció el pico del genotipo G9P[8], seguido del único caso de rotavirus G1-G4P[8] en el siguiente mes. En el periodo comprendido entre los meses de diciembre (2008) y febrero (2009) apareció la cepa G4P[8] con un pico en enero (n=4). La última cepa aislada fue G1P[8] presente en los meses de febrero y marzo del año 2009.

Los RV G1P[8], G2P[8] y G9P[8] fueron los únicos RV con genotipado completo que aparecieron en las dos temporadas del estudio (figura 22 a).

Los rotavirus con genotipo indeterminado estuvieron distribuidos a lo largo del tiempo de estudio, siendo más frecuentes en la segunda temporada. Destacaron picos de G1PIND y GINDPIND entre agosto y diciembre de año 2008 (figura 22b).

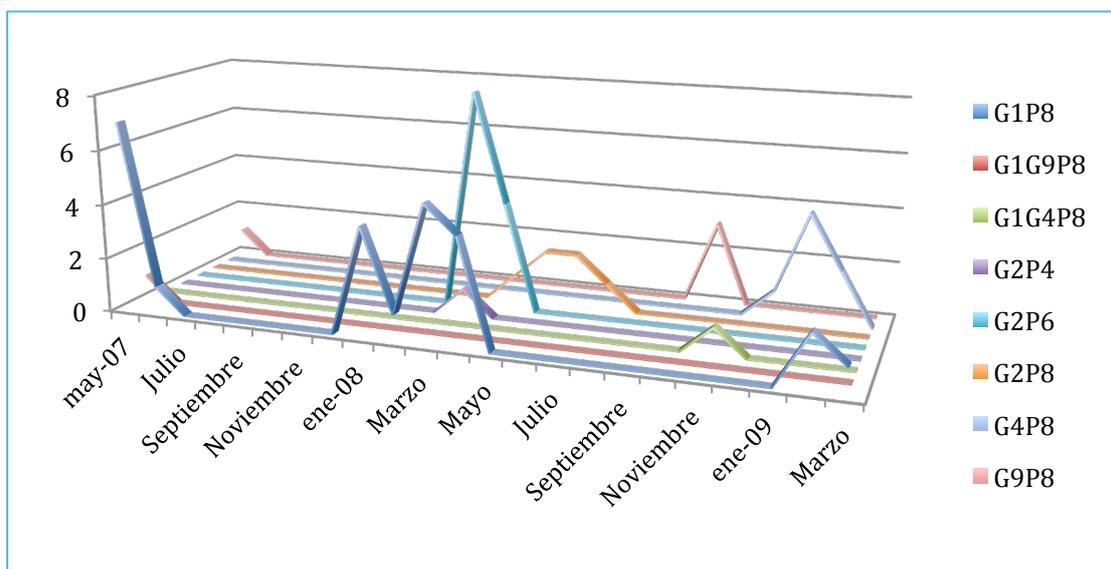


Figura 22a. Distribución de las cepas de rotavirus con genotipo completo en los meses del estudio.

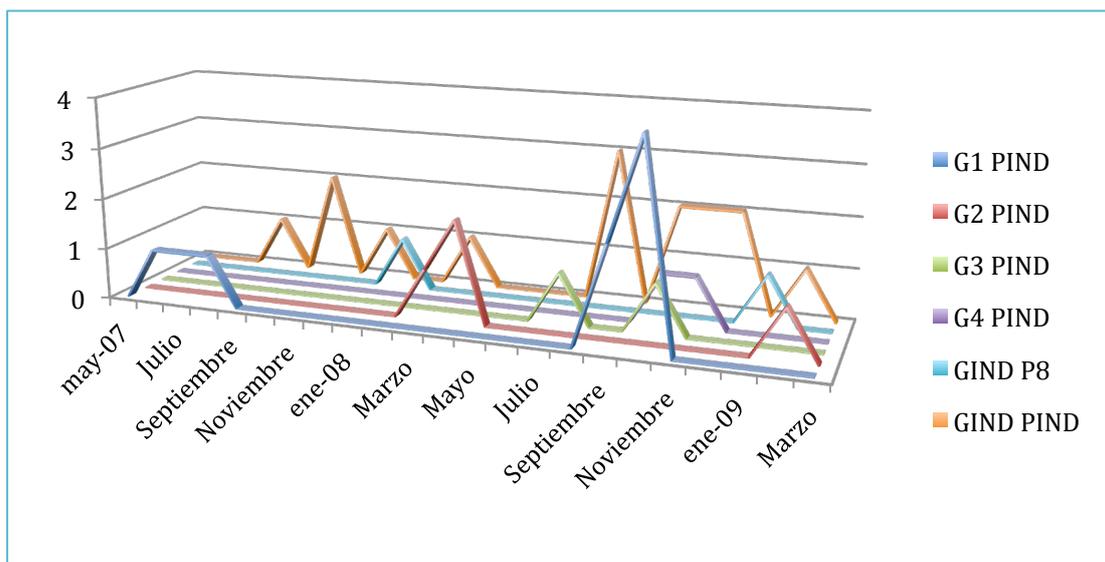


Figura 22b. Distribución de las cepas de rotavirus con genotipo parcial e indeterminado en los meses del estudio.

5.2.4.1.4 Genotipos G y P de rotavirus

Los tipos G más frecuentes por este orden fueron: G1, G2 y G4.

En cuanto a los tipos P se detectaron 3 variedades: P[4], P[6] y P[8]. El tipo P[8] fue el más frecuente.

Destacó el elevado número de tipos G y P no tipificados (tabla32).

Genotipo	n	%
G1	36	38,7
G2	23	24,7
G3	2	2,2
G4	10	10,8
G9	5	5,4
GIND	17	18,3
TOTAL	93	100
P[4]	1	1,1
P[6]	12	13,2
P[8]	46	50,5
PIND	32	35,2
TOTAL	91	100

Tabla 32. Genotipos G y P de los rotavirus.

5.2.4.1.5 Distribución temporal de los genotipos G y P del rotavirus

La distribución temporal de los tipos G se muestra en la figura 23.

En la primera temporada del estudio (mayo 2007 a abril 2008) la mayoría de los tipos detectados fueron G1 y G2, destacando sus picos conjuntos en los meses de marzo y abril de 2008. G1 también presentó 2 picos previos, en mayo 2007 y enero de 2008. No hubo ninguna detección de G3 ni G4 en esta temporada.

En la segunda temporada (mayo 2008 a marzo 2009) los tipos G más detectados fueron G1 y G9 con picos en el mes de octubre y G4 con pico en enero de 2009.

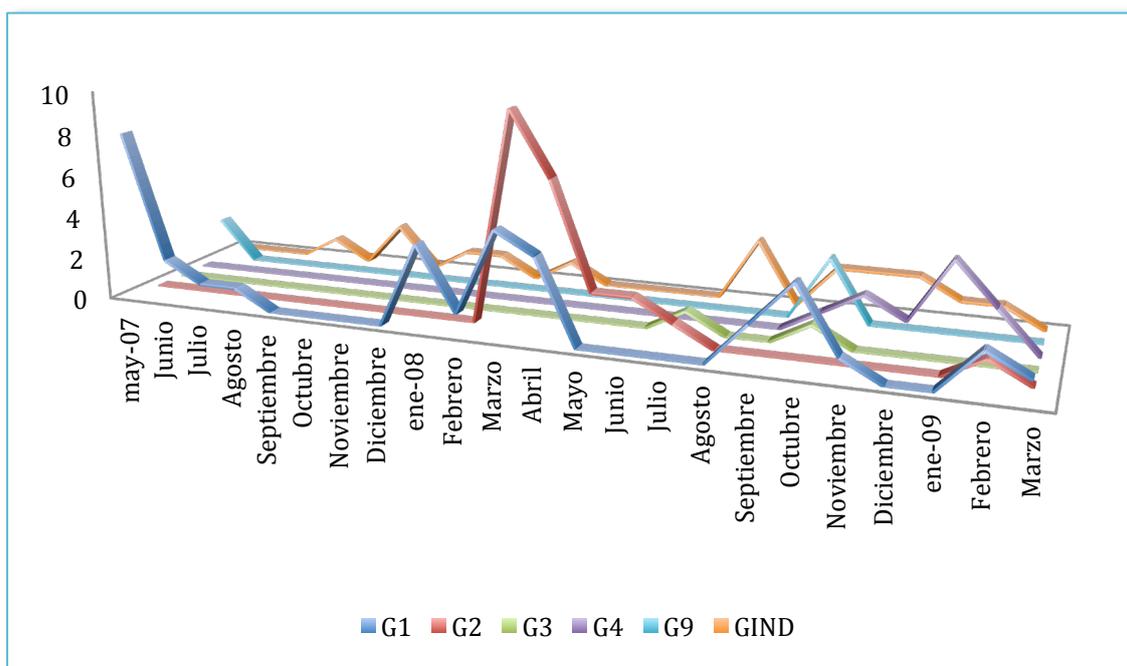


Figura 23. Distribución temporal de los genotipos G del rotavirus en los meses del estudio.

La distribución temporal de los tipos P se muestra en la figura 24.

En la primera temporada del estudio destacó el periodo comprendido entre los meses de marzo y abril de 2008 donde aparecieron picos de detección de P[6] y P[8]. El único P[4] del estudio apareció en este periodo. El tipo P[8] también presentó pico en mayo de 2007 y enero de 2008.

En la segunda temporada del estudio no hubo P[4] ni P[6]. Los picos de detección se produjeron en el mes de octubre de 2008 representado por P[8] y P1ND; y en el periodo comprendido entre los meses de enero y febrero de 2009 por P[8].

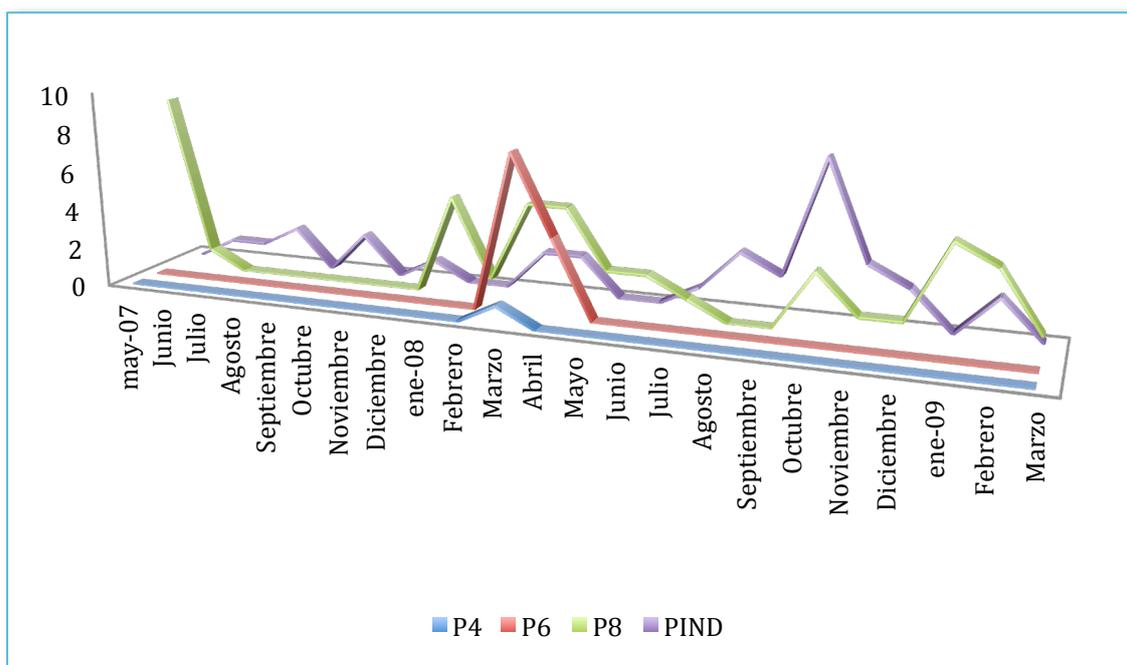


Figura 24. Distribución temporal de los genotipos P del rotavirus en los meses del estudio.

5.2.4.2 Norovirus

El norovirus fue el segundo germen más aislado de la muestra ($n=74$), bien como agente único causal de GEA ($n=25$) o en coinfección ($n=49$). Apareció asociado a bacterias en el 21,1% de los casos ($43/204$) y en coinfección vírica en el 2,9% ($6/204$).

La distribución de los 74 norovirus durante el estudio se representa en la figura 25.

En la primera temporada se concentró el mayor número de NV aislados. Su detección fue estable durante los meses de verano con un pico sostenido entre los meses de mayo a septiembre. Hubo además otro pico de detección en marzo.

En la segunda temporada, el comportamiento del NV fue similar a la primera temporada detectándose pico en verano, entre los meses de julio a septiembre, y un pico invernal más precoz que en la primera temporada que se produjo en febrero 2009.

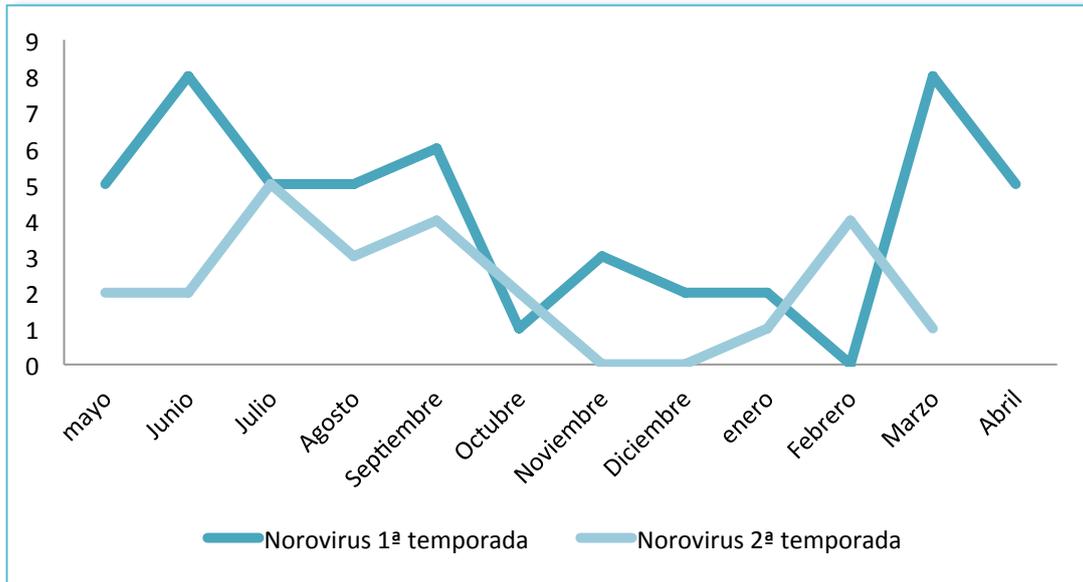


Figura 25. Distribución de los norovirus aislados en los meses del estudio de ambas temporadas.

Su patrón estacional se refleja en la figura 26. Estando presente como agente único causal de GEA presentó sus picos en verano e invierno de la primera temporada. En coinfección los picos aparecieron en verano de ambas temporadas, siendo la coinfección más frecuente norovirus-*Salmonella* (figura 27).

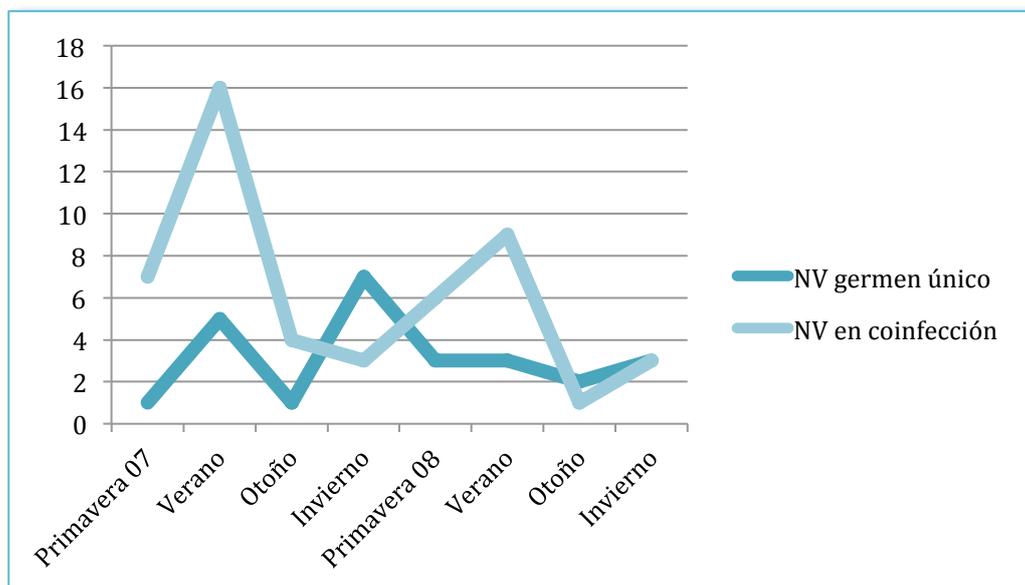


Figura 26. Estacionalidad de los casos de norovirus solos o en coinfección a lo largo del estudio.

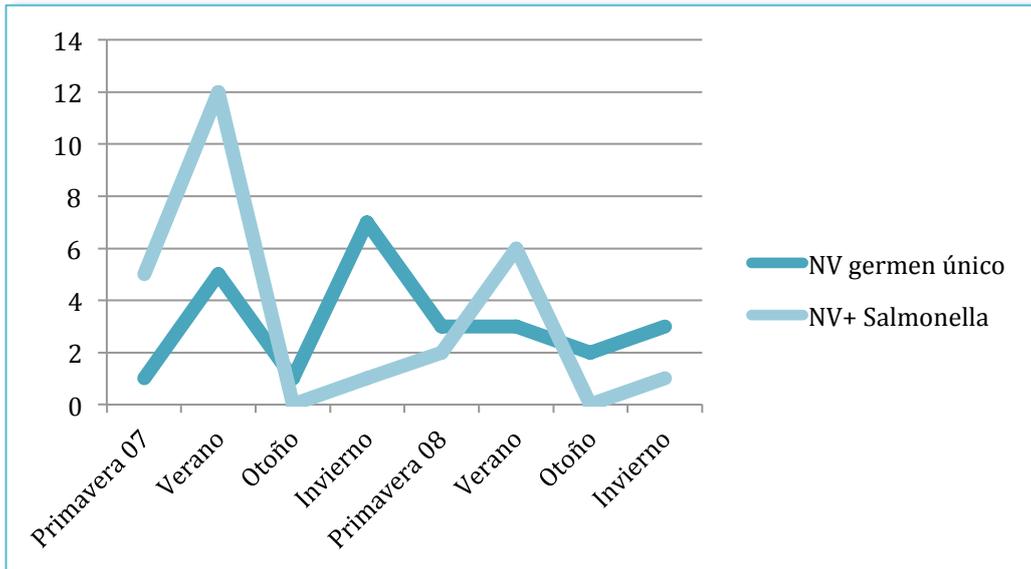


Figura 27. Comparativa de la estacionalidad del norovirus como agente etiológico único con la coinfección norovirus-Salmonella.

En la figura 28 se expone la importancia de la asociación norovirus con *Salmonella*, siendo responsable de los picos de ambos veranos.

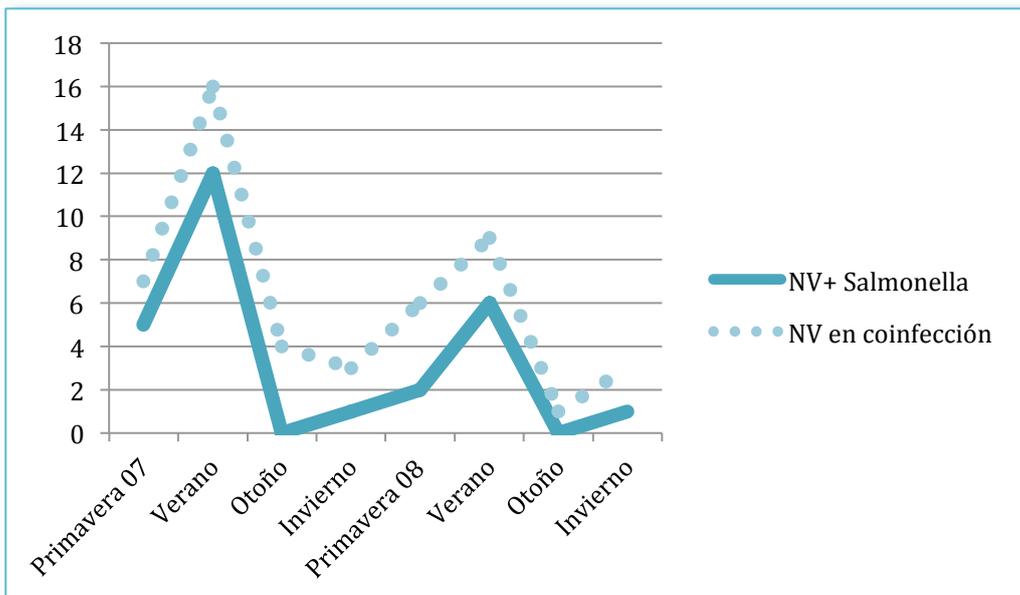


Figura 28. Comparativa de la estacionalidad de las coinfecciones del norovirus con la coinfección norovirus-Salmonella.

Al comparar la estacionalidad de rotavirus y norovirus como agente único causal de GEA se vio que en la primera temporada, el primer pico de norovirus fue en verano coincidiendo con una disminución del rotavirus. Sin embargo, se dio un segundo pico que sucedió en invierno y coincidió con el mayor pico de rotavirus. En la segunda temporada no hubo pico significativo de GEA por norovirus, mientras que rotavirus presentó el mismo patrón estacional que la temporada anterior (figura 29).

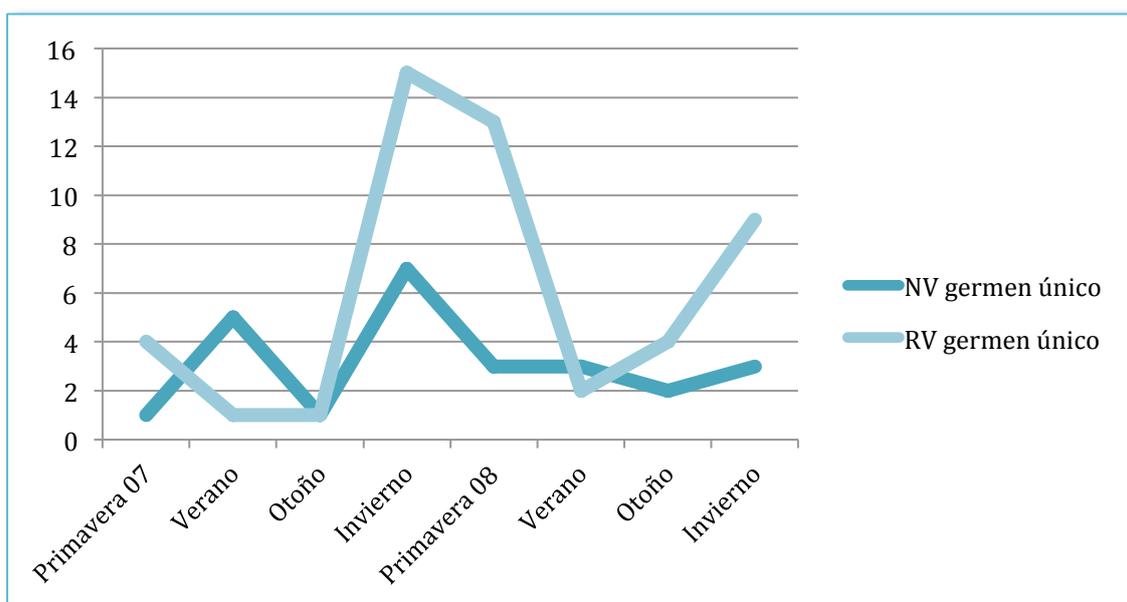


Figura 29. Comparativa de la estacionalidad de norovirus y rotavirus como único agente causal de GEA.

Al analizar la estacionalidad de estos gérmenes sin tener en cuenta si se aislaron en coinfección o no, los patrones vistos se asemejaron a los observados como agentes únicos de GEA (figura 30). En la primera temporada, los picos de norovirus aparecieron en verano e invierno, coincidiendo el segundo con el pico invernal del rotavirus. En la segunda temporada el patrón de norovirus se repite, picos en verano e invierno, mientras que el pico de rotavirus se adelantó a otoño. Hubo un descenso de aislamientos de rotavirus en los veranos de ambas temporadas.

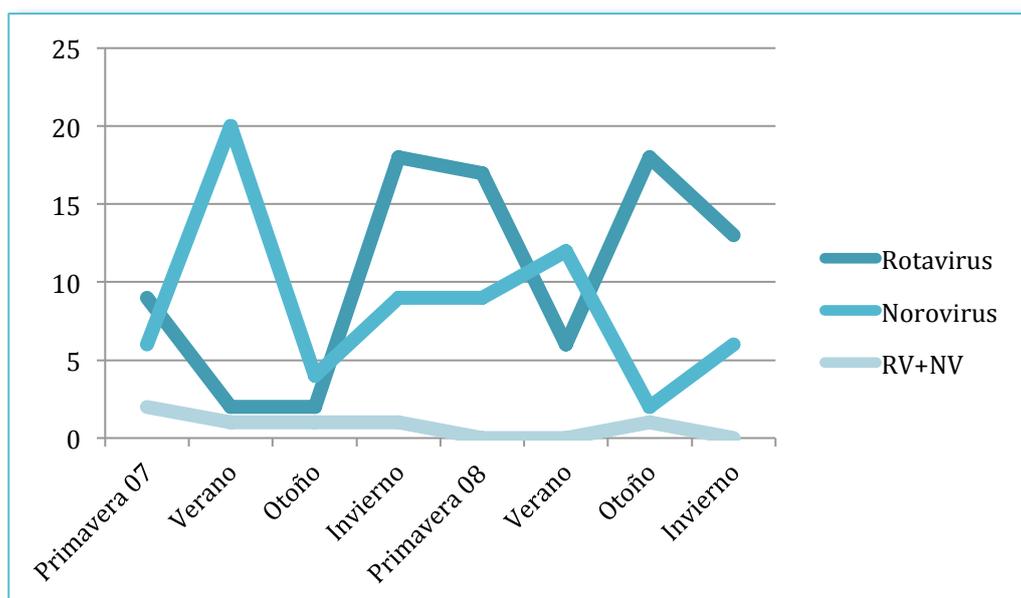


Figura 30. Comparación de la estacionalidad de los rotavirus y norovirus aislados y su coinfección.

5.2.4.2.1 Norovirus en coinfección

La relación NV-bacteria pura destacó por aparecer en el 85,6 % de sus coinfecciones, estando asociado en un 55,1% a *Salmonella* exclusivamente (n=27) y en un 26,5% a *Campylobacter*. La coinfección vírica pura se dio solamente en un 12,2%, apareciendo asociado exclusivamente a rotavirus (n=4), a adenovirus (n=1) y en triple coinfección RV-ASTV-ADV (n=1). No se encontró la coinfección vírica norovirus-astrovirus (tabla 33).

Patógeno	Asociación	n	%
NV+	Rotavirus	4	8,2
	Adenovirus	1	2
	<i>Salmonella</i>	27	55,1
	<i>Campylobacter</i>	13	26,5
	Rotavirus+ Adenovirus	1	2
	Rotavirus+ <i>Salmonella</i> + Astrovirus	1	2
	<i>Salmonella</i> + <i>Aeromona</i>	1	2
	<i>Campylobacter</i> + <i>Aeromona</i>	1	2
	TOTAL	TOTAL	49

Tabla 33. Tipos de coinfección en los que aparece norovirus.

5.2.4.3 Astrovirus

El astrovirus representó un 5,8% (n=18) de los gérmenes aislados de la muestra (tabla 34) y el 8,8% de los casos, estando en coinfección en el 7,8% de ellos.

Patógeno	Asociación	n	%
ASTV+	Sólo	2	11,1
	Rotavirus	8	44,4
	Rotavirus+Adenovirus	2	11,1
	Rotavirus+ <i>Salmonella</i>	1	5,6
	Rotavirus+ <i>Salmonella</i> +Norovirus	1	5,6
	Rotavirus+ <i>Campylobacter</i> + <i>Aeromona</i>	1	5,6
	<i>Salmonella</i>	2	11,1
	<i>Salmonella</i> + <i>Aeromona</i>	1	5,6
TOTAL	TOTAL	18	100

Tabla 34. Casos en los que se aisló astrovirus.

Este germen se presentó en coinfección en un 88,9% de sus casos (n=16), concentrándose en un pico estacional en otoño de 2008 (n=12), asociado al menos a rotavirus en un 83,3% (n=10). Como germen único responsable de GEA solamente apareció en dos casos en otoño 2008 (figura 31).

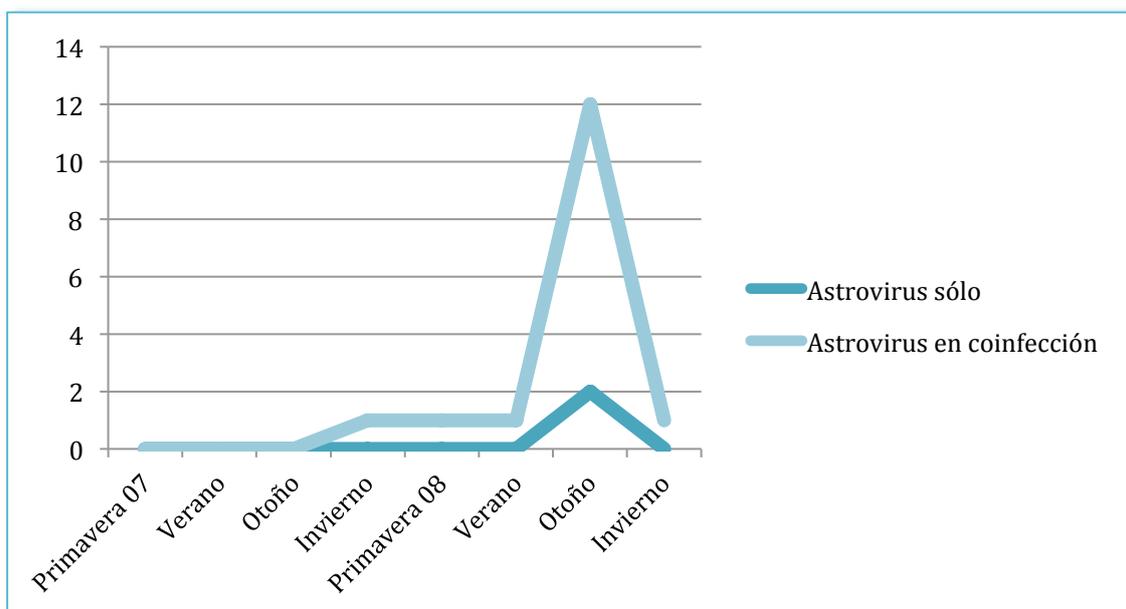


Figura 31. Patrón estacional del astrovirus.

5.2.4.4 Adenovirus

El adenovirus apareció en un 3,2% de los aislamientos (n=10). Se detectó en el 4,9% de los sujetos. El 60% se aisló en coinfección, que fue vírica exclusivamente (tabla 35).

Patógeno	Asociación	n	%
ADV+	Sólo	4	40
	Rotavirus	2	20
	Rotavirus+Astrovirus	2	20
	Rotavirus+Norovirus	1	10
	Norovirus	1	10
TOTAL	TOTAL	10	100

Tabla 35. Casos en los que se aisló adenovirus.

Hubo una concentración de aislamientos (n=4) en otoño de 2008, donde apareció en el 100% de los casos asociado al menos a rotavirus: 2 coinfecciones RV+ADV y 2 coinfecciones RV+ADV+ASTV (figura 32).

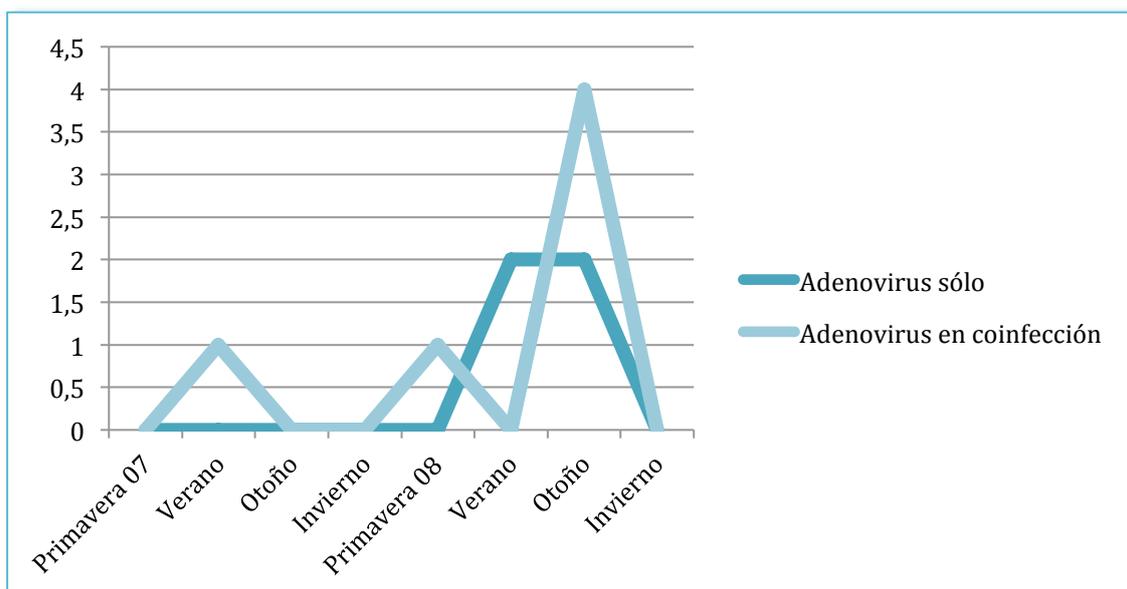


Figura 32. Patrón estacional del adenovirus.

5.3. DISTRIBUCIÓN DE LOS GÉRMENES EN LOS GRUPOS ETARIOS

5.3.1 DISTRIBUCIÓN DE LOS GÉRMENES POR AISLAMIENTO EN LOS GRUPOS ETARIOS

La distribución de los gérmenes aislados tuvo diferencias y similitudes entre los grupos de edad de la muestra (tabla 36), (figura 33).

En el grupo de pacientes menores de 6 meses el RV fue el germen más aislado (39,4%) seguido de cerca del NV (36,4%) y de *Salmonella* (31,8%).

En el grupo etario comprendido entre los 6-24 meses el germen que apareció en mayor proporción fue RV (58,5%), seguido del NV (26,8%). *Salmonella* fue el tercer germen (24,4%).

En los niños mayores de 24 meses el germen más frecuente fue *Salmonella* (55,4%), seguido de NV (50%) y de RV (30,4%).

En los dos grupos etarios de menor edad el principal germen aislado fue RV. Sin embargo, en el de mayor edad fue *Salmonella*, siendo el RV el tercer germen en aparición.

El NV apareció como segundo germen en frecuencia aislado en todos los grupos etarios.

Gérmenes	< 6 m n=66		≥ 6-24 m n=82		≥ 24 m n=56		TOTAL	p-valor	
Rotavirus	26	(39,4)	48	(58,5)	17	(30,4)	91	(44,6)	0,003
Norovirus	24	(36,4)	22	(26,8)	28	(50)	74	(36,3)	0,021
Adenovirus	4	(6,1)	6	(7,3)	0	(0)	10	(4,9)	0,129
Astrovirus	10	(15,2)	5	(6,1)	3	(5,4)	18	(8,8)	0,87
Salmonella	21	(31,8)	20	(24,4)	31	(55,4)	72	(35,3)	0,001
Campylobacter	5	(7,6)	8	(9,8)	10	(17,9)	23	(11,3)	0,172
Aeromona	4	(6,1)	2	(2,4)	3	(5,4)	9	(4,4)	0,552
E. coli	1	(1,5)	1	(1,2)	0	(0)	2	(1)	0,671
Cryptosporidium	0	(0)	1	(1,2)	0	(0)	1	(0,5)	-

Tabla 36. Relación de gérmenes aislados en los grupos etarios de la muestra [n y (%)].

El mayor número de aislamientos de RV en el grupo etario comprendido entre los 6-24 meses fue estadísticamente significativo respecto a los otros grupos de edad ($p=0,03$).

También se encontró diferencia en cuanto al número de aislamientos de *Salmonella* y NV en los niños mayores de 24 meses respecto a los demás, con un p-valor de 0,001 y 0,021 respectivamente.

Destacó el mayor porcentaje de casos de ASTV en el grupo de menor edad.

No se detectó ADV en los pacientes mayores de 24 meses. Este grupo, presentó más casos de *Campylobacter* que el resto. A pesar de ello, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas para estos microorganismos.

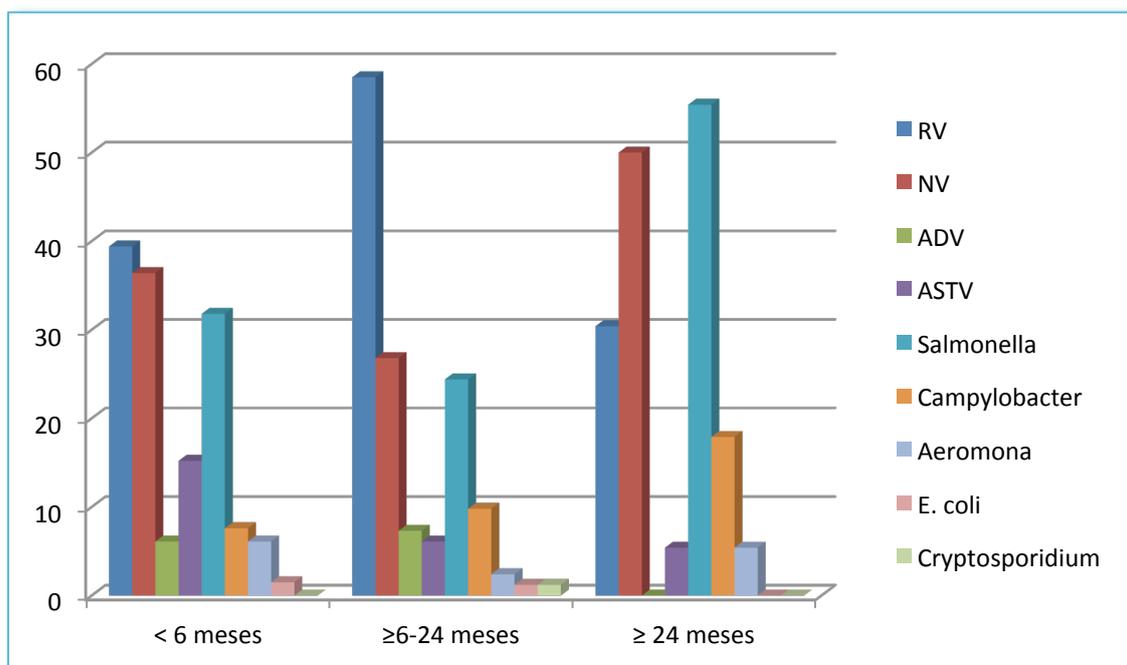


Figura 33. Gérmenes aislados en cada grupo etario (%).

5.3.2 DISTRIBUCIÓN DE LOS GÉRMENES AGRUPADOS POR CASOS EN LOS GRUPOS ETARIOS

Al comparar los casos de GEA por un único agente causal o estando en coinfección en los distintos grupos etarios se observó que hay diferencias estadísticamente significativas en todos con un p-valor menor de 0,01 (tabla 37), (figura 34).

La GEA por RV se dio más en el grupo de 6-24 meses (40,2%). El RV como agente único causal de GEA apareció en el 12,1% de los pacientes menores de 6 meses y en el 14,3% de los mayores de 24 meses.

El NV como responsable de GEA apareció en mayor frecuencia en los niños menores de 6 meses (19,7%). Su implicación en los individuos entre 6-24 y mayores de 24 meses fue parecida (8,5% y 8,9% respectivamente).

Los casos producidos por astrovirus y adenovirus como único patógeno implicado fueron escasos en la muestra. Destacó la ausencia de GEA por ADV en los mayores de 24 meses y de GEA por ASTV en el grupo entre 6-24 meses.

La GEA de origen bacteriano fue menos frecuente en el grupo etario entre 6-24 meses (8,5%), mientras que en los otros grupos representó el 15,2% (en menores de 6 meses) y el 17,9% (en mayores de 24 meses).

La coinfección fue mayor en los pacientes mayores de 24 meses (57,1%). En los menores de 6 meses representó el 40,9% de los casos y el 35,4% en los niños con edad comprendida entre 6 y 24 meses.

Gérmenes	< 6 m		≥ 6- 24 m		≥ 24 m		TOTAL		p-valor
Rotavirus	8	(12,1)	33	(40,2)	8	(14,3)	49	(24)	< 0,001
Norovirus	13	(19,7)	7	(8,5)	5	(8,9)	25	(12,3)	
Adenovirus	1	(1,5)	3	(3,7)	0	(0)	4	(2)	
Astrovirus	1	(1,5)	0	(0)	1	(1,8)	2	(1)	
Bacterias	10	(15,2)	7	(8,5)	10	(17,9)	27	(13,2)	
Coinfección	27	(40,9)	29	(35,4)	32	(57,1)	88	(43,1)	
Negativo	6	(9,1)	3	(3,7)	0	(0)	9	(4,4)	
TOTAL	66	(100)	82	(100)	56	(100)	204	(100)	

Tabla 37. Relación de los casos de GEA y su distribución en los distintos grupos etarios [n y (%)].

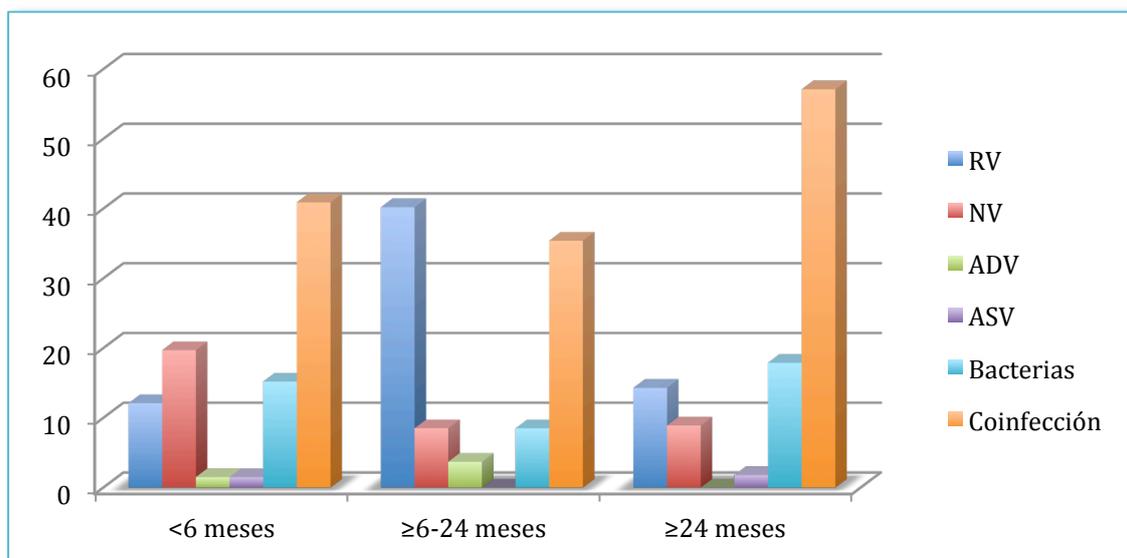


Figura 34. Tipos de GEA en los grupos etarios (%).

Se observó que la coinfección fue la causa de GEA más frecuente en los menores de 6 meses y mayores de 24 meses, mientras que la principal causa de GEA en el otro grupo de edades comprendidas entre 6-24 meses fue el RV.

5.3.3 DISTRIBUCIÓN DE LAS CEPAS DE ROTAVIRUS EN LOS GRUPOS ETARIOS

El RV se detectó en el 39,4% de los pacientes menores de 6 meses, en el 58,5% de los pacientes en edades comprendidas entre 6 y 24 meses, y en el 30,4% de los pacientes mayores de 24 meses.

Sus cepas más frecuentes: G1P[8], G2P[6] y G4P[8] aparecieron más en el grupo de edades comprendidas entre los 6-24 meses, siendo este grupo el que presentó mayor número de RV aislados (n=48) (figura 35). Sin embargo, los RV con genotipado parcial: G1PIND, G2PIND y G4PIND fueron más frecuentes en los grupos menores de 6 meses y mayores de 24 meses. Los dos RV con genotipo mixto aparecieron en los grupos de edad mayores (tabla 38).

RV	< 6 m	%	≥ 6-24 m	%	≥ 24 m	%	TOTAL
G1 PIND	5	7,6	1	1,2	3	5,4	9
G1 P[8]	6	9,1	15	18,3	4	7,1	25
G1-G9 P[8]	0	0	0	0	1	1,8	1
G1-G4 P[8]	0	0	1	1,2	0	0	1
G2 P[4]	0	0	1	1,2	0	0	1
G2 P[6]	1	1,5	11	13,4	0	0	12
G2 P[8]	1	1,5	3	3,7	2	3,6	6
G2 PIND	3	4,5	0	0	1	1,8	4
G3 PIND	1	1,5	1	1,2	0	0	2
G4 P[8]	2	3	4	4,9	1	1,8	7
G4 PIND	1	1,5	0	0	1	1,8	2
G9 P[8]	1	1,5	2	2,4	1	1,8	4
GIND P[8]	1	1,5	1	1,2	0	0	2
GIND PIND	4	6,1	8	9,8	3	5,4	15
TOTAL	26	39,4	48	58,5	17	30,4	91

Tabla 38. Distribución de las cepas con genotipo completo, parcial e indeterminado en los grupos etarios (n y %).

En la figura 36, se muestra la distribución de los RV con genotipado completo y parcial y los indeterminados en cada grupo etario.

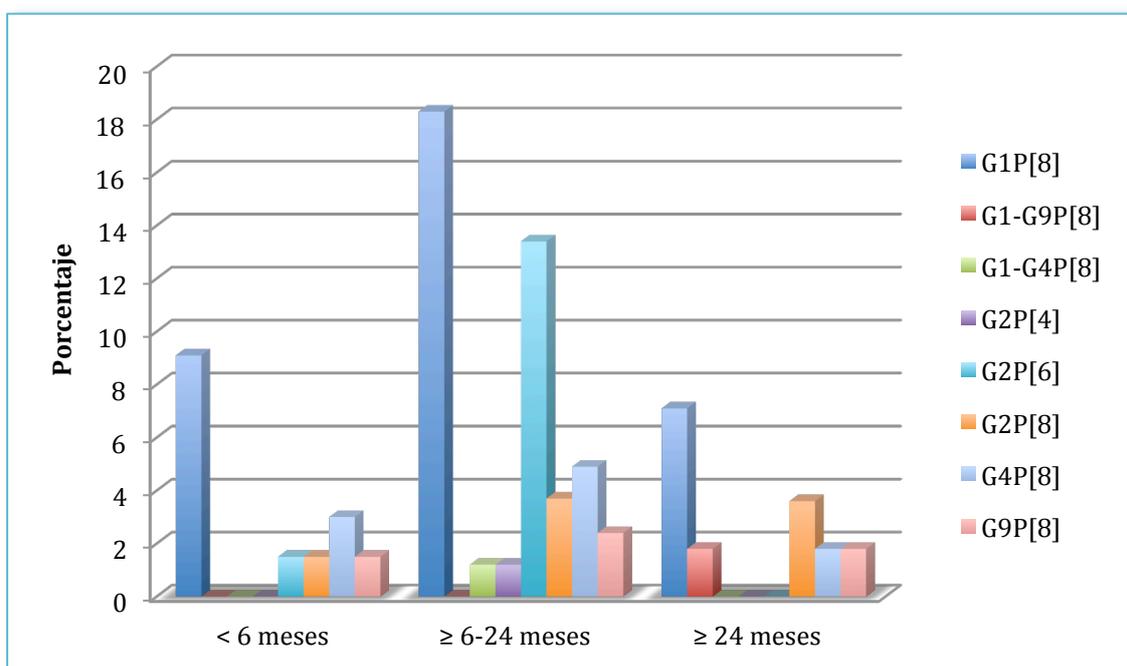


Figura 35. Distribución de las cepas de rotavirus con genotipo completo en los grupos etarios (%).

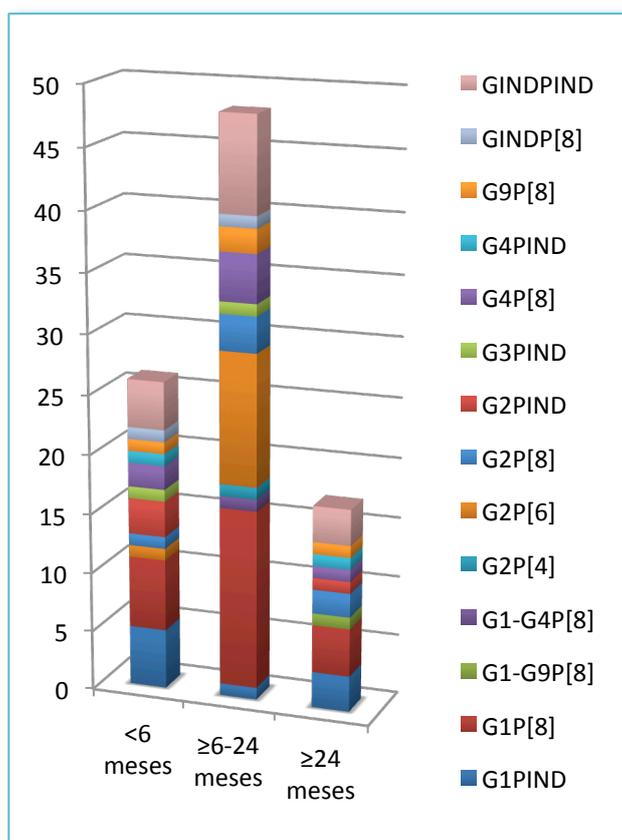


Figura 36. Distribución de las cepas de rotavirus por grupo etarios.

5.3.4 DISTRIBUCIÓN DE LOS TIPOS G Y P DEL ROTAVIRUS EN LOS GRUPOS ETARIOS

La distribución de los tipos G y P de los RV presentes en el 39,4% de los pacientes menores de 6 meses, el 58,5% del grupo con edades entre 6 y 24 meses, y en el 30,4% de los mayores de 24 meses se refleja en la tabla 39.

G y P	< 6m n=66		≥ 6- 24 m n=82		≥ 24 m n=56		TOTAL		p- valor
	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)	
G1	11	(16,7)	17	(20,7)	8	(14,3)	36	(17,6)	0,602
G2	5	(7,6)	15	(18,3)	3	(5,4)	23	(11,3)	0,032
G3	1	(1,5)	1	(1,2)	0	(0)	2	(1)	0,671
G4	3	(4,5)	5	(6,1)	2	(3,6)	10	(5)	0,786
G9	1	(1,5)	2	(2,4)	2	(3,6)	5	(2,5)	0,786
GIND	5	(7,6)	9	(11)	3	(5,4)	17	(8,3)	0,485
TOTAL	26	39,4	49*	59,7*	18*	32,3*	93*	45,7	
P[4]	0	(0)	1	(1,2)	0	(0)	1	(0,5)	-
P[6]	1	(1,5)	11	(13,4)	0	(0)	12	(5,9)	0,001
P[8]	11	(16,7)	26	(31,7)	9	(16,1)	46	(22,5)	0,037
PIND	14	(21,2)	10	(12,2)	8	(14,3)	32	(15,7)	0,307
TOTAL	26	39,4	48*	58,5*	17*	30,4*	91*	44,6	

Tabla 39. Distribución de los genotipos G y P por grupos de edad [n y (%)].* El valor de los genotipos G y P no coinciden en los grupos de mayor edad por la presencia de genotipos mixtos del RV que presentan dos tipos G.

El análisis de los distintos genotipos de G del RV reveló que G2 fue más frecuente en el segundo grupo de edad (18,3%); con respecto a los otros grupos presentó una diferencia estadísticamente significativa con un p-valor de 0,032. G1 fue el más frecuente en todos los grupos de edad (figura 37).

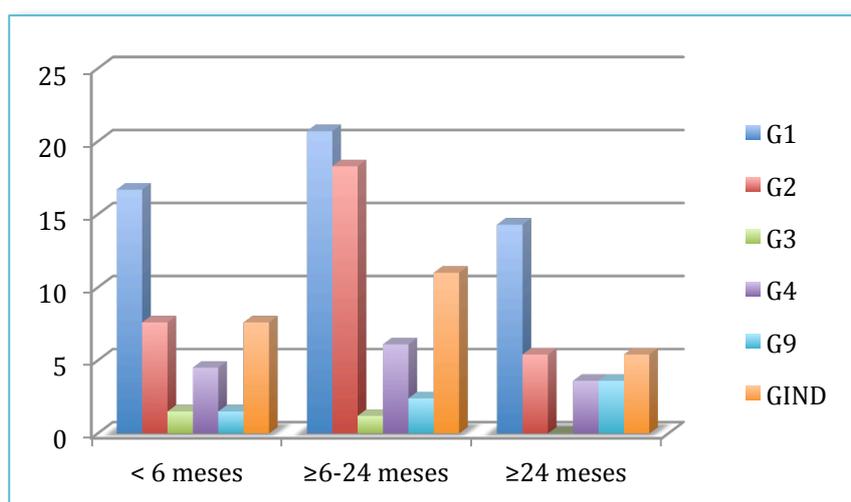


Figura 37. Genotipos G en los grupos de edad (%).

El análisis de los genotipos de P del RV mostró que P8 apareció con mayor frecuencia en el grupo de edades comprendidas entre 6-24 meses (31,7%), seguido de P6 (13,4%). El p-valor de ambos fue de 0,037 y 0,001 respectivamente con respecto a los otros grupos (figura 38).

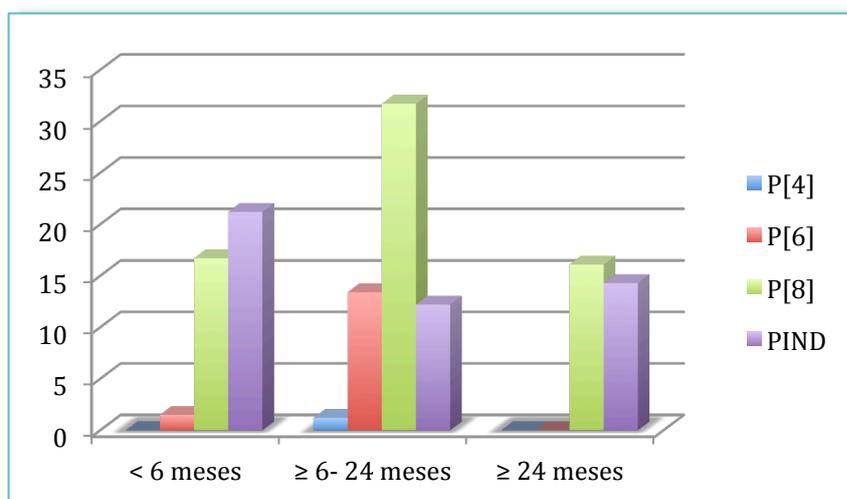


Figura 38. Genotipos P en los grupos de edad (%).

El resto de tipos de G y P no presentaron diferencias estadísticamente significativas entre grupos de edad.

5.4. ANÁLISIS DE LAS VARIABLES DEL ESTUDIO EN LOS GRUPOS ETIOLÓGICOS DE GEA

5.4.1 SEXO Y EDAD

El análisis estadístico mostró que hay un mayor porcentaje de mujeres con GEA bacteriana que hombres, mientras que ocurre lo contrario en el resto de tipos de GEA. Esta diferencia fue significativa con un p-valor de 0,02 (tabla 40).

NV como agente único causal afecta más a los pacientes de menor edad respecto al resto de patógenos analizados, siendo esta diferencia estadísticamente significativa (p 0,022), (tabla 41).

Sexo	(-) n= 9	RV N=49	NV n=25	Bacterias n=27	Coinfección n=88	Total n= 204	p- valor
♂/♀ %	44,4/55,6 ^{a,b}	63,3/36,7 ^a	72/28 ^a	29,6/70,4 ^b	55,7/44,3 ^a	55,4/44,6	0,020
♂/♀ n	4/5	31/18	18/7	8/19	49/39	113/91	

Tabla 40. Relación etiológica de la GEA con el sexo. Diferentes superíndices indican diferencias significativas entre grupos ($p < 0,05$).

Edad (meses)	(-) n= 9	RV n=49	NV n=25	Bacterias n=27	Coinfección n=88	Total n= 204	p- valor
Mediana y cuartiles	4 (1 ; 13) ^a	12 (7 ; 21) ^b	5 (3 ; 20) ^a	14 (4 ; 38) ^b	16 (4,5 ; 29) ^b	12 (4 ; 26)	0,022

Tabla 41. Relación etiológica de la GEA con la edad. Diferentes superíndices indican diferencias significativas entre grupos ($p < 0,05$).

5.4.2 PARÁMETROS CLÍNICOS

5.4.2.1 Características de las deposiciones

La GEA de origen bacteriano ($n=27$) y las coinfecciones ($n= 88$) tuvieron mayor mucosidad en las deposiciones, con un porcentaje del 85,2% y el 76,1% respectivamente. Entre estos dos grupos no hubo diferencias estadísticamente significativas, pero sí entre estos dos tipos de GEA y las producidas por RV y NV con un p-valor de 0,014. El 57,1% de la GEA por RV y el 52% de la GEA por NV presentaron moco en las deposiciones (figura 39) (tabla 41).

Con respecto a la presencia de sangre en las heces, todos los tipos de GEA (exceptuando las producidas por ADV y ASTV) mostraron diferencias entre ellas con un p-valor menor de 0,001. Los grupos de etiología vírica presentaron un menor porcentaje de casos con deposiciones sanguinolentas (GEA por rotavirus un 12,2% y GEA por norovirus un 40%) con respecto a las bacterianas y coinfecciones. Las deposiciones sanguinolentas aparecieron en el 85,2% de los individuos con GEA bacteriana. La GEA por RV fue el grupo con menor proporción de deposiciones sanguinolentas (figura 40) (tabla 42).

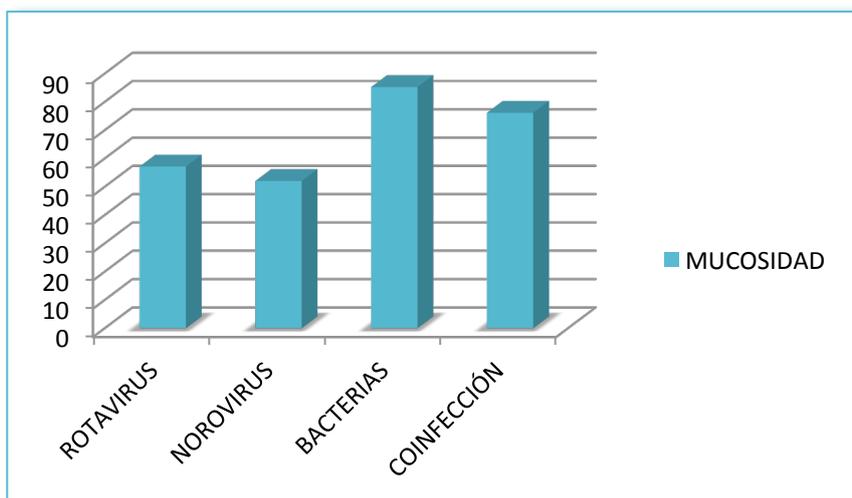


Figura 39. Casos con moco en las deposiciones en los grupos etiológicos (%).

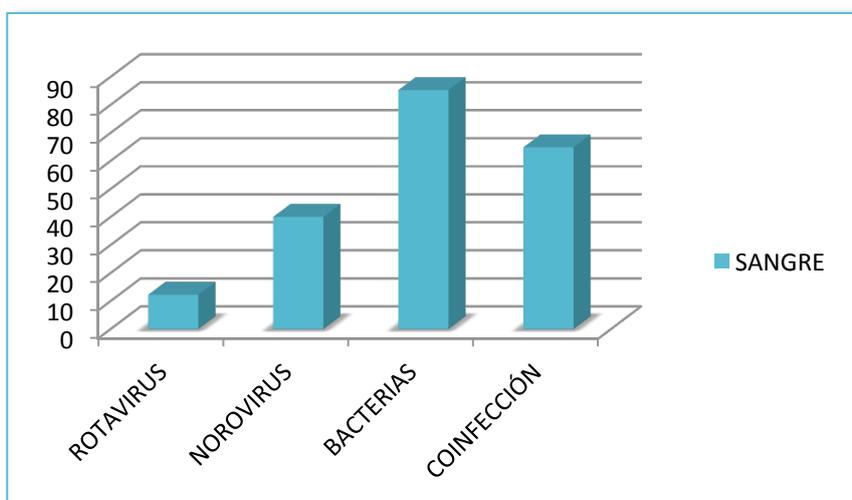


Figura 40. Casos con sangre en las heces en los grupos etiológicos (%).

5.4.2.2 Vómitos

La GEA por RV se caracterizó por presentar el mayor porcentaje de casos con vómitos con un 89,8%, diferenciándose del resto de GEA con un p-valor menor de 0,001. No hubo diferencias significativas entre los norovirus, bacterias y coinfecciones (figura 41) (tabla 42).

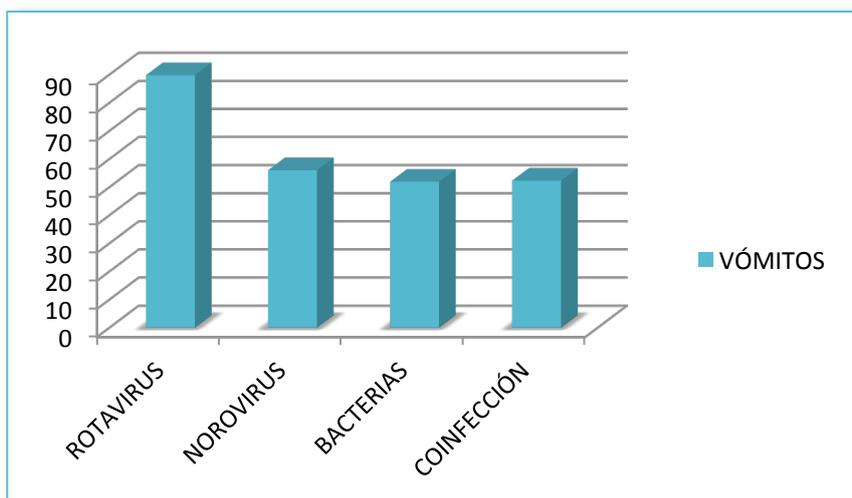


Figura 41. Casos con vómitos en los grupos etiológicos (%).

5.4.2.3 Fiebre

La GEA por NV presentó el menor porcentaje de casos con fiebre (56%), siendo significativamente menor que la GEA por RV, bacterias y coinfecciones con un p-valor de 0,013. El grupo RV presentó mayor proporción de niños con fiebre (87,8%), aunque no hubo diferencias significativas con bacterias y coinfecciones (figura 42) (tabla 42).

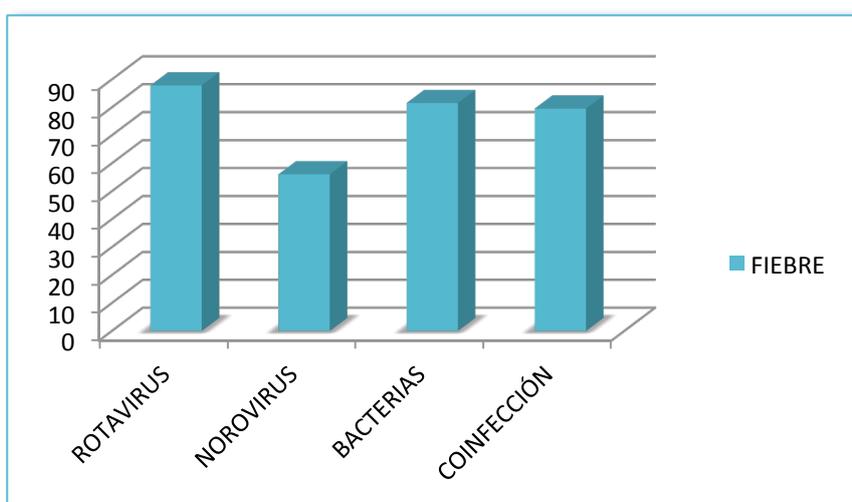


Figura 42. Casos con fiebre en los grupos etiológicos (%).

5.4.2.4. Deshidratación

Los pacientes con RV como agente causal único presentaron el mayor porcentaje de deshidratación (42,9%) con respecto a los otros grupos, siendo estadísticamente significativo (p 0,009) (figura 43) (tabla 42).

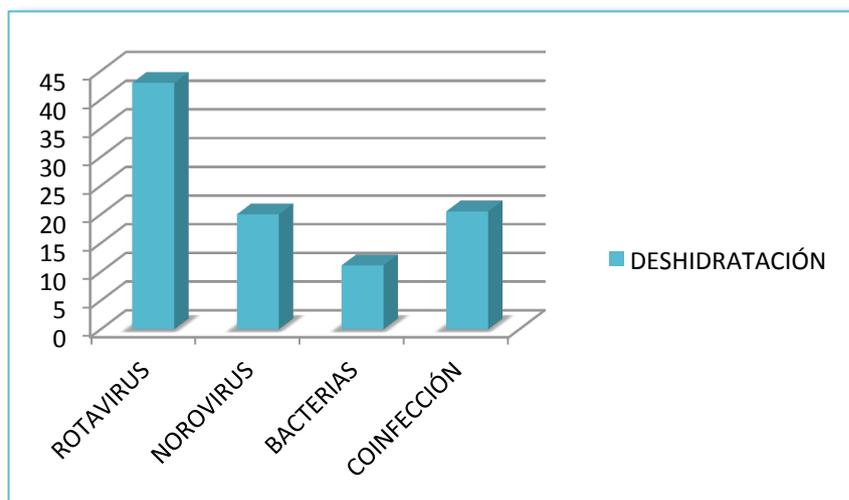


Figura 43. Casos con deshidratación en los grupos etiológicos (%).

Parámetros clínicos	(-) n= 9	RV n=49	NV n=25	Bacterias n=27	Coinfección n=88	Total n=204	p-valor
Mucosidad	7 (77,8) ^{a,b,c}	28 (57,1) ^a	13 (52) ^b	23 (85,2) ^c	67 (76,1) ^c	141 (69,1)	0,014
Sangre	4 (44,4) ^{a,d}	6 (12,2) ^b	10 (40) ^a	23 (85,2) ^c	57 (64,8) ^d	101 (49,5)	<0,001
Vómitos	4 (44,4) ^a	44 (89,8) ^b	14 (56) ^a	14 (51,9) ^a	46 (52,3) ^a	125 (61,3)	<0,001
Fiebre	5 (55,6) ^{a,c}	43 (87,8) ^b	14 (56) ^a	22 (81,5) ^b	70 (79,5) ^{b,c}	156 (76,5)	0,013
Deshidratación	1 (11,1) ^{a,b}	21 (42,9) ^a	5 (20) ^b	3 (11,1) ^b	18 (20,5) ^b	50 (24,5)	0,009

Tabla 42. Relación de los diferentes parámetros clínicos en los grupos de edad. Diferentes superíndices indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre grupos. No están presentes las GEAs por ASTV (n=2) y por ADV (n=4).

5.4.3 PARÁMETROS ANALÍTICOS

De los parámetros analíticos analizados, los niveles de transaminasas mostraron diferencias entre grupos. Las cifras de AST fueron más elevadas en el grupo RV respecto a los otros grupos con un p valor menor de 0,001. En cambio los niveles de ALT fueron más bajos en el grupo NV respecto al resto, siendo esta diferencia estadísticamente significativa (p 0,009) (tabla 43).

Enzimas hepáticas	(-) n= 9	RV n=49	NV n=25	Bacterias n=27	Coinfección n=88	Total n= 204	P-valor
GGT	15 (11;55)	12 (10;44)	18 (15;30)	21 (13;23)	14 (10;20)	15 (10;26)	0,741
GOT	37,5 (31;45) ^a	49 (40;60) ^b	35 (26;38) ^a	35,5 (28;41) ^a	36 (30;47) ^a	39 (31;49)	<0,001
GPT	22,5 (18;28) _{a,b}	30 (22;40) ^a	22 (17;27) ^b	21 (17;31) ^a	24 (19;31) ^a	25 (19;34)	0,009

Tabla 43. Relación de los niveles de transaminasas con los grupos etarios. Diferentes superíndices indican diferencias significativas (p< 0,05) entre grupos.

5.4.4 ESTANCIA HOSPITALARIA

RV y NV como agente causal de GEA tuvieron un menor tiempo de ingreso, de 5 días, que los otros dos grupos, con un tiempo de estancia hospitalaria de 5,5 días para el grupo bacterias y 6 días para el grupo coinfección (tabla 44). Esta diferencia resultó significativa con un p-valor de 0,003.

Días ingreso	(-) n= 9	RV n=49	NV n=25	Bacterias n=27	Coinfección n=88	Total n= 204	p-valor
Mediana y cuartiles	5 (4 ; 5) ^{a,b}	5 (4 ; 6) ^a	5 (3 ; 6) ^a	5,5 (5 ; 8,5) ^b	6 (4,5 ; 8) ^b	5 (4 ; 7)	0,003

Tabla 44. Relación de los días de ingreso con los grupos etiológicos. Diferentes superíndices indican diferencias significativas (p< 0,05) entre grupos.

5.4.5 FACTORES EPIDEMIOLÓGICOS

El análisis estadístico mostró que no hubo diferencias estadísticamente significativas entre las distintas causas de GEA estudiadas en relación a los factores epidemiológicos que se citan a continuación: asistencia a guardería, contacto con proceso diarreico o con persona que hubiera estado en el extranjero y haber recibido alguna dosis de vacuna contra RV (tabla 45).

	(-) n= 9	RV n=49	NV n=25	Bacterias n=27	Coinfección n=88	Total n= 204	p- valor
Guardería	1 (11,1)	9 (18,4)	5 (20)	4 (14,8)	15 (17)	35 (17,2)	0,973
Contacto con diarrea	4 (44,4)	19 (38,8)	4 (16)	9 (33,3)	25 (28,4)	62 (30,4)	0,243
Contacto extranjero	1 (11,1)	5 (10,2)	1 (4)	2 (7,4)	7 (8)	16 (7,8)	0,907
Vacuna rotavirus	0 (0)	1 (2)	2 (8)	1 (3,7)	5 (5,7)	9 (4,4)	0,725

Tabla 45. Relación de los factores epidemiológicos con los grupos etiológicos.

5.5. ANÁLISIS DE LA SEVERIDAD O GRAVEDAD

5.5.1 POR GRUPOS ETIOLÓGICOS

El tipo de GEA más severo, aplicando la escala de Vesikari, fue la ocasionada por RV con el 93,9% de sus casos, mientras que la GEA por NV fue la menos grave (48%), siendo estas diferencias significativas con un p-valor menor de 0,001. El 72,7% de las coinfecciones y el 70,4% de la GEA de origen bacteriano fueron severas (tabla 46) (figura 44).

	(-) n=9	RV n=49	NV n=25	Bacterias n=27	Coinfección n=88	Total n= 204	p- valor
Puntuación de gravedad (mediana e IQR)	12 (11;15) ^{a,c}	15 (13;16) ^b	11 (11;14) ^a	13 (11;14) ^{a,c}	13 (11;15) ^c	13 (11; 15)	<0,001
Escala severidad >11 (%)	5 (55,6) ^{a,c}	46 (93,9) ^b	12 (48) ^a	19 (70,4) ^c	64 (72,7) ^c	150 (73,5)	<0,001

Tabla 46. Relación del porcentaje de casos severos de GEA y puntuación en la escala de gravedad en los grupos etiológicos. Diferentes superíndices indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre grupos.

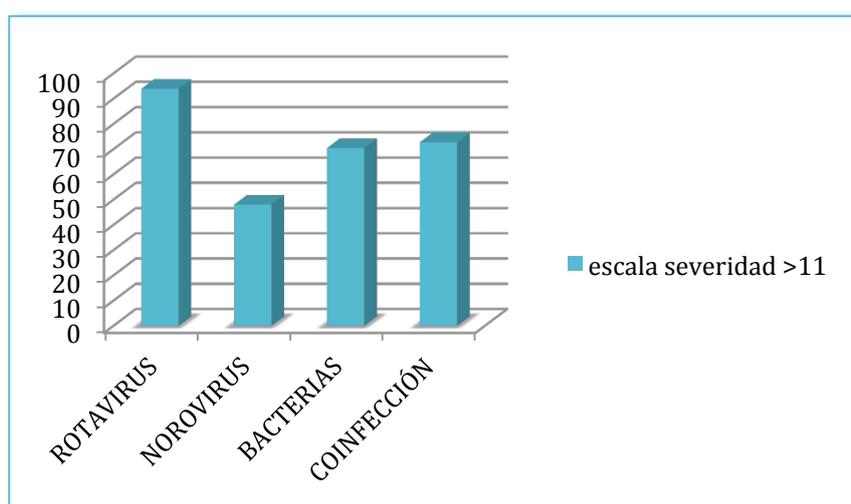


Figura 44. Casos de GEA severa en los grupos etiológicos (%).

5.5.2 POR AISLAMIENTO DEL MISMO PATÓGENO SÓLO O EN COINFECCIÓN

RV y NV según se encontraron como agente único productor de GEA o estando en coinfección provocaron diferente severidad. La GEA por RV tuvo mayor puntuación en la escala de severidad que las coinfecciones en las que estuvo presente (p -valor menor de 0,001). En cambio, la GEA por NV tuvo menor puntuación en la escala de severidad que sus coinfecciones (p -valor 0,039). En el resto de los gérmenes no hubo diferencias en este sentido (tabla 47).

	Único aislamiento	En coinfección	P-valor
RV	15 (13; 16)	13 (11; 14)	<0,001
NV	11 (11; 14)	13 (12; 15)	0,039
ASV	12	13 (11; 13,25)	-
ADV	12 (11,7; 12,2)	13 (11,5; 13)	0,580
<i>Salmonella</i>	13 (11; 14)	13 (12; 15)	0,26
<i>Campylobacter</i>	12,5	12 (11; 13)	-
<i>Aeromona</i>	-	12 (12; 13)	-
<i>E. coli</i>	-	-	-
<i>Cryptosporidium</i>	-	-	-

Tabla 47. Comparativa de la puntuación en la escala de severidad con los casos de un mismo germen como agente único o en coinfección. Los valores se expresan en mediana y rangos intercuartílicos.

5.5.3 POR GRUPOS ETARIOS

Los pacientes menores de 6 meses tuvieron el menor porcentaje de casos severos (53%) con un p valor menor de 0,001 respecto a los otros grupos. La proporción de GEA grave en los pacientes con edades comprendidas entre 6 y 24 meses y el grupo mayor de 24 meses fue de 84,1% y 82,1% respectivamente, sin haber diferencias significativas entre ellos (tabla 48) (figura 45).

	Grupos de edad				P-valor
	≤ 6m n=66	6-24m n=82	≥ 24m n=56	Total n= 204	
Puntuación de gravedad (mediana e IQR)	12 (11;13) ^a	13 (12;15) ^b	14 (12;15) ^b	13 (11; 15)	<0,001
Escala severidad >11 (%)	35 (53) ^a	69 (84,1) ^b	46 (82,1) ^b	150 (73,5)	<0,001

Tabla 48. Relación del porcentaje de casos severos de GEA y puntuación en la escala de gravedad en los grupos etarios. Diferentes superíndices indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre grupos.

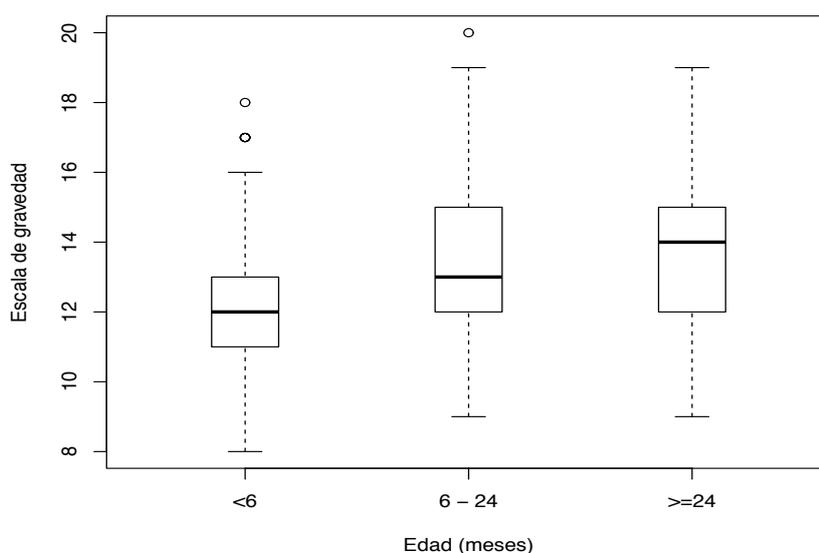


Figura 45. Distribución de las puntuaciones de gravedad en los grupos de edad.

5.6. ANÁLISIS DE LAS VARIABLES DEL ESTUDIO EN LOS GRUPOS SEGÚN SU SEVERIDAD

Atendiendo a la severidad de la GEA tras aplicar la escala de Vesikari la muestra de este estudio se dividió en dos grupos: el grupo de casos severos ($n=150$) y el de casos moderados ($n=54$). No hubo ninguna gastroenteritis catalogada como leve.

5.6.1 ANÁLISIS DE LOS AISLAMIENTOS EN LOS GRUPOS DE GEA MODERADA Y SEVERA

El porcentaje de los distintos gérmenes aislados en el grupo de GEA severa mostró que RV apareció en el 50,7% de los niños de este grupo (puntuación escala de Vesikari ≥ 11). El número de casos con puntuación menor a 11 en los que se aisló el RV fue 15, correspondiente al 27,8% de los pacientes del grupo moderado. Esta diferencia fue estadísticamente significativa con un p-valor de 0,004 (figura 46) (tabla 49).

En las muestras de los pacientes con un cuadro moderado de GEA (puntuación $\geq 8-11$) hubo mayor aislamiento de NV, ASTV y ADV que en las de los pacientes con cuadro severo. Estas diferencias no fueron significativas.

En cuanto a las bacterias, el número de aislamientos de *Salmonella* y *Aeromona* fue mayor en el grupo de pacientes con cuadro severo de GEA. En cambio, *Campylobacter* se encontró en menor frecuencia en el grupo moderado con respecto al severo. Tampoco hubo significación estadística.

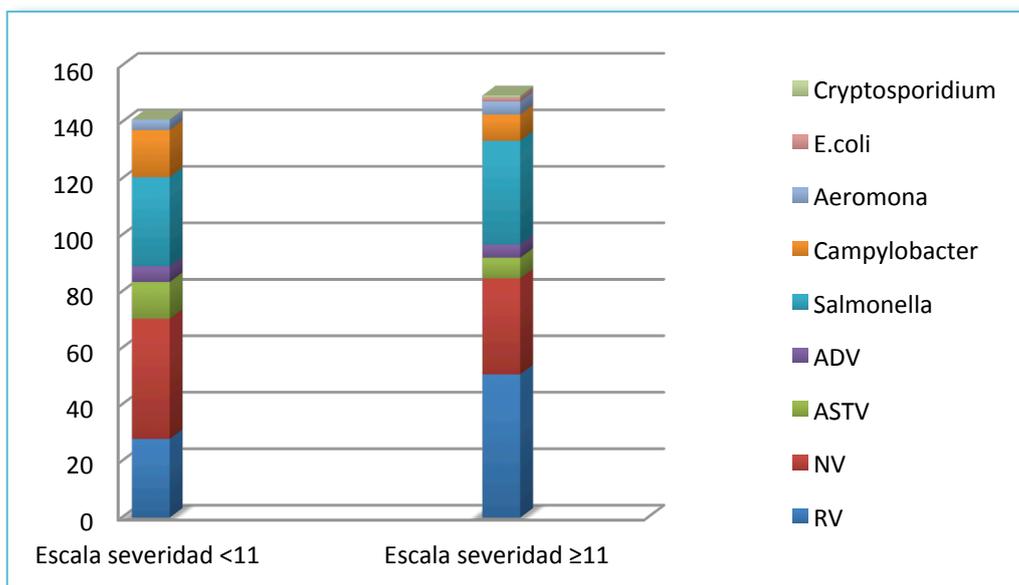


Figura 46. Distribución de los aislamientos en los grupos de gravedad (%).

	Escala de severidad		P-valor
	<11 n= 54	≥ 11 n=150	
Rotavirus	15 (27,8)	76 (50,7)	0,004
Norovirus	23 (42,6)	51 (34)	0,260
Astrovirus	7 (13)	11 (7,3)	0,262
Adenovirus	3 (5,6)	7 (4,7)	0,726
<i>Salmonella</i>	17 (31,5)	55 (36,7)	0,494
<i>Campylobacter</i>	9 (16,7)	14 (9,3)	0,144
<i>Aeromona</i>	2 (3,7)	7 (4,7)	1
<i>E. coli</i>	0	2 (1,3)	-
<i>Cryptosporidium</i>	0	1 (0,7)	-

Tabla 49. Distribución de los aislamientos en los grupos de gravedad [n y (%)].

5.6.2 ANÁLISIS DE CASOS EN LOS GRUPOS DE GEA MODERADO Y SEVERO

RV aportó el 30,7% de los casos severos de GEA (n=150) frente al 5,6% que aportó al cuadro moderado (n=54). Esta diferencia fue significativa con un p-valor de 0,001. La distribución del resto de gérmenes como único agente etiológico y las coinfecciones en los grupos de gravedad no mostró significación estadística cuando se excluyó a los pacientes con GEA por RV (p=0,289) (figura 47) (tabla 50).

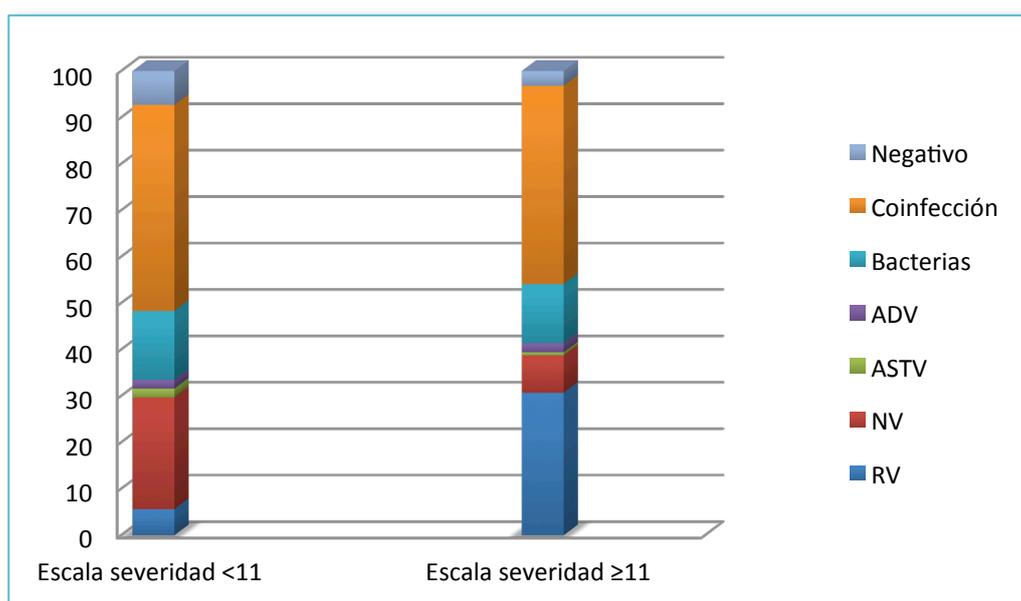


Figura 47. Distribución de la etiología de la GEA en los grupos de gravedad (%).

	Escala de severidad		p-valor
	<11 n= 54	≥ 11 n=150	
Rotavirus	3 (5,6)	46 (30,7)	0,001
Norovirus	13 (24,1)	12 (8)	
Astrovirus	1 (1,9)	1 (0,7)	
Adenovirus	1 (1,9)	3 (2)	
Bacterias	8 (14,8)	19 (12,7)	
Coinfección	24 (44,4)	64 (42,7)	

Tabla 50. Distribución de los agentes productores de GEA en los grupos de gravedad [n y (%)].

5.6.3 ANÁLISIS DE LOS TIPOS G y P DEL ROTAVIRUS EN LOS GRUPOS DE GEA MODERADA Y SEVERA

La distribución de los tipos G y P de los RV presentes en el 50,7% de los casos severos y en el 27,8% de los casos moderados de GEA se muestra en la tabla 51.

P[6] y P[8] aparecieron en el 8% y el 28% de los pacientes con GEA severa mientras que en el grupo moderado no se detectó P[6] y P[8] apareció en el 4% de sus casos. Estas diferencias fueron significativas con un p-valor de 0,039 y 0,002 respectivamente. G1 es el único genotipo G que tuvo significación estadística al estar en el 22% de los sujetos del grupo severo y en el 5,6% en el moderado (p-valor 0,007) (figura 48).

La distribución del resto de tipos G y P según la severidad del cuadro no mostró diferencias estadísticamente significativas. En el grupo severo se encontraron los dos RV mixtos por lo que el porcentaje de tipos G excede del total.

	Escala de severidad		p-valor
	<11 n= 54	≥ 11 n=150	
G1	3 (5,6)	33 (22)	0,007
G2	3 (5,6)	20 (13,3)	0,121
G3	2 (3,7)	0	0,069
G4	1 (1,9)	9 (6)	0,113
G9	0	5 (3,3)	0,575
GIND	6 (11,1)	11 (7,3)	0,206
P[4]	0	1 (0,7)	1
P[6]	0	12 (8)	0,039
P[8]	4 (7,4)	42 (28)	0,002
PIND	11 (20,4)	21 (14)	0,233

Tabla 51. Distribución de los genotipos G y P en los grupos de gravedad [n y (%)].

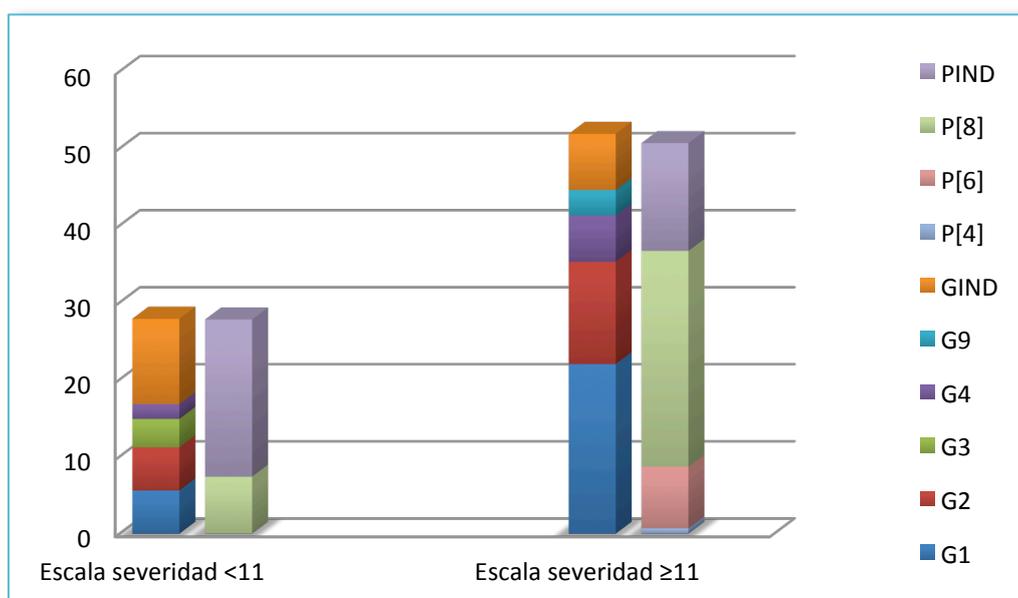


Figura 48. Distribución de los genotipos G y P en los grupos de severidad (%).

5.6.4 ANÁLISIS POR SEXO Y EDAD EN LOS GRUPOS DE GEA MODERADA Y SEVERA

No hubo diferencias significativas en la distribución del sexo en los grupos según su severidad. El porcentaje de pacientes varones fue mayor en los dos grupos (tabla 52).

En cuanto a la edad, los pacientes menores de 6 meses aportaron un mayor porcentaje de casos al grupo de GEA moderada que al severo, siendo significativa esta diferencia con un p-valor menor de 0,001. En cambio, los pacientes con edades comprendidas entre 6-24 meses y los mayores de 24 meses aportaron más casos al grupo de GEA severa que al moderado (46% / 24,1% y el 30,7% / 18,5%) respectivamente. Estas diferencias fueron estadísticamente significativas ($p < 0,001$) (tabla 53) (figura 49).

	Escala de severidad		p-valor
	<11 n= 54	≥ 11 n=150	
♂/♀ (%)	61,1/38,9	53,3/46,7	0,324

Tabla 52. Distribución del sexo en los grupos de gravedad.

	Escala de severidad		p-valor
	<11 n= 54	≥ 11 n=150	
Grupo <6 m	31 (57,4)	35 (23,3)	<0,001
Grupo ≥6-24m	13 (24,1)	69 (46)	
Grupo ≥ 24 m	10 (18,5)	46 (30,7)	
Edad (mediana y percentiles)	4 (1;18)	15 (6; 28)	

Tabla 53. Relación de la edad con los grupos de gravedad [n y (%)].

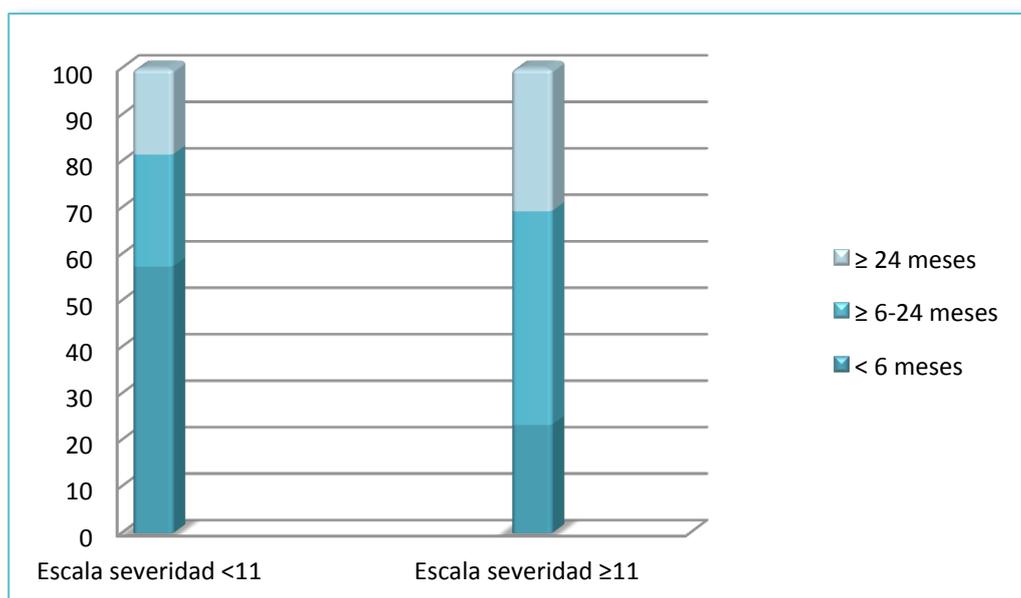


Figura 49. Relación de la edad con los grupos de gravedad.

5.6.5 ANÁLISIS DE LOS PARÁMETROS CLÍNICOS EN LOS GRUPOS DE GEA MODERADA Y SEVERA

La triada vómitos, fiebre y deshidratación fue más frecuente en los casos severos de GEA (n=150) que en los moderados (n=54), siendo estadísticamente significativo ($p < 0,001$). En cambio, la presencia de sangre en las deposiciones fue un signo que apareció en mayor porcentaje (68,5%) en la GEA moderada que en la severa (42,7%) siendo significativa esta diferencia con un p-valor de 0,001. No hubo diferencias entre los dos grupos de gravedad al analizar la presencia de mucosidad en las deposiciones (tabla 54) (figura 50).

	Escala de severidad		
	<11 n= 54	≥ 11 n=150	p-valor
Deposiciones con moco	38 (70,4)	103 (68,7)	0,816
Deposiciones con sangre	37 (68,5)	64 (42,7)	0,001
Vómitos	12 (22,2)	113 (75,3)	<0,001
Fiebre	26 (48,1)	130 (86,7)	<0,001
Deshidratación	2 (3,7)	48 (32)	<0,001

Tabla 54. Distribución de los parámetros clínicos en los grupos de gravedad [n y (%)].

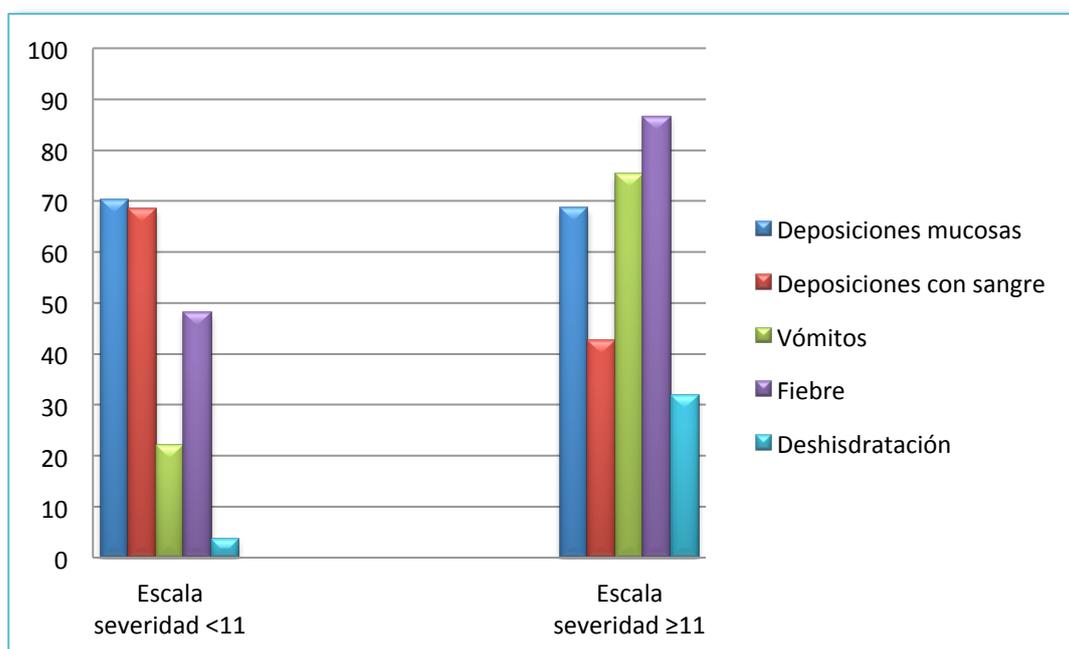


Figura 50. Distribución de los parámetros clínicos en los grupos de gravedad (%).

5.6.6 ANÁLISIS DE LA ESTANCIA HOSPITALARIA EN LOS GRUPOS DE GEA MODERADA Y SEVERA

En cuanto a los días de ingreso no hubo diferencia entre los grupos (tabla 55).

	Escala de severidad		p-valor
	<11 n= 54	≥ 11 n=150	
Días de ingreso	5 (4; 7)	6 (4; 7)	0,132

Tabla 55. Estancia hospitalaria en los grupos de gravedad. Los valores se expresan en mediana y rangos intercuartílicos.

5.6.7 ANÁLISIS DE LOS FACTORES EPIDEMIOLÓGICOS EN LOS GRUPOS DE GEA MODERADA Y SEVERA

La distribución entre los grupos de severidad de los factores epidemiológicos no mostró significación estadística (tabla 56).

	Escala de severidad		p-valor
	<11 n= 54	≥ 11 n=150	
Guardería	8 (14,8)	27 (18)	0,617
Contacto con diarrea	15 (27,8)	47 (31,3)	0,717
Contacto con extranjero	3 (5,6)	13 (8,7)	0,766
Vacuna RV	2 (3,7)	7 (4,7)	1

Tabla 56. Distribución de los factores epidemiológicos en los grupos de gravedad [n y (%)].

5.6.8 ANÁLISIS DE COMPLICACIONES EN LOS GRUPOS DE GEA MODERADA Y SEVERA

En el grupo de GEA moderada aparecieron 4 casos de IPLV frente a los 2 casos que aparecieron en el grupo severo. Esta diferencia fue estadísticamente significativa (p 0,043) (tabla 57).

	Escala de severidad		p-valor
	<11 n= 54	≥ 11 n=150	
IPLV	4 (7,4)	2 (1,3)	0,043

Tabla 57. Aparición de IPLV en los grupos de severidad [n y (%)].

5.7. REGRESIÓN LINEAL MULTIVARIANTE PARA LA ESCALA DE SEVERIDAD

Para la escala de severidad, las variables seleccionadas mediante el método del mejor subconjunto de variables fueron la edad y los serotipos P[6] y P[8]. Sin embargo, en el modelo aditivo en el que se modeló la edad mediante un spline cúbico, el P[6] no mantuvo significación estadística. El modelo final se resume en la tabla 58.

Factor	Coficiente (SE)	p-valor
Término independiente	13,03 (0,175)	-
Edad	Spline cúbico (figura 3)	<0,001
P[8]	1,128 (0,378)	0,003

Tabla 58. Análisis logístico multidimensional para puntuación de gravedad superior a 11.

El modelo por tanto puede escribirse:

$$\text{Escala de severidad} = 13,03 + s(\text{edad}) + 1,128 \times P[8] + \text{error aleatorio}$$

Donde la función (edad) se muestra en la figura 51. Nótese que el efecto de la edad sobre la severidad mantiene una forma similar a la del análisis univariado presentado en

la figura 52. El modelo indica que el valor esperado de la severidad se incrementa en 1,128 cuando el niño presenta una infección por RV con tipo P[8] (p-valor= 0,003).

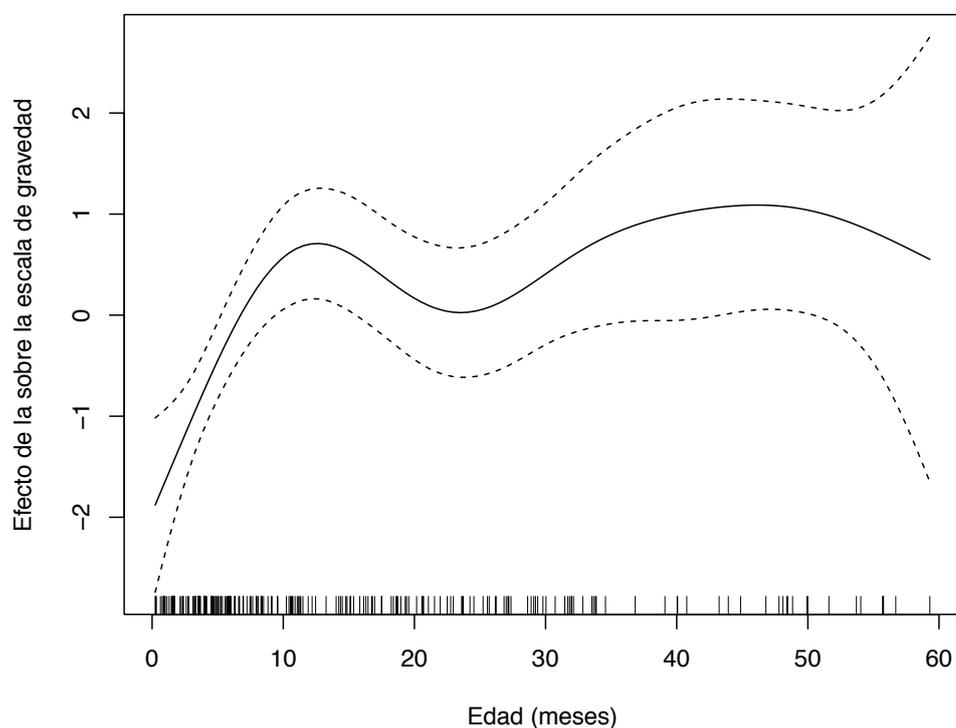


Figura 51. Efecto no lineal (IC-95%) de la edad sobre la escala de severidad deducida del modelo aditivo.

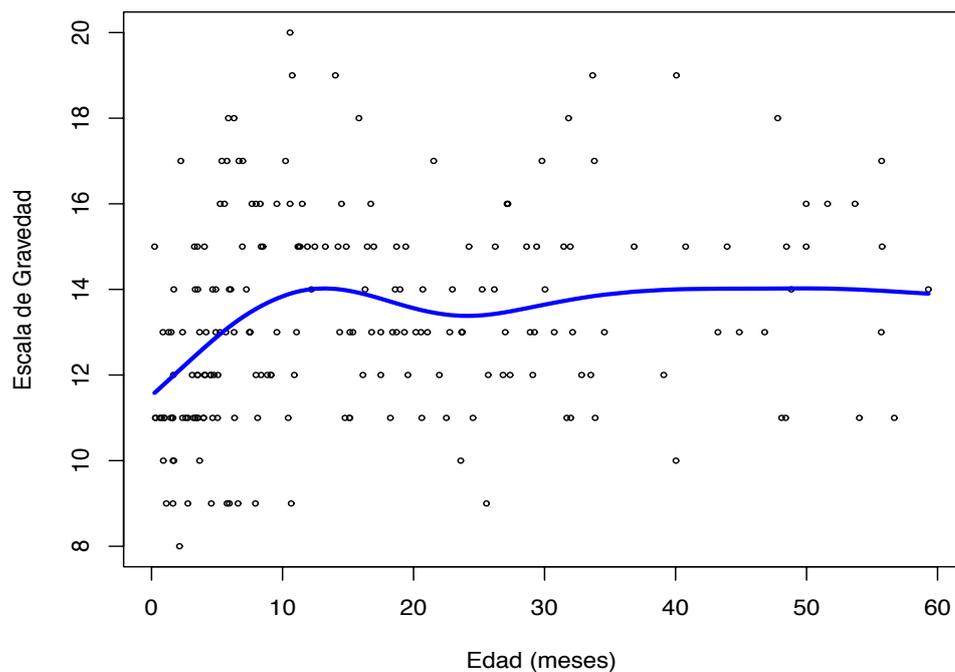


Figura 52. Evolución de los valores esperados de la escala de severidad según edades. Los valores esperados (línea azul) se obtuvieron mediante splines cúbicos.

5.8. DISTRIBUCIÓN DE LAS GEAS SEGÚN AGENTE CAUSAL POR ZONA GEOGRÁFICA

	Las Palmas n=103	Telde n=20	Sur n=53	Norte n=17	Centro n=9
Negativo	4 (3,9)	2 (10)	2 (3,8)	1 (5,9)	0
Rotavirus	21 (20,4)	8 (40)	13 (24,5)	2 (11,8)	5 (55,6)
Norovirus	10 (9,7)	1 (5)	10 (18,9)	4 (23,5)	0
Astrovirus	1 (1)	1 (5)	0	0	0
Adenovirus	3 (2,9)	0	1 (1,9)	0	0
Bacterias	14 (13,6)	2 (10)	7 (13,2)	2 (11,8)	2 (22,2)
Coinfección	50 (48,5)	6 (30)	20 (37,7)	8 (47,1)	2 (22,2)

Tabla 59. Distribución de los casos por zona geográfica de la isla [n y (%)].

5.9. MARCADORES EPIDEMIOLÓGICOS

En las tablas se exponen los marcadores epidemiológicos de la GEA adquirida en la comunidad en menores de 5 años hospitalizados en la isla de Gran Canaria.

La incidencia de hospitalización por gastroenteritis se ha mantenido estable en los años analizados. El año con mayor tasa de ingresos fue 2009 y 2013 el de menor, coincidiendo con la menor incidencia de hospitalización por rotavirus.

Año	Casos/1000 niños < 5 años/año
2008	2,1
2009	2,7
2010	2,2
2011	1,9
2012	2,3
2013	0,8
2014	2,3

Tabla 60. Incidencia de ingreso por GEA adquirida en la comunidad.

Año	Casos/1000 niños < 5 años/año
2008	1,2
2009	0,9
2010	0,5
2011	0,5
2012	1
2013	0,2
2014	1,3

Tabla 61. Incidencia de hospitalización por GEA asociada a RV.

El peso que representa tanto las gastroenteritis en general, como las producidas por RV con respecto al total de ingresos en niños menores de 5 años no ha sufrido variaciones importantes entre 2009 y 2014.

Año	Casos/100 niños < 5 años ingresados/año
2009	2,8
2010	2,4
2011	2,1
2012	2,2
2013	1
2014	2,4

Tabla 62. Frecuencia de GEA adquirida en la comunidad como motivo de ingreso.

Año	Casos/100 niños < 5 años ingresados/año
2009	0,9
2010	0,5
2011	0,5
2012	1
2013	0,2
2014	1,3

Tabla 63. Frecuencia de GEA por RV como motivo de ingreso.

DISCUSIÓN

6. DISCUSIÓN

Este estudio es el primero y único realizado en Canarias en el campo de las gastroenteritis a nivel pediátrico, en el que se ha realizado una búsqueda sistemática de los agentes causales por medios diagnósticos de biología molecular. Esta tesis pretende comprender la epidemiología de las gastroenteritis virales en los pacientes hospitalizados menores de 5 años en la isla de Gran Canaria.

Antes de iniciar la discusión, hay que ubicar el estudio temporalmente, ya que existe un hecho muy importante que afecta a la epidemiología de la GEA, la disponibilidad de inmunización contra el RV. La vacunación frente al rotavirus ha supuesto un antes y un después, no sólo en el RV y sus cepas, sino en la importancia relativa del resto de agentes causales. Existen múltiples publicaciones en la literatura tanto de la etapa prevacunal como de la vacunal, siendo importante en esta última los países que iniciaron una vacunación sistemática o no. Los datos de esta tesis se originan durante los 2 primeros años del inicio de la vacunación en España, que está disponible desde mediados del año 2006 de forma no sistemática.

ANÁLISIS DE LAS FRECUENCIAS DE HOSPITALIZACIÓN Y LA INCIDENCIA DE LA GEA EN GLOBAL Y POR ROTAVIRUS

La incidencia de hospitalización por GEA desde el año 2008 al 2014 se mantuvo en un rango de 0,8-2,7 casos por cada 1000 menores de 5 años por año. El año mayor de la misma fue 2009 y el menor 2013.

La incidencia de hospitalización por rotavirus en menores de 5 años entre 2008 y 2014, osciló entre 0,2-1,3 casos por cada 1000 menores de 5 años por año. Los años de menor y mayor incidencia casualmente fueron consecutivos, 2013 y 2014 respectivamente. El año menor de la misma coincidió con el de menor incidencia de ingreso por GEA en general.

La frecuencia de GEA adquirida en la comunidad como motivo de ingreso osciló entre 1 y 2,8% de niños ingresados menores de 5 años en el período 2009-14. El año de

menor porcentaje de ingreso fue 2013. La frecuencia de ingreso por rotavirus tuvo poca variación manteniéndose entre 0,2 y 1,3% de niños hospitalizados. Los años de menor y mayor frecuencia de ingresos por RV coincidió con los años de menor y mayor incidencia por dicho germen.

Diversos estudios para evaluar el impacto de la GEA y en particular la que se asocia a RV se publicaron en Europa con datos pertenecientes a la etapa previa a la comercialización de la vacuna. El estudio europeo prospectivo REVEAL (64) estimó la incidencia de GEA en Bélgica, Francia, Alemania, Italia, España, Suecia y Reino Unido siendo sus resultados 17; 15,6; 7,6; 7,6; 12,2; 12,5 y 4,8 casos de GEA hospitalizadas por cada 1000 niños menores de 5 años. Este mismo trabajo estimó la incidencia de las hospitalizaciones en las que se detectó RV, siendo los datos 9,9; 8,7; 5; 5,2; 6,5; 7,7; 2,9 casos de RV hospitalizados por cada 1000 niños menores de 5 años. Otro estudio prospectivo llevado a cabo por el grupo PROTECT (The Pediatric European Rotavirus Comitee) (48) estimó una incidencia de 0,3-11,9 casos/1000 niños menores de 5 años con una mediana de 3. Dos revisiones retrospectivas, una de ellas realizada por la OMS, reportaron una incidencia de hospitalización por RV de 3,7 y 2,9 casos por 1000 niños menores de 5 años (66,79). En otras zonas desarrolladas como EEUU y Australia, la incidencia osciló entre 2 y 8 casos de hospitalización por RV por 1000 niños menores de 5 años (80).

En España a finales de siglo pasado en Guipúzcoa se estimó una incidencia de 3,11/1000 niños menores de 5 años ingresados y en Madrid en 2006 se reportó 2,6/1000 hospitalizaciones por RV (13).

Estas cifras, tanto europeas como nacionales, son mayores que las obtenidas a partir de los datos de Gran Canaria para la incidencia de hospitalización por GEA y para la causada por RV. No disponemos de datos previos de la época prevacunal para comparar si estas tasas son más bajas, o se mantienen los valores con respecto a la introducción de la vacuna en Gran Canaria. La introducción de la vacuna frente al RV en los programas de vacunación infantil ha sido muy eficaz para reducir su incidencia (16). Con estas cifras tan bajas de ingresos por GEA en general y por RV, junto con la escasez de datos es complicado evaluar el impacto de las vacunas en nuestra isla. No podemos saber si partimos de rangos de incidencia mayores y al introducir la vacuna ha

habido una gran reducción o si las cifras no se han modificado a pesar de coberturas vacunales cada vez mayores. Si podemos afirmar, según las estimaciones obtenidas desde que disponemos de datos, que la incidencia de ingresos por RV en niños menores de 5 años en la isla de Gran Canaria se ha mantenido estable sin verse afectada por la cobertura vacunal cada vez mayor. De hecho, la estimación más baja y más alta se dieron en los últimos años, con coberturas alcanzadas de 41% y 46% en 2013 y 2014 respectivamente.

Este hecho podría explicarse porque al tener poca incidencia, el potencial de mejoría evaluado por reducir la tasa de hospitalizaciones tenga poco rango de mejora. En este sentido, es posible que el mayor impacto sea a nivel de evitar casos graves que precisen ingreso o consultas a los servicios de urgencias hospitalarios, aumentando los casos que pueden controlarse de manera ambulatoria en atención primaria. Además, las tasas de incidencia de ingreso hospitalario pueden verse influenciadas por la variabilidad de la práctica clínica entre hospitales, las infraestructuras del sistema sanitario o el método diagnóstico empleado (48,64). Se informarán tasas más elevadas en aquellos estudios que empleen técnicas más sensibles o que no tengan un sistema apropiado y accesible de atención primaria.

ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS MICROBIOLÓGICOS

En total hubo 309 aislamientos en las 204 muestras fecales obtenidas de los niños incluidos.

ROTAVIRUS

Aislamientos de rotavirus

Rotavirus fue el germen más frecuente, encontrándose en el 29,4% de los aislamientos. Este liderazgo lo tuvo en ambas temporadas del estudio.

RV estuvo presente en el 44,6% de los 204 casos incluidos, apareciendo como único agente etiológico en 49 casos (24%) y en coinfección con otros gérmenes en 42 (20,6%). Esta distinción de los RV aislados de forma única, en coinfección o de forma global, es importante a la hora de comparar estos resultados con la literatura científica.

Algunos de los trabajos de impacto diseñados para determinar las hospitalizaciones atribuibles a rotavirus (64,81) dan sus cifras y estimaciones en función de los RV aislados de forma global en los casos reclutados, ya que no se realiza una búsqueda sistemática de otros gérmenes que pudieran participar. Sin embargo, hay que tener en cuenta que en las coinfecciones es difícil asegurar cuál de los gérmenes detectados es el real causante de la GEA o si todos aportan sintomatología. Partiendo de esta premisa, el porcentaje del 44,6% de casos en los que se encontró rotavirus es consistente con los porcentajes de detección en las publicaciones de los mismos años y en la era prevacunal. La mediana mundial de RV en los niños hospitalizados por GEA menores de 5 años es del 39%, con un rango aproximado de 20-73% (20,51). Los porcentajes detectados no varían entre continentes. El estudio europeo multicéntrico prospectivo REVEAL (82) que fue llevado a cabo los años 2004-2005 en Europa Occidental comunicó un rango de detección del 35-63%. En esta misma región, otra revisión realizada por el grupo PROTECT (The Pediatric European Rotavirus Comitee) (48), estimó que el porcentaje de hospitalizaciones en las que se aisló RV fue del 40% con un rango de 14 a 54%. Una revisión de las hospitalizaciones en Europa del Este comunicó un 38,1% de casos en los que se aisló RV (23). Publicaciones que recogen datos de la región denominada por la OMS como región del Mediterráneo Oriental, que se extiende desde Marruecos a Pakistán y estudios del continente asiático, refieren valores de hospitalizaciones del 37%, 40% y 45% (68,80,83) y rangos similares (14-67%)(19,83). Una revisión sudamericana en 2004 reportó un porcentaje del 31-38% y un rango de 16% al 52% (84).

Si se realiza un análisis comparativo entre los distintos países, podemos ver que existen diferencias entre los porcentajes publicados entre ellos y también en un mismo país. En revisiones de la época prevacunal realizadas en países de Europa del Este y en el norte de África y Oriente Medio, se dieron oscilaciones en los porcentajes reportados. Países como Rusia, Polonia, Bulgaria o Arabia redujeron sus hospitalizaciones por RV en un 50% en un periodo de tiempo relativamente corto, menos de 10 años. En cambio, países como Egipto o Irán sufrieron un aumento de los casos detectados (19,23). Un estudio chileno publicado en 2007 informa de un 14% de hospitalizaciones por RV, que contrasta con cifras mayores de países latinoamericanos como Paraguay con un 43% o Guatemala con más del 80% de ingresos (85). También se dan casos de porcentajes muy

similares en países muy diferentes como Australia, Japón, India, Rusia, Turquía o Grecia (34,43,86,87,88,89) a su vez semejantes a los encontrados en Gran Canaria. En España los porcentajes publicados por dos estudios prospectivos prevacunales multicéntricos europeos fueron similares, con el 53% y el 52,4% de RV en los niños menores de 5 años hospitalizados por GEA (25,48). Sánchez-Fauquier y cols. en España comunicaron en la época prevacunal un porcentaje de aislamiento del 61,4% (18). Al inicio de la época vacunal en España se publicó el estudio VIGESS-net (74) que se realizó de forma prospectiva entre los años 2006 y 2008. Se reportó en el mismo una frecuencia de aislamiento de RV en niños menores de 5 años hospitalizados por GEA del 40,1%, aplicando técnicas moleculares en las muestras recibidas de hospitales de varios puntos de la geografía española. Nótese la diferencia de aislamientos entre los dos estudios multicéntricos prospectivos españoles 61,4% en el prevacunal y 40,1% en el de la época vacunal (18,74).

Junquera y cols. (71) en 2009 detectó 45% de RV aislados. En 2010 Sánchez-Fauquier y cols.(73) en Madrid detectaron un total de 117 (31,6%) cepas de rotavirus en un área de cobertura vacunal del 40%.

La introducción de la vacuna frente al rotavirus ha supuesto un cambio en la magnitud de la GEA producida por RV, dando como resultado una reducción significativa de gastroenteritis graves, hospitalizaciones y muertes tanto en los países desarrollados, como los países en desarrollo (88). Este cambio ha sido más evidente en las naciones que han añadido la inmunización frente a este virus en los calendarios vacunales sistemáticos (67). Se han publicado datos de los países que adoptaron la vacunación sistemática como Bélgica, Brasil, Méjico, Estados Unidos, El Salvador, Austria y Australia que muestran una disminución importante de las hospitalizaciones en las que se detecta rotavirus (26,67,90,91,92,93,94,95). Otros trabajos de estas naciones complementan la efectividad de la vacuna informando una disminución de los casos notificados y test diagnósticos realizados (96,97,98), disminución de la mortalidad (99), o de la enfermedad severa (100). En los países con disponibilidad de la vacuna pero no de forma sistemática a través de los calendarios vacunales, también se reporta una disminución de las hospitalizaciones. Uhlig y cols. (101) en Alemania y Vesikari y cols. (102) en Finlandia, con coberturas vacunales entorno al 25-30%

informan de un descenso de las hospitalizaciones. Con coberturas del 40-50%, en España Martín-Torres y cols.(103) y en Alemania Dudareva-Vizule y cols. (104) confirman también esta disminución. El efecto posible de la inmunidad de grupo puede que tenga importancia en los países con cobertura parcial (20).

En la primera temporada de nuestro trabajo, el porcentaje de casos de RV aislados fue de 45,9% y en la segunda de 43,2%. Las coberturas vacunales en la provincia de Las Palmas fueron del 11%,35%,45% en los años 2007, 2008, y 2009 respectivamente. Las coberturas en Canarias fueron en esos mismos años de 12%,34% y 46%. Por tanto, según estos parámetros, la introducción de la vacuna no supuso gran descenso de las hospitalizaciones por RV en Gran Canaria. Sin embargo, la eficacia de la vacuna ha sido más que probada por diversos ensayos. Una revisión europea de los años 2006 a 2014 estimó una eficacia del 65-84% para prevenir la hospitalización, similar a la observada en Estados Unidos y Latinoamérica (105). En España Martín-Torres y cols.(106) encontraron una efectividad similar para ambas vacunas comercializadas. Pérez-Vilar y cols. (107) en Valencia al inicio de la implantación de la vacuna estimaron una eficacia del 86% en evitar hospitalización.

En el año 2010, se comunicó la detección de partículas de circovirus porcino en Rotarix[®] y fragmentos de ADN de estos virus en Rotateq[®]. La Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios (AEMPS) limitó la disponibilidad de lotes de dichas vacunas. La seguridad de ambas fue evaluada por la OMS, la Food and Drug Administration (FDA) de EEUU y la Agencia Europea de Medicamentos (EMA), concluyendo que mantenían su eficacia y que la presencia de elementos de circovirus porcino no suponía riesgo para la salud. La Asociación Española de Pediatría (AEP); la Asociación Española de Vacunología (AEV); la Sociedad Española de Infectología Pediátrica (SEIP) y la Sociedad Española de Gastroenterología, Hepatología y Nutrición Pediátricas (SEGHNP) se posicionaron a favor de la distribución de nuevo de ambas vacunas. La AEMPS decidió liberar de nuevo Rotateq[®], pero desde entonces Rotarix[®] no está disponible en España (108). Durante esa etapa en Galicia Martín y cols. (109) detectaron un aumento de los casos del 260% fruto de la caída de la cobertura del 49% al 22% por falta de vacuna. Por tanto, la eficacia de la vacuna está demostrada en España.

Una posibilidad de que el número de ingresos debido a RV en menores de 5 años no disminuyera en Gran Canaria, como debiera esperarse, podría explicarse por el hecho de que la cohorte de edad situada entre los 6 meses y 24 meses no fue candidata a vacunarse cuando estuvo disponible la vacuna. Estos niños eran susceptibles de padecer GEA por RV los años sucesivos y por tanto, mantener el nivel de casos o se diera un descenso más paulatino. Este fenómeno fue observado en EEUU, donde en el primer año de vacunación se produjo un rápido descenso de los casos y en el segundo año el descenso fue menor de lo esperado por aumento de las hospitalizaciones de los niños mayores que no fueron candidatos a vacunarse (20). En Singapur y Finlandia incluso se detectó aumento de las hospitalizaciones a pesar de la introducción de las vacunas (26,67).

Otra posibilidad es la fluctuación natural de la GEA por rotavirus, capaz de oscilar de un año a otro y que al no tener una vacunación sistemática, no se ve modificada en demasía (67). Una revisión sistemática europea realizada desde el inicio de la disponibilidad de la vacuna por Usonis y cols. (26) puso de manifiesto que los diferentes trabajos de los países analizados informaron de una disminución a partir de un 20-25% de cobertura.

También hay que tener en cuenta la heterogeneidad que existe entre los diseños de los estudios, los métodos de detección empleados y las diferencias entre los sistemas sanitarios. Las prácticas de hospitalización varían entre hospitales de un mismo país y entre países, que a su vez pueden tener un sistema de atención primaria eficaz y muchos casos pueden manejarse en casa sin ingresar (64). Otro factor que puede influir en los porcentajes publicados es la importancia que puedan tener otros gérmenes como las bacterias que aumentaría el denominador y por tanto, disminuiría la importancia relativa del RV. Este factor se corrige calculando tasas de incidencia (51).

Análisis de los casos de rotavirus

Rotavirus estuvo presente en 91 de los 204 pacientes incluidos, en 49 niños como único agente causal (24%) y en 42 en coinfección con otros gérmenes (20,6%). RV se encontró en 17 casos (8,3%) en coinfección con otros virus exclusivamente.

Como agente único causal fue el grupo más numeroso de ambas temporadas tras las coinfecciones. Los sujetos en los que se aisló RV como único agente etiológico, son en los que podemos atribuirle la responsabilidad de la sintomatología.

El porcentaje de RV aislados como agente único o en coinfección varía entre las publicaciones. Mucho tiene que ver la técnica diagnóstica utilizada, si se realizó una búsqueda de todos los agentes causales o la época del estudio por influencia de la vacuna. Existen pocos trabajos que especifiquen el porcentaje de RV aislados solos o con otros gérmenes. La mayoría notifican aislamiento global.

En España en la etapa prevacunal un estudio multicéntrico liderado por Sánchez-Fauquier utilizó técnicas de biología molecular aislando el RV como agente único en el 55,2% de las muestras y en el 6,3% en coinfección. Los rangos de aislamiento único estuvieron entre el 36,7% en León y el 68,2% de Valencia (18). Al inicio de la era vacunal en España destaca el estudio VIGESS-net entre 2006 y 2008, que reporta 33,9% de individuos con RV como único agente etiológico y 6,2% con otros virus entéricos (74). Sánchez-Fauquier y cols. (73) en Madrid en 2010 en un área de cobertura vacunal estimada del 40% publicaron que RV se encontró como único agente en 104 (28,1%) muestras y en coinfección con otro germen en el 3,5% de los casos. Nótese la disminución del porcentaje de RV aislado como agente causal etiológico único en estos tres trabajos españoles que utilizan biología molecular como método de detección. En Gran Canaria el porcentaje de casos por RV sólo fue ligeramente menor que el reportado por los estudios mencionados, no así el porcentaje de casos de RV aislados en coinfección vírica que fue mayor.

En el ámbito europeo, Podkolzin y cols. (89) en Rusia sin influencia de la vacuna detecta el 33,3% de RV como germen único y un 10,3% en coinfección.

Análisis de las cepas

Se consiguió el genotipo completo de 57 (62,6%) cepas de los 91 RV detectados, 2 de ellas tuvieron genotipo mixto. Se obtuvo el genotipado parcial en 19 (20,9%) y no se pudieron determinar 15 (16,5%).

Las cepas aisladas fueron por orden de frecuencia G1P[8] (n=25; 27,5%), G2P[6] (n=12; 13,2%), G4P[8] (n=7; 7,7%), G2P[8] (n=6; 6,6%), G9P[8] (n=4; 4,4%) y G2P[4] que al igual que G1-9P[8] y G1-4P[8] se aislaron en una ocasión (n=1; 1,1% respectivamente).

Las cepas de RV están sometidas a una variabilidad temporal, fenómeno ampliamente estudiado pero poco comprendido (26). Multitud de estudios y revisiones de ámbito mundial, continental, nacional y regional han notificado las cepas detectadas a lo largo de los años, intentando conocer si las oleadas que se observan en los genotipos detectados siguen algún patrón. Las redes de vigilancia hospitalaria instauradas por la OMS suponen un paso adelante en intentar comprender los cambios en las cepas circulantes de RV. Sin embargo, ningún trabajo ha sido capaz de predecir qué cepas predominarán en los años sucesivos o distinguir tendencias a corto plazo (22,23,25). Además existe la hipótesis sobre la posible influencia de las vacunas en la fluctuación natural de las cepas, ya de por sí poco comprendida, y que se seleccionen cepas emergentes que a largo de los años haga disminuir la efectividad de las vacunas. Por tanto, es importante la monitorización de las cepas en todo el mundo y especialmente en los países que han adoptado la vacunación sistemática (16,26,86). En Canarias no hay ningún estudio previo ni posterior a éste que determine las cepas circulantes en niños ingresados. Aunque no se ha podido identificar ningún patrón definido, si se pueden analizar tendencias que hacen que existan algunos fenómenos constatados.

A nivel mundial, los genotipos G1P[8], G2P[4], G3P[8] y G4P[8] representan el 88% de las cepas circulantes de la etapa prevacunal (13,17,18,21,24). Si se realiza distinción por continentes, Estados Unidos, Europa y Australia presentan un 90% de homología con estas cepas. En cambio Sudamérica o Asia sólo presentan un 68% de homología y África, un 50% (24). La cepa G1P[8] es la más aislada y la predominante en todo el mundo para la que se detectan aislamientos del 70% en Europa, EEUU y Australia, 30% Sudamérica y Asia y 23% África (24). La diversidad de cepas es mucho mayor en estos 3 últimos continentes, con porcentajes mayores de cepas inusuales 11-27% con respecto a Europa, Australia y Norteamérica, cuyo porcentaje oscila entre el 0,1 y el 5% (24,26). Los genotipos detectados en Gran Canaria completamente

tipificados son 6 sin tener en cuenta los dos mixtos y de ellos 3 son de los más frecuentes de la época prevacunal. Si tenemos en cuenta la totalidad de las cepas aisladas en Gran Canaria, guardan un 36,4% de homología con los 4 genotipos más frecuentes de la época prevacunal en el mundo. Si no tenemos en cuenta los RV indeterminados o parcialmente tipificados el porcentaje de homología asciende a 57,9%.

Una revisión prevacunal analizó por separado los genotipos G y P. De este modo, G1-4 representan el 97,5% de las infecciones por RV en Asia, Norteamérica y Europa, mientras que en Sudamérica, África y Australia la frecuencia relativa fue 89%; 83,5% y 90,4% respectivamente (24,69). Los RV aislados en nuestros casos presentan todos estos genotipos salvo que se aísla también G9, lo que supone un 100% de representación de los genotipos G circulantes de esos años. Esta misma revisión determina con respecto a los genotipos P, que P[8] y P[4] suponen el 90% de los genotipos P de todo el mundo a excepción de África donde representan el 70%. En este continente P[6] ocupa un tercio de los P detectados y está en segundo lugar tras P[8] (24,69). El patrón de genotipos P de Gran Canaria es similar al africano, detectándose un 50,5% de cepas con P[8], con P[6] en segunda posición (13,2%). Sólo se encontró un P[4] en nuestros datos.

Otro de los hechos establecidos es la emergencia de G9P[8] o del tipo G9. Esta cepa pasó en pocos años de ser poco usual a convertirse en uno de los genotipos predominantes (16). Los aislamientos de esta cepa se iniciaron en EEUU en los años 80, seguido de Japón a mediados de los 90 y posteriormente Australia y Europa a principios de siglo. Tanto fue así, que G9P[8] se incorporó a las 4 cepas mayoritarias previas en todo el mundo en los años justo anteriores a la introducción de las vacunas. Este hecho fue constatado por redes de vigilancia europeas como Eurorotanet (110), estudios prospectivos multicéntricos (25,56,64), nacionales (43,89,111) y revisiones (22,79,81); así como publicaciones del resto del mundo (6,19,23,24,67,69,86). Si tenemos en cuenta G9P[8], la homología que guardan la cepas de Gran Canaria con los 5 genotipos más frecuentes circulantes de esa época, es del 40,7% y si sólo tenemos en cuenta las cepas totalmente tipificadas es del 64,9%.

Actualmente, un nuevo genotipo se ha incorporado a los 5 antes comentados. El genotipo G12, generalmente acompañado por P[8], se ha sumado a las cepas circulantes

más frecuentes a nivel mundial. La red de vigilancia Eurorotanet en su informe de 2014 publica que G1P[8], G2P[4], G3P[8], G4P[8], G9P[8] y G12P[8] representan el 92% de cepas circulantes en Europa, el 98% de los genotipos G y P por separado (98). La emergencia e incorporación de G12 es un fenómeno que se ha comparado con lo ocurrido con G9. Diversos trabajos al inicio de la comercialización de la vacuna informaban frecuencias de G12 de poca entidad pero cada vez en más países (16,19,21,22,23,25,80,110,112). La primera notificación de G12 fue en Filipinas a finales de los años 80 (24). La detección más elevada de G12P[8] en Europa fue en 2011 con 7,3% de las muestras. La mayoría de esas cepas eran de España, donde se detectó G12 por primera vez en 2008 y pasó al 5,1% de los aislamientos en 2011 (73) y concretamente en el País Vasco (113). La temporada siguiente la frecuencia descendió en España al igual que en el resto de Europa (98). Un surgimiento similar se reportó en Nepal entre los años 2005 y 2007 donde G12 fue la cepa predominante (114). La homología de las cepas de nuestro estudio con las circulantes en la era postvacunal, es igual a la de la etapa prevacunal, ya que no se detectó ningún G12 en Gran Canaria.

Aunque las cepas cocirculantes se correspondan en su mayoría a las detectadas mayoritariamente en el mundo, la importancia relativa de cada cepa en cada lugar y cada año es muy variable. La más común entre los distintos países y que a su vez ha ocupado en la mayoría de los estudios, el primer lugar en frecuencia de aislamiento es G1P[8]. Esto es un hecho que se ha dado tanto antes, durante y después de la implantación de las vacunas en la mayoría de los países. Revisiones mundiales, continentales, nacionales o regionales lo confirman (16,22,25,26,86,89,98,110,111,115,116,117). Esta cepa es la más aislada en los niños menores de 5 años ingresados por GEA en Gran Canaria.

La segunda cepa en importancia en Gran Canaria fue G2P[6], que no ha estado incluida en los genotipos circulantes más frecuentemente aislados en el mundo. Una revisión de la OMS en 2010 (16) la cataloga de poco común y predominante en África. Se ha asociado P[6] a infecciones en cerdos (18) y representa el segundo genotipo P más frecuente en África donde suele asociarse a G2 o a G8 (24). Es raro aislar G8 fuera de África (69). En Gran Canaria no se aisló ningún G8. En España Sánchez-Fauquier y

cols. (73) sólo detectó P[6] con una frecuencia del 0,8% de los casos frente al 5,9% de los casos en Gran Canaria.

En nuestro trabajo, sólo se ha detectado G2P[4] en una ocasión y ningún G12, ya sea parcialmente tipificado o asociado a P[8]. La importancia de los mismos es debida a que se ha vinculado su auge a la introducción de la vacuna (72, 1). G2P[4] ha estado incluido en los genotipos más frecuentemente aislados, pero con poca importancia relativa. En los países que han implantado la vacunación de forma sistemática como Austria o Bélgica, G2P[4] es la cepa predominante desbancando a G1P[8] (26,98). Sin embargo, se pone en duda si es debido directamente a la presión o selección de cepas por medio de la vacuna o por el contrario, si es fruto de la fluctuación natural de las cepas de RV (118). En este sentido, existen aumentos coetáneos en otros países y regiones que no tienen influencia por parte de la vacuna y que también han detectado aumento de G2P[4]. Éste es el caso de España en la temporada 2003-04, Lituania en 2005-06 o una región de Portugal en 2007 (26,118,119). Brasil adoptó la vacunación sistemática y también detectó un aumento de casos de G2P[4], sin embargo esta cepa decayó en 2009. En Australia existe la particularidad de que la vacuna es universal pero cada estado dentro del país puede elegir qué vacuna aplicar, Rotarix[®] o Rotateq[®]. Se dio que en los estados que aplicaron Rotarix[®] G2P[4] fue más frecuente que G1P[8] y donde se aplicó Rotateq[®] ocurrió a la inversa. Lo más destacado fue que los años siguientes el fenómeno fue el contrario (26,86). Esto hace pensar que puede ser más debido a la circulación natural de las cepas (26). Algo parecido ocurre con G12, que ha tenido picos de detección previos a la existencia de las vacunas en Hungría y Eslovenia en 2005 (23), pero su auge en Europa se produjo a medida que la cobertura vacunal aumentaba como ocurrió en España (73,113). Hasta el momento no se ha podido establecer que las vacunas hayan seleccionado cepas emergentes y hayan producido cambios que no sean achacables al discurrir natural de las cepas (26,98). En este sentido, un estudio evaluó la secuencia genética de los cepas G1P[8] de países con una larga historia de vigilancia y que adoptaron la vacuna de forma sistemática como Australia y Bélgica, concluyendo que G1P[8] no ha variado su diversidad genética a pesar de la presión vacunal (120).

Las siguientes cepas en frecuencia aisladas en Gran Canaria fueron por este orden G4P[8], G2P[8] y G9P[8]. De éstas, G4P[8] y G9P[8] sí se encuentran entre las cepas circulantes más frecuentes.

El estudio multicéntrico español VIGESS-net (74) se realizó en las mismas fechas que este trabajo y por tanto, es el más comparable a nivel nacional con nuestra muestra. Las cepas más frecuentes aisladas en España entre los años 2006 y 2008 fueron G1P[8] (51,9%), seguido de G9P[8] (35,6%), G3P[8] (2,9%) y G2P[8] (2,2%). En comparación con Gran Canaria destaca que G1P[8] también fue la más frecuente, pero G2P[6] y G4P[8] predominantes en la isla, no estuvieron entre las 4 primeras. G9P[8] es la segunda a nivel nacional y es la quinta en Gran Canaria. El papel de G2P[8] es similar siendo el cuarto en frecuencia en ambos lugares, pero con mayor porcentaje de aislamiento en Gran Canaria.

Al no existir datos previos ni posteriores, no podemos identificar tendencias o picos de cepas a largo plazo en Gran Canaria. El cambio de cepas predominantes de un año a otro entre continentes, países e incluso regiones dentro de una misma nación es un hecho constatado en diversos estudios (23,24,25,26,79,81,86,98,110,117,121). La cepa que predomina en un año puede no detectarse el siguiente o mantenerse estable con niveles bajos y luego resurgir. La primera temporada de nuestro estudio se caracterizó por el predominio de G1P[8] seguido de G2P[6] que supusieron el 68% de las cepas circulantes en la temporada 2007-08. En esta temporada se detectó el único G2P[4] de la muestra, al igual que sólo hubo un aislamiento de G9P[8] y G2P[8]. En la segunda temporada hubo un cambio radical, no apareció ningún G2P[6] y G1P[8] cayó a 3 aislamientos que correspondían al 7,3% de las cepas. En cambio, la cepa predominante fue G4P[8] que no estuvo presente la temporada anterior. La segunda en frecuencia fue G2P[8] y la tercera G9P[8], igualada con G1P[8], pero tuvo tres aislamientos esta temporada en comparación con sólo uno en la primera. El análisis del patrón de los genotipos en cada temporada del estudio VIGESS-net (74) se realizó con los genotipos G de las cepas. G9 predominó en su primera temporada con un gran descenso en la segunda. G1 fue la más frecuentes en la segunda temporada, con un gran ascenso respecto a la primera. Esta segunda temporada del estudio VIGESS-net coincide con la primera temporada de los datos de Gran Canaria donde G1 fue el más frecuente,

detectándose en el 52% de las cepas seguido de G2 en un 34%. En Gran Canaria, G9 no fue un genotipo predominante en ninguna de las temporadas, aunque se concentró en la segunda. G2 y G1 descendieron en la 2ª temporada y G4 ascendió igualándose prácticamente a G1.

Las cepas circulantes en España al igual que en el resto del mundo han ido variando de una temporada a otra. Entre los años 1999 y 2004, los RV prevalentes en España fueron G1P[8] y G4P[8], alternándose el primer lugar. En 2003-04 hubo un aumento de G2P[4] y surgieron las cepas G9P[8] que predominaron en 2005-06 disminuyendo G1P[8] de forma importante (13,18,26,74,118). Posteriormente se detectó el aumento de cepas G12 (73,113).

Las cepas mixtas de RV se producen porque segmentos de genes pueden reagruparse de forma independiente produciendo cepas recombinantes. Estas cepas son fuente de diversidad viral (69). Santos y cols (24), en una revisión mundial de cepas circulantes entre 1973 y 2003, publicada en 2005, informa de los porcentajes de aislamiento de cepas mixtas en diferentes lugares del mundo, detectando entorno al 15%, 12%, 10%, 4,8%; 2,3% y 1,8% en Sudamérica, Asia, África, América del Norte, Australia y Europa respectivamente. Revisiones y estudios posteriores a nivel continental y nacional revelan una tendencia clara en relación con esta revisión mundial. El rango y los porcentajes de genotipos mixtos reportados son mayores en Sudamérica, Asia y África (19,74,86,88) que los observados en Europa, Norteamérica o Australia (86). El estudio español VIGESS-net tuvo 8,4% de genotipos mixtos tipo G (74). El porcentaje de los genotipos mixtos en los niños hospitalizados en Gran Canaria fue del 2,2% de los RV aislados y se asemeja a los valores de los países desarrollados.

Los porcentajes de cepas no tipificadas o parcialmente genotipadas descritos en la bibliografía son diversos. Si los estudios revisados utilizan como técnica de detección EIA, el porcentaje de cepas indeterminadas es más elevado. Los anticuerpos monoclonales utilizados detectarán los genotipos para los que están diseñados. Si la muestra tiene un genotipo ya sea G o P inusual o con una mutación leve, no lo visualizará. Los diseños que utilizan RT-PCR disminuyen las cepas no tipificadas, pero aún se informan porcentajes de indeterminadas con estos métodos. De forma similar a lo que ocurre con los anticuerpos monoclonales, el cebador puede no unirse en el

proceso de genotipado al realizar la RT-PCR. La mayoría de los estudios no caracterizan la secuencia genética de las cepas no tipificables. Por tanto, no podemos saber si son genotipos comunes con mínimas mutaciones que impiden su tipificación o se trata de cepas inusuales (24,69,80). Con los genotipos indeterminados y las cepas parcialmente tipificadas ocurre el mismo fenómeno que con los genotipos mixtos. Los estudios y revisiones de Sudamérica, Asia y África informan de mayores porcentajes y rangos de no tipificación o genotipado parcial (10,19,86,88) que los trabajos publicados con datos de Europa, Estados Unidos o Australia (22,74,81,86). Como referencia en Europa, Forster y cols. (81) informaron de un 0,6% de cepas no tipificadas, y una revisión de Oriente Medio y África realizada por Khoury y cols. (19) reportó rangos de 5-20%. En España se han comunicado porcentajes de 9,2% cepas indeterminadas (73), 5,8% de GIND y 9,4% de PIND (74). Los porcentajes aportados por las cepas de los RV de los casos reclutados en Gran Canaria son 16,5% de cepas indeterminadas, 20,9% de cepas parcialmente tipificadas y 18,3% y 35,2% de GIND y PIND respectivamente. Estos valores están más en consonancia con los reportados por los estudios con datos africanos, asiáticos y latinoamericanos.

El elevado aislamiento de cepas indeterminadas junto con la presencia de un patrón de cepas diferente al español, incluyendo en los años estudiados el predominio de G2P[6] predominante en África; hace que surja la hipótesis de que las cepas y tendencias en Gran Canaria se correspondan más por cercanía geográfica a África que a los países desarrollados al que pertenece nuestro modelo de sociedad. En África, Asia y Latinoamérica se dan la mayor cantidad de cepas mixtas e indeterminadas y es donde además, las cepas aisladas guardan menos similitud con los genotipos mayoritarios circulantes en el mundo y con los incluidos en las vacunas. Esto plantea la importancia de la vigilancia de sus cepas, ya que son zonas fuente de posibles cepas emergentes (26). El origen de cepas emergentes se ha vinculado a la posibilidad de recombinación con cepas animales (16,18,19,24,111). G5, G8 y P[6] son ejemplos de este tipo de cepas (24). En Sudamérica y en África son genotipos habituales y si se expandieran y llegaran a ser predominantes pondrían a prueba la capacidad de las vacunas, haciendo que dependa de su capacidad de protección heterotípica su eficacia (16, 24, 69). Según la cepas aisladas en nuestra muestra, todos los genotipos identificados excepto G9, P[4] y P[6] están representados en la vacuna disponible en España, aunque estas cepas

obtendrían protección parcial al estar combinadas con P[8] y G2 respectivamente. Sin embargo, si tenemos en cuenta la totalidad de los genotipos G y P aislados, incluyendo los indeterminados, la homología de la muestra de Gran Canaria con los genotipos incluidos en las vacunas es del 63,6%. Si no se tiene en cuenta los indeterminados, la homología asciende al 86,7%. Se ha sugerido la participación de la inmigración en el fenómeno de fluctuación y extensión de las cepas entre continentes y países. El estudio VIGESS-net detectó el primer G8 en España en 2007 (74). En Canarias estamos influenciados por la inmigración con vínculos importantes con Sudamérica, África y Europa, por lo que es una zona en la que el patrón de cepas puede tener que ver con estos 3 continentes. En Gran Canaria no se detectó ningún G5 ni G8, pero sí predominó P[6]. Para confirmar estas afirmaciones serían necesarios estudios más largos.

Rotavirus y edad

Los rotavirus guardan una relación directa con la edad; se estima que el 95 % de los niños menores de 5 años habrán sido infectados por RV (23,122), relacionado con la inmunidad que confieren las infecciones sucesivas (20). La mayoría de las publicaciones establecen que aproximadamente el 80% de los pacientes hospitalizados son menores de 2-3 años y sobretodo concentrados en el rango entre los 6 y 24 meses (13,22,43,48,64,81,84,86,111,122,123). La concentración de los sujetos en esta franja de edad podría explicarse por la protección de los anticuerpos maternos en el caso de lactancia materna en los primeros meses de vida y el desarrollo de la inmunidad natural después de sucesivas infecciones (64). En los niños hospitalizados en Gran Canaria, el 81,3% de los RV aislados y el 83,7% de los casos en los que fue el único germen detectado estaban en los menores de 24 meses. Además, en este grupo de edad RV apareció en el 58,5% siendo el más frecuente. En los menores de 6 meses fue el segundo germen en frecuencia de aislamiento y el tercero de los que se detectaron en monoinfección.

No se ha podido determinar si existe alguna relación entre los genotipos de RV y la edad (37,111). En Bélgica y Alemania en la época prevacunal el estudio REVEAL detectó que todos los afectados por G3 correspondían a menores de 24 meses, hecho

que no se dio en el resto de los países evaluados. En nuestros datos G2, P[6] y P[8] estuvieron de forma significativa más presentes en el grupo de 6-24 meses. Las cepas más aisladas de nuestro estudio G1P[8] y G2P[6] también fueron más frecuentes en este grupo de edad. Este hallazgo es consistente con que en este grupo etario RV concentra la mayoría de sus casos en niños hospitalizados (13,22,43,48,64,81,84,86,111,122,123).

NOROVIRUS

El norovirus fue el segundo germen más aislado de la muestra en 23,9% (74/309). Estuvo presente en el 36,3% de los individuos, 12,3% como agente único y 24% en coinfección con otro patógeno, apareciendo asociado a otros virus de forma exclusiva en el 2,9%. Además, se aisló en más de la mitad de las coinfecciones (55,7%).

El papel de los NV como agente productor de GEA esporádica ha ido ganando importancia con el paso de los años. En relación a la disponibilidad de la vacuna frente a rotavirus, los estudios que informan sobre los NV como productor de casos esporádicos han aumentado. Probablemente su papel ha sido subestimado en la GEA esporádica por su vinculación tradicional a los brotes alimentarios y por la poca disponibilidad de medios diagnósticos en los laboratorios habituales.

En Europa, Podkolzin y cols. en Rusia y Medici y cols. en Italia informaron de porcentajes similares entorno al 10-12% de NV en niños hospitalizados (89,124). En el sur de Italia se ha comunicado la cifra más elevada hasta ahora 48,4%, mayor que RV (125). En España en la época prevacunal se encuentran cifras que coinciden en su porcentaje de aislamiento (12,5%) (18) con nuestro porcentaje de NV como agente etiológico único. Junquera y cols. (71) en España publicó, coetáneamente a este trabajo, porcentajes de aislamiento total del 17,3 %; 8,2% como agente único y 9,1% en coinfección. Estas cifras son inferiores a las de Gran Canaria.

En Tailandia Khamrin y cols. (126) en 2007 y en Brasil Victoria y cols. (27) en 2004, refieren un 14,1% y un 20% de NV aislados respectivamente. Este último similar al porcentaje de NV aislados en Gran Canaria.

A nivel mundial la media de detección es del 12% (54). Se observa que la importancia del NV es similar en los países desarrollados que en los menos desarrollados, con porcentajes estimados entre 4-40% y 3-25%. Estos porcentajes para ambos son mayores en los niños hospitalizados que en los pacientes ambulatorios (21,34).

La detección de NV en los niños ingresados por GEA no se realiza de forma rutinaria en nuestro hospital ni en muchos otros. Por tanto, muchos casos pueden ser dados como negativos y ser ocasionados por NV. Román y cols. (127) en España detectaron NV en el 31% de las muestras negativas para otros patógenos. El porcentaje de negativos en nuestro estudio es del 4,4% aplicando técnicas de biología molecular con mayor sensibilidad que las técnicas de detección de antígeno. Además, se ha realizado una búsqueda sistemática de los posibles gérmenes implicados, aunque se encuentre un agente causal, también se realizó la técnica para el resto. Si se hubiera aplicado la práctica habitual el porcentaje de resultados negativos hubiera sido mayor (26,5%), aunque este sigue siendo menor que el 40-50% de negativos estimado en la bibliografía (3)

En cuanto a la edad, los NV detectados se distribuyeron uniformemente en los grupos etarios. Si sólo se tiene en cuenta los aislamientos, la mitad de los niños mayores de 24 meses ingresados presentaron NV. En cambio, si se analizan los casos en los que se detectó como único agente etiológico fue el germen más frecuente en los menores de 6 meses, mientras que en los mayores de 24 meses sólo apareció en 5 pacientes. Probablemente tenga relación con sus coinfecciones, ya que NV se presentó más asociado a otros gérmenes que en solitario, siendo su coinfección más frecuente y la de la muestra NV-*Salmonella*. Además tanto las bacterias como las coinfecciones son más frecuentes en los mayores de 24 meses.

Poca información existe sobre la distribución por edad de los NV. Victoria y cols. en niños hospitalizados en Brasil publicaron que los NV fueron más frecuentes en los menores de 2 años (27) al igual que en Gran Canaria con el 62,2% de los aislamientos, estando en monoinfección en un 80%.

ASTROVIRUS

Los astrovirus parecen tener un papel menos importante en la etiología de la GEA en los niños hospitalizados que el de los RV y NV (34). En nuestro estudio fue el tercer virus en frecuencia tras RV y NV. Se detectó en el 5,8% de los aislamientos y en el 8,8% de los pacientes, de los que el 7,8% fue en coinfección y 1% como agente causal único.

La cifra del 8,8 % se asemeja a lo reflejado en la bibliografía, donde los porcentajes en diversas revisiones mundiales se sitúan en rangos entre el 2 y el 13% (13,21,36). En España el papel de los ASTV también es similar a nuestros datos. Guix y cols. en una recopilación multicéntrica en Barcelona reportó un 4,9% de los casos (128). El estudio VIGESS-net (74) recoge un 1,4% como aislamiento único, similar al 1% de nuestros casos. Junquera y cols. (71), reportó un 0,6% de los aislamientos, inferior a nuestro 5,8%. Sánchez-Fauquier y cols. (73) publicaron el porcentaje de casos con ASTV más aproximado al nuestro con 7,3% .

Los ASTV detectados fueron más frecuentes en los menores de 6 meses, al contrario que De Benedictis y cols. (36) que refirieron que es más frecuente en mayores de 2 años. Los pocos ASTV detectados no permiten realizar más aseveraciones.

ADENOVIRUS

Adenovirus fue el virus menos frecuente de los niños hospitalizados en Gran Canaria. Estuvo presente en el 4,9% de ellos, 2% como agente único y 2,9% en coinfección.

Dado que su papel es similar al del ASTV, con poco peso en comparación con RV y NV (34) los trabajos que estudian específicamente al ADV y su participación en la etiología de la GEA son escasos. Los porcentajes publicados son similares a los obtenidos a partir de nuestros datos. Farkas y cols. (129) en EEUU refirieron un rango 1-20%. En Italia Valentini y cols. (130) y en Alemania Wiegering y cols.(59) detectaron frecuencias similares de 11,2 % y 9,7% respectivamente. Una revisión publicada en 2009 en países en desarrollo realizada por Ramani y cols. reportó 6,3% (21). En España

se dan porcentajes entre 1-9% (13,18,73,71). El estudio VIGESS-net (74) detectó un 1,9% de los casos con ADV y Junquera y cols. (71) 1,4%, ambos similares entre sí y algo inferiores al nuestro. Un estudio francés llevado a cabo por Tran y cols. comunicó un porcentaje del 12% de etiología única (116).

En cuanto a la relación con la edad, no se dio ningún ADV en mayores de 2 años.

COINFECCIONES

La coinfección fue el grupo más numeroso, representando el 43,1%. Fue más numeroso que el grupo de RV como agente único causal. Es un grupo heterogéneo donde se hallaron combinaciones víricas puras, virus con bacterias y a su vez dobles, triples e incluso cuádruples infecciones en un mismo niño. La modalidad más frecuente fue virus con bacteria que se encontró en el 34,3% de los sujetos y en el 79,5% de las coinfecciones. La coinfección vírica pura se dio en 8,8 % de los pacientes y en el 20,5% de las coinfecciones.

Pocos estudios mencionan las bacterias participando en las coinfecciones. Valentini y cols. (130) en Italia notificaron un porcentaje de coinfección del 17,9%, bastante inferior al de Gran Canaria. Su coinfección más frecuente fue RV-*Clostridium difficile*. Por el contrario, la encontrada en nuestros datos fue NV-*Salmonella*. En España Junquera y cols. (71) publicó una frecuencia de coinfección similar a este estudio italiano 17,6% y Román y cols. un 5% (131) siendo su coinfección más frecuente virus-virus que virus bacteria. Si eliminamos las bacterias del análisis, el 8,8% de coinfecciones víricas puras detectadas en nuestros niños se asemeja más a lo publicado en la bibliografía en referencia a las coinfecciones víricas. Una revisión a nivel mundial (54) y otra en países en desarrollo (21) establecen rangos de coinfecciones entre 0-24% y 2-19% respectivamente. A nivel europeo, los rangos comunicados van de 4,4 al 29% usando diferentes técnicas diagnósticas (116,130). En España, García-Magán y cols. reportan un 13,7% (72). El papel de las bacterias como agente único en los niños hospitalizados por GEA de nuestra casuística fue importante, siendo el tercer grupo en frecuencia. Por tanto, las bacterias cuando se manifiesten en coinfección deberían ser consideradas, ya que al no existir controles sanos pueden

participar en parte de la sintomatología o ser el responsable principal de la GEA y los otros gérmenes que la acompañen sean fruto de infecciones asintomáticas.

RV se presentó en coinfección en el 20,6% de los pacientes, estando asociado exclusivamente a virus en el 8,3%. Este porcentaje es mayor que el encontrado en otros estudios españoles que oscilan entre el 3,5% (73) y el 6,2% de sus casos (74) y europeos con el 3,3% (116). En Colombia, Ospino y cols. (10) encontraron un rango de 8,5-21% y un trabajo en Rusia (89) el 10,3% de los niños hospitalizados tenían RV en coinfección. En Gran Canaria, su asociación más frecuente fue con *Salmonella*. El virus con el que más se asoció fue ASTV en 13 ocasiones, de las que 10 fueron víricas puras y 8 exclusivamente ellos dos. Esta asociación también ha sido encontrada como la más frecuente en España (73) y en Italia (132).

Los ASTV se encuentran a menudo en coinfección (36,133). En los datos de Gran Canaria, el porcentaje de niños en los que se detectó ASTV en coinfección fue de 7,8%. Sólo se aisló en 2 casos como agente único, de modo que de los 18 ASTV detectados el 88,9% estuvo en coinfección. Estas cifras de frecuencia tan elevadas de dicho germen son mayores que otras publicadas. En España se han reportado hasta 17,2% de las muestras positivas a astrovirus en coinfección (128). Una revisión publicada en 2011, estima un rango del 35-65% de astrovirus que pueden estar en coinfección (36) y otro estudio realizado por Román y cols. detectó que ASTV estuvo en el 59% de las coinfecciones (131), similar al 50% de De Grazia y cols. en Italia (132). Nosotros lo detectamos en el 18,2% de los casos en coinfección.

NV apareció en coinfección en el 24% de los niños. De los 74 NV aislados, el 66,2% estuvieron en coinfección, porcentaje algo superior al obtenido en otros estudios entorno al 50% (34,71). El virus al que más se suele encontrar asociado el NV es RV (34,74,71,116), hecho que también ocurre en nuestros casos (2%). El estudio VIGESS-net (74) reporta 4,5% de casos con la asociación NV-RV y un estudio polaco de similares características realizado por Oldak y cols.(134) un 2,5% presentan esta asociación. Sin embargo, la asociación más frecuente en los niños ingresados en Gran Canaria fue con bacterias y de ellas con *Salmonella* de forma exclusiva en 27 pacientes (13,2%).

Los ADV se presentaron en coinfección en 2,9% de los sujetos. Todas sus coinfecciones fueron víricas puras, estando asociado a RV en 50% de sus aislamientos. Los datos referentes a coinfecciones de ADV son poco mencionados. El estudio VIGESS-net (74) sólo informa de 0,7% de casos con coinfecciones en las que esté ADV y fueron exclusivamente con NV. Otro estudio español lo encuentra en el 0,8% acompañando a otros gérmenes (73). En Albania La Rosa y cols. (135) lo encuentran presente con RV en el 27,3% de sus aislamientos.

La elevada presencia de coinfecciones en nuestra muestra en comparación con los porcentajes aislados en la bibliografía es llamativa. Hay que tener en cuenta que la capacidad de obtener un diagnóstico etiológico en un niño con diarrea es altamente dependiente de la calidad de la muestra de heces, la experiencia y habilidad del microbiólogo y recursos disponibles para la evaluación de las heces (57). En nuestra investigación se cumplieron todas estas premisas con una recolección temprana, una adecuada conservación y analizadas en el centros de referencia local y nacional.

Una justificación podría deberse a que se ha realizado una búsqueda sistemática de todos los gérmenes en todas las muestras empleando además métodos moleculares de mayor sensibilidad que los utilizados de forma rutinaria. Sin embargo, aunque los estudios publicados son muy heterogéneos en cuanto a la técnica diagnóstica utilizada, la mayoría de las revisiones y series importantes utilizan estas técnicas y reportan cifras menores.

Ante una coinfección, se plantea la incertidumbre de cuál es el verdadero agente causal, o si todos los gérmenes aislados contribuyen a la sintomatología (89). En nuestro trabajo no hay controles y todos los pacientes tenían diarrea. Ante esta situación tenemos que asumir que todos son agentes causales, pero se pueden dar circunstancias como la eliminación asintomática de gérmenes que hayan producido un episodio de GEA previo al tiempo aplicado como criterio de exclusión y que ingresen por un episodio nuevo ocasionado por otro patógeno (27). Está descrita la eliminación prolongada de virus y no siempre en pacientes inmunodeprimidos (3,16,34,37,53). Un ejemplo de lo expuesto es la eliminación de RV en las heces de niños hasta 9 días tras ser vacunados (20). Se necesitaría un estudio con controles sanos para aplicar las mismas técnicas diagnósticas que a los niños con diarrea. Así se podría obtener más

información del papel de las coinfecciones y de cada germen (44). En este sentido existen referencias que han detectado patógenos en pacientes asintomáticos hospitalizados y ambulatorios, detectándose también coinfecciones en este grupo, pero en menor número que en los niños con diarrea (13,16,57,133,136). Román-Riechmann y cols. (136) en España detectaron un 7% de controles con eliminación de RV en las heces en niños hospitalizados.

ANÁLISIS DE LA GRAVEDAD

En la bibliografía se utilizan diferentes criterios para evaluar la gravedad de la GEA. En este trabajo se aplicó la escala de severidad de Vesikari. Esta puntuación se correlaciona con el grado de deshidratación, y es una herramienta confiable para la evaluación de la gravedad global de GEA (137). Su uso está ampliamente extendido.

El grupo RV como agente único causal, en los niños hospitalizados en Gran Canaria presentó la mediana de puntuación más elevada y la mayor proporción de casos severos. La diferencia con el resto de grupos fue significativa, consistente con lo publicado ampliamente en la literatura científica. Diversos estudios de impacto comparan la gravedad de la GEA por RV frente a las GEA no RV, obteniendo que la GEA por RV presenta mayor proporción de severidad según la escala de Vesikari o comparando el porcentaje de RV en niños hospitalizados con los ambulatorios (19,22,23,71,81). Una revisión sudamericana realizada por Kane y cols. (84) publicó un porcentaje de aislamiento de RV similar en pacientes ingresados que extrahospitalarios, hecho que es poco frecuentemente reportado. Giménez y cols. (50) en España (2009) de forma retrospectiva utiliza la escala de severidad de Clark, al igual que Kouko y cols.(111) en Grecia con los mismos resultados. Otros estudios hacen mención al resto de virus, principalmente NV, con resultados en la misma línea. La GEA por RV es más severa que la producida por NV (59,71,72). Con ASTV y ADV se encuentran pocos datos dado el poco impacto de estos gérmenes. Wiegering y cols. (59) en Alemania hace referencia a que la GEA por ADV es menos severa que la producida por RV.

La deshidratación es otra forma de evaluar la gravedad de un proceso diarreico y muchos trabajos la utilizan para determinar la severidad de la GEA, aunque esté

incluida en los ítems que forman la escala de Vesikari. Los casos RV positivo presentan mayor porcentaje de deshidratación en niños hospitalizados que el resto de gérmenes en todo el mundo (19,22,43,50,72,81,82,138). En nuestros niños, en el grupo de pacientes con RV como único agente etiológico, el 42,9% tuvo deshidratación con diferencias significativas tanto con NV, bacterias y coinfecciones, coincidiendo con lo publicado. Rivero y cols. (139) en la provincia de Santa Cruz de Tenerife reportaron un 80% de deshidratación en los niños hospitalizados por GEA causada por RV.

Algunos trabajos han intentado evaluar si existe relación entre la severidad y los genotipos de RV. El estudio REVEAL no encontró diferencias entre las frecuencias de los genotipos de los niños hospitalizados y los ambulatorios (25), al igual que un estudio griego (111) que tampoco encontró diferencias entre cepas en cuanto a la tasa de hospitalización ni la gravedad entre genotipos. El grupo de vigilancia Eurorotnet y Cascio y cols. en Italia publicaron mayor proporción de hospitalización y casos más severos para la cepas G2P[4] (110,140). En cuanto a G9, Iturriza-Gómara y cols. (141) en el Reino Unido encontraron más severidad en los casos G9 positivo frente al resto de cepas, en cambio, Clark y cols.(142) en Estados Unidos y Arista y cols. (143) en Italia no observaron diferencias al evaluar un brote de G9 con el resto de genotipos. La importancia de evaluar los genotipos en relación con la gravedad radica en la posibilidad de que aumenten los casos severos y las hospitalizaciones por cepas que eran poco frecuentes y la población no tenga una inmunidad suficiente frente a ellas o las vacunas no confieran protección frente a estas cepas. Al dividir nuestra muestra en grupos de niños con GEA moderada o severa, se encontró que G1, P[6] y P[8] estaban más presentes en los casos severos que en los moderados con diferencias significativas. Para verificar y complementar estos hallazgos, se debería hacer un estudio en Gran Canaria en pacientes ambulatorios con RV y ver como se distribuyen las cepas en ambas poblaciones.

Tradicionalmente, a la GEA por NV se le ha atribuido menor gravedad que a la producida por RV (54). Sin embargo, hay estudios que apoyan que la tendencia puede cambiar, especialmente en pacientes hospitalizados (54). Los NV también se han encontrado en mayor proporción en niños hospitalizados que en no hospitalizados siendo utilizado como criterio de gravedad en algunos trabajos (21,34). Uno de los

efectos atribuidos a la vacuna frente a RV es el de reducir los casos graves y por tanto las hospitalizaciones por lo que su importancia relativa podría cambiar. NV fue el segundo germen más detectado en Gran Canaria tras RV. Al no tener datos previos o posteriores a los nuestros ni estudios ambulatorios, no podemos analizar esta posible tendencia a aumentar la importancia de NV, que sí parece tener un papel importante. Sin embargo, si analizamos los casos de RV y NV en los que estaban como único agente causal, la GEA por NV fue menos severa que la GEA por RV, bacterias y coinfecciones.

En Gran Canaria se dio un porcentaje elevado de coinfecciones, algunas de ellas por 3 y 4 patógenos a la vez que pudiera llevar a pensar que la participación de varios gérmenes en la etiología se relacione con una mayor severidad. Sin embargo, esto no se observó. Al analizar los casos con coinfecciones globalmente frente a los RV, NV, y bacterias como agente único, las coinfecciones mostraron similar severidad que bacterias, menor que RV y mayor que NV según la escala de Vesikari; todas estas diferencias fueron estadísticamente significativas. La heterogeneidad del grupo de coinfecciones hace que la comparación estadística con la monoinfección sea compleja porque la mayoría de los grupos de la infección mixta son pequeños (130). Un estudio francés (116) y otro italiano (130) publicaron mayor gravedad en la coinfección que en la monoinfección; sin embargo, Victoria y cols. (27) en Brasil no pudo sacar conclusiones en este sentido.

Otros trabajos compararon los casos de un determinado agente detectado como único agente etiológico con sus tipos de coinfecciones. Colomba y cols. en Italia (125) reportaron que la asociación NV-RV fue más severa que el NV como agente único, en cambio Junquera y cols. en España no encuentran esa diferencia (71). Wiegering y cols. (59) en Alemania no detectaron diferencias en la gravedad de las coinfecciones víricas con respecto a las monoinfecciones de NV y ADV. En Gran Canaria, al comparar la puntuación en la escala de severidad obtenida por los gérmenes detectados como agente único con respecto a sus casos en coinfección, se observó que RV es más severo en los casos de aislamiento único con respecto a sus coinfecciones. En cambio, cuando NV se detectó en compañía de otros gérmenes fue más severo que cuando estuvo solo. El caso de los RV puede explicarse porque P[6] y P[8], genotipos en nuestra muestra asociados

a severidad, están más presentes en los RV que se detectaron en monoinfección. En nuestra regresión lineal multivariante la presencia de P[8] incrementa en 1,128 el valor esperado de la gravedad.

Cualquier virus puede producir una infección asintomática (57) y que se detecte en una muestra no quiere decir que sea el agente causal de la misma (4). Para poder determinar la contribución de cada germen a los síntomas, es necesario realizar análisis posteriores que incluyan controles sanos. O’Ryan y cols. (57) evaluaron la fracción atribuible de la sintomatología diarreica en niños con controles sanos, determinando que los que presentaron RV o ADV eran sintomáticos en la mayoría de las ocasiones, atribuyéndoles la causalidad del cuadro, y siendo RV el que obtuvo una mayor fracción. No hubo virus entre los gérmenes más detectados en los controles. Platts-Mills y cols. (133) estudiaron las coinfecciones con controles sanos, detectando un mayor número de patógenos en deposiciones diarreicas que en las heces no diarreicas. La presencia de patógenos se asoció con la diarrea, de modo que cada patógeno adicional aumenta las probabilidades de tener síntomas. En este estudio, el efecto de la vacuna frente a rotavirus fue evidente, ya que el rotavirus tuvo la mayor fracción atribuible en sitios sin vacunación y ocupó la quinta posición en los sitios con la vacunación contra el rotavirus.

Todo lo expuesto sugiere que debe investigarse más a menudo la presencia de más de un agente causal (116,130).

La edad es otra variable que se relaciona con la severidad. La mayoría de los casos moderados y severos se dan en lactantes y niños pequeños (57) especialmente para el RV (50). En nuestra muestra se dio la circunstancia a priori paradójica, de que los niños ingresados presentaron puntuaciones en la escala de gravedad más altas cuanto más edad tenían, con diferencias significativas entre los grupos de 6-24 meses y mayores de 24 meses respecto al de menores de 6 meses. Los grupos de edad de 6 a 24 meses y mayores de 24 meses tuvieron más casos severos que moderados, al contrario que el grupo de menores de 6 meses. La edad es un parámetro a tener en cuenta al evaluar a un niño con GEA. La repercusión que pueda tener un cuadro de la misma severidad en un paciente menor de 6 meses o en un niño de 4 años es potencialmente mayor en el primero, ya que es más sensible y propenso a la deshidratación. Por tanto,

sólo el hecho de tener pocos meses, puede hacer que el médico decida ingresar un paciente teniendo menos deposiciones, vómitos o no estando deshidratado. En cambio, para ingresar un niño mayor el cuadro debe ser más importante con abundantes deposiciones, vómitos y con signos de deshidratación. Por este motivo los pacientes de más edad puedan tener puntuaciones más altas en la escala de Vesikari que evalúa precisamente el número y la duración de las diarreas y los vómitos junto con el grado de fiebre y deshidratación, pero no tiene en cuenta la edad. La práctica hospitalaria varía en gran medida entre las instituciones en las comunidades desarrolladas, y muchos niños que no están gravemente deshidratados están ingresados en el hospital (1); sin embargo, sus puntuaciones en los scores de severidad pueden hacer que los cuadros de cataloguen como graves. En la práctica diaria del Servicio de Urgencias Pediátricas del CHUIMIC no se utiliza la escala de Vesikari de forma rutinaria, pero si se aplicara, el resultado sería lo expuesto.

Otra posibilidad para explicar este fenómeno es la distribución de los gérmenes en los grupos de edad. RV fue el patógeno más presente en los niños del grupo de edad de 6-24 meses seguido de *Salmonella*. En el grupo de mayores de 24 meses *Salmonella* fue el germen más frecuente seguido de RV. Ambas situaciones se dieron como agentes únicos y teniendo en cuenta los aislamientos totales. Los casos en los que se encontraron estos gérmenes como único agente etiológico fueron los que tuvieron mayor proporción de GEA severa. El virus más frecuente en el grupo de menos de 6 meses fue NV, que a su vez presentó más cuadros de GEA moderada. Las coinfecciones se repartieron en todos los grupos de forma parecida por lo que su porcentaje de casos severos se distribuyeron de forma equitativa en los tres grupos etarios.

ANÁLISIS DE LA ESTACIONALIDAD

Los gérmenes aislados se distribuyeron a lo largo de los meses del estudio, pero hubo un predominio diferente de cada uno de ellos según la estación.

El marcado papel estacional del RV es un hecho constatado. Suele manifestarse entre los meses de octubre a mayo, con su máxima incidencia en invierno en la mayoría de los países de clima templado (13,19,20,23,25,43,64,73,110,111,116). Tanto en

Europa como en Estados Unidos, sigue un patrón de aparición de sur a norte y de este a oeste (20,98,144). Según la red de vigilancia Eurotanet, desde 2006 el mes de máxima incidencia en Europa suele ser marzo y los picos más precoces cada año se produjeron en España (98). Picos tempranos también se observan en Italia (81) y repuntes más tardíos suelen corresponder a los países Escandinavos (22,64).

En Gran Canaria también se observó este patrón estacional. En la primera temporada del estudio el predominio fue en primavera, con un primer pico en mayo de 2007 y un pico mayor en marzo de 2008 que coincidió con el pico máximo en Europa (98). En la segunda temporada los casos se concentraron en otoño e invierno, con un pico más precoz que en la temporada anterior, en octubre de 2008. Posteriormente hubo un ligero descenso y se mantuvo estable hasta caer en marzo de 2009. En el estudio VIGESS-net los picos de RV en España en esos años se concentraron entre noviembre y marzo (74).

Se dio la circunstancia de que en la primera temporada el pico de RV se produjo por casos en los que se encontraba como agente único y en la segunda el pico de octubre se presentó en coinfección principalmente con ASTV.

En los países tropicales la estacionalidad del RV es menos marcada (20,80,83). El predominio de los RV también se ha relacionado con la climatología y la latitud. En países tropicales situados 10° al norte o sur con respecto del ecuador no se observó ningún patrón estacional (145). En los países donde la temperatura es más estable durante el año no existen picos definidos, pero los RV son más frecuentes en los meses secos (19,52,68,80). En Australia D'Souza y cols. (146) y Levy y cols. (147) comprobaron que con un aumento de temperatura o de precipitaciones disminuían las admisiones diarreicas. Un estudio sudamericano publicado por Kane y cols. (84) no encontró diferencias entre localizaciones 23,5° entorno al ecuador con áreas templadas, teniendo todas las zonas estacionalidad marcada por los meses de invierno aunque con casos durante todo el año. Sin embargo, estudios asiáticos realizados por Kawai y cols. (80) y Brezee y cols. (83) sí observaron que en las zonas cercanas al ecuador y trópicos los casos de RV eran más uniformes que en los países septentrionales. En base a estos hallazgos se ha sugerido que se podría establecer un modelo que pueda predecir los picos de RV en función de la climatología (52).

En Canarias tenemos un clima subtropical con una oscilación térmica pequeña a lo largo del año. Nuestro patrón estacional se asemeja más, según nuestros datos, al europeo en cuanto a los picos observados, pero también al tropical ya que se detectan casos durante todo el año aunque en menor medida. Este fenómeno también lo presentó Bulgaria puesto de manifiesto en una revisión en países de Europa Central y del Este publicada en 2011 por Ogilvie y cols. (23).

En cuanto a las cepas no se pudo establecer un patrón salvo que las cepas más frecuentes de cada temporada predominaron en los meses en que la incidencia fue mayor coincidiendo con los picos. Destacar que G2P[8] sólo se detectó entre mayo y julio de 2008, fuera del periodo habitual del RV.

El patrón estacional del NV está menos definido con diversidad de resultados. Se han encontrado predominios en otoño (27,73,116) verano (148), primavera (73) e invierno (71). Una publicación ha sugerido que hay cepas de NV que siguen un comportamiento secuencial similar al del virus de la gripe (3). En nuestro estudio la detección de NV predominó en los meses de invierno y verano. Sin embargo, en monoinfección predominó durante todo el año con aumento en invierno. Sus coinfecciones fueron responsables de los picos veraniegos asociados a *Salmonella* que fue su coinfección más frecuente y a la vez la más detectada del estudio. En este sentido, el papel clásico de los NV y su vinculación con brotes alimentarios al igual que *Salmonella* pudo hacer que se asociaran y fuera en verano, donde la enteritis bacteriana es más frecuente. El estudio español de Junquera y cols. (71) publicó una situación similar pero con la asociación NV-RV que predominó en invierno y en cambio, los casos de NV como único agente de la GEA se detectaron todo el año. Una vez más no se puede discernir cuál de los dos patógenos es el responsable del cuadro, pero sí parece ser que el NV se ve arrastrado por la estacionalidad más marcada de los gérmenes con los que se asocia, en estos casos verano para *Salmonella* e invierno para RV. Tran y cols. (116) en Francia detectaron un mayor número de coinfecciones en otoño, donde también se encontró más NV.

Los ASTV pueden detectarse todo el año, aunque con un cierto predominio invernal (36). En los niños hospitalizados de este trabajo los ASTV se concentraron en

otoño del 2008, con un pico en octubre asociado a coinfección con RV. Como único patógeno sólo se produjeron 2 casos que fueron también en ese mes.

Los ADV se detectan también durante todo el año con cierto predominio invernal (17,116). En nuestra investigación se comportó similar al ASTV concentrándose en octubre del 2008.

DIFERENCIAS CLÍNICAS

Todos los niños incluidos en nuestra muestra pudieron presentar cualquiera de los síntomas evaluados: fiebre, vómitos o presencia de moco y/o sangre en las heces. Por tanto, no podemos servirnos de estos síntomas para saber la etiología certera de la diarrea. Sin embargo, los síntomas son más frecuentes en unos gérmenes que en otros y nos permite sospechar si el mecanismo de producción de la GEA es citopático o enteroinvasivo y poder aproximarnos a una casusa vírica o bacteriana (57). Heces acuosas sin sangre suelen indicar un mecanismo citopático o secretor y la presencia de sangre un mecanismo enteroinvasivo. La mucosidad en las heces está presenta en ambos casos, pero predomina más en las diarreas enteroinvasivas (57).

El grupo de niños afectados por RV presentó una mayor proporción de vómitos de forma significativa con respecto al resto de gérmenes, cuya frecuencia de vómitos fue similar entre ellos. También presentaron más fiebre que el resto de patógenos seguido de *Salmonella*. NV fue el agente que menos se asoció a fiebre. En cuanto a las características de las heces, las bacterias tuvieron mayoritariamente sangre con respecto a los virus, pero destaca que NV tuvo un 40% de casos con sangre en su heces por el 12,2% de RV. El moco en las heces fue más frecuente en las bacterias con respecto a los virus, pero con menor diferencia que la sangre. Diversos estudios están en consonancia con lo encontrado en el nuestro (43,50,59,71,81,111,149,150). Wiegering y cols. (59) en Alemania encontraron que NV tiene significativamente mayor proporción de vómitos que el resto de virus al contrario que en Gran Canaria que lo fue RV.

OTROS PARÁMETROS

Los factores epidemiológicos evaluados fueron la asistencia a la guardería, el contacto con personas con diarrea o con estancia en el extranjero y haber recibido alguna dosis de vacuna frente al RV. A pesar de no haber diferencias significativas, el grupo de casos producidos por RV como agente único, tuvo el mayor porcentaje de contactos con diarrea (38,8%), el 30,6% de los 62 niños que tuvieron contacto con individuos con GEA en la muestra. Este resultado es similar al obtenido por Gimenez-Sanchez y cols. en España en 2006 con un 29% de contactos (50).

Sólo el 4,4% de los niños estaba vacunado frente al rotavirus (9/204). Las coberturas vacunales de la provincia de las Palmas en esos años fueron 11% en 2007, 35% en 2008 y 45% en 2009. En el grupo de casos RV sólo hubo un sujeto con vacuna. Estos datos podrían ser reflejo de que los niños vacunados no ingresan.

No se pudo establecer una relación entre los grupos sanguíneos y los NV como se ha postulado (21).

En cuanto al tiempo de ingreso los datos publicados son heterogéneos. Existen artículos en los que los mayores tiempos de ingreso corresponden a RV (111) y otros sin diferencias entre patógenos (50,71,81). También se compara el tiempo de ingreso global de la GEA por RV entre países con resultados variables. La mayoría refieren un rango de 3 a 9 días y una media o mediana entre los 4-6 días (23,48,50,67,81,87). El estudio REVEAL reportó un rango más bajo, entre 2,5 días en Suecia y 5 días en Alemania (82). En estos datos probablemente tenga mucho que ver la práctica clínica interhospitalaria y la estructura de los sistemas sanitarios.

En nuestra serie la mediana de días de ingreso en global fue 5 días (4-7). Si comparamos por casos, los de etiología bacteriana (5-8,5 días) y las coinfecciones (4,5-8 días) presentaron un rango intercuartílico mayor que la GEA por NV (3-6 días) y RV (4-6 días). Las medianas fueron parecidas entre los distintos grupos, siendo las mayores las bacterias con 5,5 días y las coinfecciones, 6 días. Si bien no parece mucho, si lo evaluamos en términos económicos sí es importante, no sólo por lo que cuesta cada día de hospitalización, sino por la repercusión en la sociedad con días de trabajo de los padres perdidos etc...

No hubo ningún fallecimiento en nuestros pacientes correspondiéndose con los datos europeos donde las cifras de mortalidad son prácticamente inexistentes en comparación con países no desarrollados (19,48,151). Los pocos fallecidos que se reportan en Europa corresponden a países de menor nivel económico (23,66).

CONCLUSIONES

7. CONCLUSIONES

- El rotavirus fue el patógeno más frecuente en los niños menores de 5 años ingresados por gastroenteritis en Gran Canaria.
- El norovirus fue el segundo germen aislado. Tuvo un papel importante en las coinfecciones, asociado a *Salmonella* principalmente. Este virus no se detecta de manera rutinaria en los casos esporádicos de gastroenteritis en niños. Este hecho puede afectar al porcentaje de casos negativos.
- Las coinfecciones fueron más numerosas que las gastroenteritis producidas por un único agente etiológico.
- G1P[8] fue la cepa de rotavirus circulante más detectada en Gran Canaria, como ocurre en la gran mayoría de los estudios publicados.
- G2P[6] fue la segunda cepa en importancia. Hubo un alto número de rotavirus indeterminados o parcialmente tipificados. Este patrón de cepas tiene mayor similitud con el continente africano que con España o Europa.
- El papel de los astrovirus y los adenovirus fue poco relevante ocupando el 5º y 6º lugar en aislamientos tras rotavirus, norovirus, *Salmonella* y *Campylobacter*.
- Rotavirus tuvo un claro patrón estacional con picos en otoño y primavera.

- Norovirus se distribuyó a lo largo del año, pero con picos en verano principalmente en coinfección con bacterias.
- La presencia de rotavirus, el genotipo P[8] y la mayor edad fueron factores que se relacionaron con la gravedad de los casos. Padecer una coinfección no hizo que la gravedad del episodio de gastroenteritis fuera mayor.
- La gastroenteritis por rotavirus fue más frecuente en los menores de 2 años y se caracterizó por presentar vómitos, fiebre y heces sin sangre. Norovirus afectó principalmente a los menores de 6 meses y sus casos tuvieron más proporción de deposiciones sanguinolentas que los niños afectados por rotavirus.
- *Salmonella* afectó más a los niños mayores de 24 meses, que presentaron heces mucosanguinolentas y fiebre, pero esta última en menor grado que rotavirus.
- La incidencia de casos de gastroenteritis producidas por rotavirus en menores de 5 años ingresados en Gran Canaria se ha mantenido estable, pese al aumento de la cobertura vacunal.

BIBLIOGRAFÍA

8. BIBLIOGRAFÍA

1. Guarino A, Ashkenazi S, Gendrel D, Lo Vecchio A, Shamir R, Szajewska H. European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition/European Society for Pediatric Infectious Diseases evidence-based guidelines for the management of acute gastroenteritis in children in Europe: Update 2014. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2014; 59:132–52.
2. Benítez Maestre AM, De Miguel Durán F. Gastroenteritis aguda. *Pediatr Integral.* (publicación periódica en línea) 2015 Ene-Feb XIX(1):51-57. Disponible en: URL: http://www.pediatriaintegral.es/wp-content/uploads/2015/04/Pediatria-Integral-XIX-1_WEB.pdf (último acceso agosto 2015)
3. Fernández JM, Gómez J. Infecciones por norovirus. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2010; 28 Suppl 1:51-5.
4. Farthing M, Salam MA, Lindberg G, Dite P, Khalif I, Salazar-Lindo E, et al. Acute diarrhea in adults and children: a global perspective. *J Clin Gastroenterol.* 2013; 47:12-20.
5. Cheng AC, McDonald JR, Thielman NM. Infectious diarrhea in developed and developing countries. *J Clin Gastroenterol.* 2005; 39:757–73.
6. Reyna-Figueroa J, Sánchez-Uribe E, Esteves-Jaramillo A, Hernández Hernández L del C, Richardson V. Enfermedad diarreica por rotavirus en brotes epidémicos. *Rev Panam Salud Publica.* 2012; 31:142–7.
7. Zahorsky J. Hyperemesis heimis or the winter vomiting disease. *Arch Pediatr.* 1929; 46:391-5.
8. Clarke SK, Cook GT, Egglestone SI, Hall TS, Miller DL, Reed SE et al. A virus from epidemic vomiting disease. *Br Med J.* 1972; 3:86-9.
9. Kapikian AZ, Wyatt RG, Dolin R, Thornhill TS, Kalicaa AR, Chanock RM. Visualization by immune electron microscopy of a 27-nm particle associated with acute infections nonbacterial gastroenteritis. *J Virol.* 1972; 10:1075-81.
10. Ospino DU, Young G, Navarro OA. Viral gastroenteritis and diversity of rotavirus strains in Colombian children: a systematic review. *J Infect Developing Countries.* 2008; 2:99-105.
11. Bishop RF, Davidson GP, Holmes IH, Ruck BJ. Virus particles in epithelial cells of duodenal mucosa from children with acute gastroenteritis. *Lancet.* 1973; 2:1281-3.
12. Wilhelmi I, Roman E, Sánchez-Fauquier A. Viruses causing gastroenteritis. *Clin Microbiol Infect.* 2003; 9:247-62.
13. Wilhelmi de Cal I, Mohedano del Pozo RB, Sánchez-Fauquier A. Rotavirus y otros virus productores de gastroenteritis aguda en la infancia. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2008; 26 Suppl 13:61-5.

14. Román-Riechmann E, Wilhelmi de Cal I, Sánchez-Fauquier A. Virus productores de gastroenteritis. Vacunación frente a rotavirus. *Revista Gastrohnup*. (publicación periódica en línea) 2006 8(1):55-64. Disponible en: URL: <http://revgastrohnup.univalle.edu.co/a06v8n1/a06v8n1.htm>. (último acceso agosto 2015)
15. Meloni A, Locci D, Frau G, Masia G, Nurchi AM, Coppola RC. Epidemiology and prevention of rotavirus infection: an underestimated issue?. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2011; 24 Suppl 2:48-51.
16. Patton JT. Rotavirus diversity and evolution in the post-Vaccine world. *Discov Med*. 2012; 13:85-97.
17. Clark B, McKendrick M. A review of viral gastroenteritis. *Curr Opin Infect Dis*. 2004; 17:461-9.
18. Sánchez-Fauquier A, Montero V, Moreno S, Solé M, Colomina J, Iturriza-Gomara M et al; Gegavi/VIGESS-Net Group. Human rotavirus G9 and G3 as major cause of diarrhea in hospitalized children, Spain. *Emerg Infect Dis*. 2006; 12:1536-41.
19. Khoury H, Ogilvie I, El Khoury AC, Duan Y, Goetghebeur MM. Burden of rotavirus gastroenteritis in the Middle Eastern and North African pediatric population. *BMC Infect Dis*. 2011; 11:9.
20. Cox E, Christenson JC. Rotavirus. *Pediatr Rev*. 2012 ; 33:439-45.
- 21- (21) Ramani S, Kang G. Viruses causing childhood diarrhoea in the developing world. *Curr Opin Infect Dis*. 2009; 22:477-82.
22. Ogilvie I, Khoury H, Goetghebeur MM, El Khoury AC, Giaquinto C. Burden of community-acquired and nosocomial rotavirus gastroenteritis in the pediatric population of Western Europe: a scoping review. *BMC Infect Dis*. 2012; 12:62.
23. Ogilvie I, Khoury H, El Khoury AC, Goetghebeur MM. Burden of rotavirus gastroenteritis in the pediatric population in Central and Eastern Europe Serotype distribution and burden of illness. *Hum Vaccin*. 2011; 7:523-33.
24. Santos N, Hoshino Y. Global distribution of rotavirus serotypes/ genotypes and its implication for the development and implementation of an effective rotavirus vaccine. *Rev Med Virol*. 2005; 15:29-56.
25. Van Damme P, Giaquinto C, Maxwell M, Todd P, Van der Wielen M; REVEAL Study Group. Distribution of Rotavirus Genotypes in Europe, 2004–2005: The REVEAL Study. *J Infect Dis*. 2007; 195 Suppl 1:S17-25
26. Usonisa V, Ivaskeviciene I, Desselberger U, Rodrigo C; Pediatric ROTavirus European CommiTEE (PROTECT). The unpredictable diversity of co-circulating rotavirus types in Europe and the possible impact of universal mass vaccination programmes on rotavirus genotype incidence. *Vaccine*. 2012; 30:4596-605.

27. Victoria M, Carvalho-Costa FA, Heinemann MB, Leite JP, Miagostovich M. Prevalence and molecular epidemiology of noroviruses in hospitalized children with Acute Gastroenteritis in Rio de Janeiro, Brazil, 2004. *Pediatr Infect Dis J.* 2007; 26:602-6.
28. Chen SY, Chiu CH. Worldwide molecular epidemiology of norovirus infection. *Paediatr Int Child Health.* 2012; 32:128-31.
29. Hoa Tran TN, Trainor E, Nakagomi T, Cunliffe NA, Nakagomi O. Molecular epidemiology of noroviruses associated with acute sporadic gastroenteritis in children: Global distribution of genogroups, genotypes and GII.4 variants. *J Clin Virol.* 2013; 56:185-93.
30. Kirby A, Al-Eryani A, Al-Sonboli N, Hafiz T, Beyer M, Al-Aghbari N, et al. Rotavirus and norovirus infections in children in Sana'a, Yemen. *Trop Med Int Health.* 2011; 16:680-4.
31. Koopmans M. Progress in understanding norovirus epidemiology. *Curr Opin Infect Dis.* 2008 Oct;21(5):544-52. doi: 10.1097/QCO.0b013e3283108965.
32. Lindesmith L, Moe C, Marionneau S, Ruvoen N, Jiang X, Lindblad L, et al. Human susceptibility and resistance to Norwalk virus infection. *Nat Med.* 2003; 9:548-53.
33. Huang P, Farkas T, Marionneau S, Zhong W, Ruvoën-Clouet N, Morrow AL, et al. Noroviruses bind to human ABO, Lewis, and secretor histo-blood group antigens: identification of 4 distinct strain-specific patterns. *J Infect Dis.* 2003; 188:19-31.
34. Moreno-Espinosa S, Farkas T, Jiang X. Human Caliciviruses and Pediatric Gastroenteritis. *Semin Pediatr Infect Dis.* 2004 Oct;15(4):237-45.
35. García AM ed. *6ª Monografía de la Sociedad Española de Epidemiología. Epidemiología de las Gastroenteritis Agudas Víricas. Aspectos Actuales.* Madrid: EMISA; 2007.
36. De Benedictis P, Schultz-Cherry S, Burnham A, Cattoli G. Astrovirus infections in humans and animals – Molecular biology, genetic diversity and interspecies transmissions *Infection.* *Infect Genet Evol.* 2011; 11:1529-44.
37. Dennehy PH. Acute diarrheal disease in children: epidemiology, prevention and treatment. *Infect Dis Clin North Am.* 2005; 19:585-602.
38. Lion T. Adenovirus infections in immunocompetent and immunocompromised Patients. *Clin Microbiol Rev.* 2014; 27:441-62.
39. Bernaola G, Luque W. Fisiopatología de las infecciones por Adenovirus. *Pediatrিকা* (publicación periódica en línea) 2002; Oct.2001-Mar.2002;4(2):41-7. Disponible en: URL: sisbib.unmsm.edu.pe/BVrevistas/Paediatria/v04_n2/indice.htm (último acceso agosto 2015)

40. Sirok A, Le Pera V, Sandin D. Agentes virales de gastroenteritis. En: *Temas de Bacteriología y Virología Médica*. 2ª ed. corregida. Oficina del Libro FEFMUR; 2006. p519-33. Disponible en: <http://www.higiene.edu.uy/cefa/2008/virusgastroenteritis.pdf>. (último acceso agosto 2015)
41. Gray GC. Adenovirus transmission-worthy of our attention. *J Infect Dis*. 2006; 194:871-3.
42. Butzner JD. Vómitos y Diarrea agudos. *Gastroenterología Pediátrica Práctica*. Madrid: Ergon; 1996. p57-75.
43. Ceyhan M, Alhan E, Salman N, Kurugol Z, Yildirim I, Celik U, et al. Multicenter Prospective Study on the Burden of Rotavirus Gastroenteritis in Turkey, 2005–2006: A Hospital-Based Study. *J Infect Dis*. 2009; 200 Suppl 1:S234-8.
44. Tate JE, Burton AH, Boschi-Pinto C, Steele AD, Duque J, Parashar UD; WHO-coordinated Global Rotavirus Surveillance Network. 2008 estimate of worldwide rotavirus-associated mortality in children younger than 5 years before the introduction of universal rotavirus vaccination programmes: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect Dis*. 2012; 12:136–41.
45. Organización Mundial de la Salud. Enfermedades diarreicas nota descriptiva 330. Abril 2013. Disponible en: URL: <http://www.who.int/medicentre/factsheets/fs330/es/>. (último acceso Octubre 2015)
46. Kotloff KL, Nataro JP, Blackwelder WC, Nasrin D, Farag TH, Panchalingam S, et al. Burden and aetiology of diarrhoeal disease in infants and young children in developing countries (the Global Enteric Multicenter Study, GEMS): a prospective, case-control study. *Lancet*. 2013; 382:209-22.
47. Granado-Villar D, Cunill-De Sautu B, Granados A. Acute Gastroenteritis. *Pediatr Rev*. 2012; 33:487-94.
48. Banya K, Desselberger U, Franco E, Giaquinto C, Grimprel G, Huppertz HI, et al. The paediatric burden of rotavirus disease in Europe. *Epidemiol Infect*. 2006; 134:908-16.
49. Dennehy PH. Viral gastroenteritis in children. *Pediatr Infect Dis J*. 2011;30:63–4.
50. Gimenez-Sanchez F, Delgado-Rubio A, Martinon-Torres F, Bernaola-Iturbe E. Multicenter prospective study analysing the role of rotavirus on acute gastroenteritis in Spain. *Acta Paediatr*. 2010; 99:738-42.
51. Widdowson MA, Steele D, Vojdani J, Wecker J, Umesh Parashar U. Global Rotavirus Surveillance: Determining the need and measuring the impact of rotavirus vaccines. *J Infect Dis*. 2009; 200 Suppl 1:S1-8.
52. Jagai JS, Sarkar R, Castronovo D, Kattula D, McEntee J, Ward H, et al. Seasonality of rotavirus in South Asia: a meta-analysis approach assessing associations with temperature, precipitation, and vegetation index. *PLoS One*. 2012; 7:e38168.

53. Koo HL, Ajami N, Atmar RL, DuPont HL. Noroviruses: the principal cause of foodborne disease worldwide. *Discov Med*. 2010; 10:61–70.
54. Patel MM, Widdowson MA, Glass RI, Akazawa K, Vinjé J, Parashar U. Systematic literature review of role of noroviruses in sporadic gastroenteritis. *Emerg Infect Dis*. 2008; 14:1224-31.
55. Morales E, García-Esteban R, Guxens M, Guerra S, Mendez M, Moltó-Puigmartí C, et al. Effects of prolonged breastfeeding and colostrum fatty acids on allergic manifestations and infections in infancy. *Clin Exp Allergy*. 2012; 42:918-28.
56. Díez-Domingo J, Baldo JM, Patrzalek M, Pazdiora P, Forster J, Cantarutti L, et al. Primary care-based surveillance to estimate the burden of rotavirus gastroenteritis among children aged less than 5 years in six European countries. *Eur J Pediatr*. 2011; 170:213-22.
57. O’Ryan M, Prado V, Pickering LK. A Millennium Update on pediatric diarrheal illness in the developing world. *Semin Pediatr Infect Dis*. 2005; 16:125-36.
58. Lee RM, Lessler J, Lee RA, Rudolph KE, Reich NG, Perl TM, Cummings DA. Incubation periods of viral gastroenteritis: a systematic review. *BMC Infect Dis*. 2013; 13:446.
59. Wiegering V, Kaiser J, Tappe D, Weissbrich B, Morbach H, Girschick HJ. Gastroenteritis in childhood: a retrospective study of 650 hospitalized pediatric patients. *Int J Infect Dis*. 2011; 15:e401–7.
60. Álvarez M, Buesa J, Castillo J, Vila J. Diagnóstico microbiológico de las infecciones gastrointestinales. Procedimientos en Microbiología Clínica. Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. 2008
61. López-García MJ, Cárdenas-Povedano M, Osuna-Molina A. *Manual de laboratorio de microbiología para el diagnóstico de infecciones gastrointestinales*. Omnia Publisher; 2012.
62. Wilhelmi de Cal I, Revilla A, Del Alamo JM, Román E, Moreno S, Sánchez-Fauquier A. Evaluation of two commercial enzyme immunoassays for the detection of norovirus in faecal samples from hospitalised children with sporadic acute gastroenteritis. *Clin Microbiol Infect*. 2007; 13:341–3.
63. Mosqueda R, Pablo Rojo P. Gastroenteritis Aguda. En *Protocolos Diagnóstico Terapéuticos de Urgencias Pediátricas SEUP-AEP*. 2ª ed. Madrid: Ergon S.A; 2010. p97-102
- 64- (64) Van Damme P, Giaquinto C, Huet F, Gothefors L, Maxwell M, Van der Wielen M; REVEAL Study Group. Multicenter prospective study of the burden of rotavirus acute gastroenteritis in Europe, 2004–2005: the REVEAL Study. *J Infect Dis*. 2007; 195 Suppl 1:S4-S16.

65. Comité asesor de vacunas de la Asociación Española de Pediatría. Rotavirus. En: *Manual de Vacunas en Línea de la AEP*. Disponible en: URL: <http://vacunasaep.org/documentos/manual/cap-35>. (último acceso agosto 2015)
66. Williams CJ, Lobanov A, Pebody RG. Estimated mortality and hospital admission due to rotavirus infection in the WHO European region. *Epidemiol Infect.* 2009; 137:607–16.
67. Phua KB, Tee N, Tan N, Ramakrishnan G, Teoh YL, Bock H, et al. A Hospital-based Surveillance of Rotavirus Gastroenteritis in Children <5 Years of Age in Singapore. *Pediatr Infect Dis J.* 2013; 32:e426–31.
68. Malek MA, Teleb N, Abu-Elyazeed R, Riddle MS, El Sherif M, Steele AD, et al. The epidemiology of rotavirus diarrhea in countries in the Eastern Mediterranean Region. *J Infect Dis.* 2010; 202 Suppl:S12-22.
69. Sanchez-Padilla E, Grais RF, Guerin PJ, Steele AD, Burny ME, Luquero FJ. Burden of disease and circulating serotypes of rotavirus infection in sub-Saharan Africa: systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect Dis.* 2009; 9:567-76.
70. Sánchez-Fauquier A, Wilhelmi I, Roman E, Colomina J, Montero V, Negro A. Surveillance of Human Calicivirus in Spain. *Emerg Infect Dis.* 2005; 11:1327-9.
71. Junquera CG, de Baranda CS, Mialdea OG, Serrano EB, Sánchez-Fauquier A. Prevalence and clinical characteristics of norovirus gastroenteritis among hospitalized children in Spain. *Pediatr Infect Dis J.* 2009;28: 604–7.
72. García-Magán C, de Castro-López MJ, Llovo-Taboada J, Curros-Novo C, Puente-Puig M, Sánchez-Fauquier A, et al. Caracterización microbiológica de las gastroenteritis agudas virales atendidas en un servicio de pediatría en un área de alta cobertura vacunal frente a rotavirus. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2014; 32:246–9.
73. Sánchez-Fauquier A, González-Galán V, Arroyo S, Cabornero A, Ruiz-Burruecos A, Wilhelmi-De Cal I. Monitoring of children with acute gastroenteritis in Madrid, Spain, during 2010–2011: rotavirus genotype distribution after the vaccines introduction. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2014; 32:280–4.
74. 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.
75. Gobierno de Canarias. *Instituto Canario de Estadística istac*. Gobierno de Canarias. Disponible en: URL: <http://www.gobiernodecanarias.org/istac/> (último acceso octubre 2015).
76. Morgan J.A, Tatar J.F. Calculation of the residual sum of squares for all possible regressions. *Technometrics* 1972; 14:317-25.
77. Hastie T, Tibshirani R. Generalized additive models. *Statistical Science* 1983; 3:297-310.

78. R Development Core Team. *R: A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria 2012. Disponible en: URL: <http://www.R-project.org/>.
79. Soriano-Gabarró M, Mrukowicz J, Vesikari T, Verstraeten T. Burden of rotavirus disease in European Union countries. *Pediatr Infect Dis J*. 2006; 25(1 Suppl): S7-S11.
80. Kawai K, O'Brien MA, Goveia MG, Mast TC, El Khoury AC. Burden of rotavirus gastroenteritis and distribution of rotavirus strains in Asia: A systematic review. *Vaccine*. 2012; 30:1244–54
81. Forster F, Guarino A, Perez N, Moraga F, Román E, Mory O, et al. Hospital-based surveillance to estimate the burden of rotavirus gastroenteritis among european children younger than 5 years of age. *Pediatrics*. 2009; 123:e393-400.
82. Giaquinto C, Van Damme P, Huet F, Gothefors L, Maxwell M, Todd P, et al; REVEAL study group. Clinical consequences of rotavirus acute gastroenteritis in europe, 2004–2005: the REVEAL study. *J Infect Dis*. 2007; 195 Suppl 1:S26-35.
83. Bresee J, Fang ZY, Wang B, Nelson EA, Tam J, Yati Soenarto Y, et al. First report from the Asian Rotavirus Surveillance Network. *Emerg Infect Dis*. 2004; 6:988-95.
84. Kane EM, Turcios RM, Arvay ML, Garcia S, Bresee JS, Glass RI. The epidemiology of rotavirus diarrhea in Latin America. Anticipating rotavirus vaccines. *Rev Panam Salud Publica*. 2004; 16:371-7.
85. Díaz TJ, Olea NA, O'Ryan GM, Mamani NM, Galeno AH, y Mora RJ. Resultados de la vigilancia centinela de gastroenteritis por rotavirus en Chile. *Rev Chil Infect*. 2008; 25:453-6.
86. Kirkwood CD, Boniface K, Bogdanovic-Sakran N, Masendycz P, Barnes GL, Bishop RF. Rotavirus strain surveillance-An Australian perspective of strains causing disease in hospitalised children from 1997 to 2007. *Vaccine*. 2009; 27 Suppl 5:F102-7.
87. Tajiri H, Takeuchi Y, Takano T, Ohura T, Inui A, Yamamoto K, et al. The burden of rotavirus gastroenteritis and hospital-acquired rotavirus gastroenteritis among children aged less than 6 years in Japan: a retrospective, multicenter epidemiological survey. *BMC Pediatr*. 2015; 22;13:83.
88. Kahn G, Fitzwater S, Tate J, Kang G, Ganguly N, Nair G, et al. Epidemiology and Prospects for Prevention of Rotavirus Disease in India. *Indian Pediatr*. 2012; 16: 467-74.
89. Podkolzin AT, Fenske EB, Abramycheva NY, Shipulin GA, Sagalova OI, Mazepa VN, et al. Hospital-Based Surveillance of Rotavirus and Other Viral Agents of Diarrhea in Children and Adults in Russia, 2005–2007. *J Infect Dis*. 2009; 200 Suppl 1:S228-33.

90. Raes M, Strens D, Vergison A, Verghote M, Standaert B. Reduction in pediatric rotavirus-related hospitalizations after universal rotavirus vaccination in Belgium. *Pediatr Infect Dis J*. 2011; 30:e120–5.
91. Patel MM, López-Collada VR, Beulhoes MM, De Oliveira LH, Bautista Márquez A, Flannery B, et al. Intussusception risk and health benefits of rotavirus vaccination in Mexico and Brazil. *N Engl J Med*. 2011; 364:2283–92.
92. Paulke-Korinek M, Kollaritsch H, Aberle SW, Zwazl I, Schmidle-Loss B, Vécsei A, Kundi M. Sustained low hospitalization rates after four years of rotavirus mass vaccination in Austria. *Vaccine*. 2013; 31:2686–91.
93. Paulke-Korinek M, Kundi M, Rendi-Wagner P, de Martin A, Eder G, Schmidle-Loss B, et al. Herd immunity after two years of the universal mass vaccination program against rotavirus gastroenteritis in Austria. *Vaccine*. 2011; 29:2791–96.
94. Curns AT, Steiner CA, Barrett M, Hunter K, Wilson E, Parashar UD. Reduction in acute gastroenteritis hospitalizations among US children after introduction of rotavirus vaccine: analysis of hospital discharge data from 18 US states. *J Infect Dis*. 2010; 201:1617–24.
95. Yen C, Armero Guardado JA, Alberto P, Rodriguez Araujo DS, Mena C, Cuellar E, et al. Decline in rotavirus hospitalizations and health care visits for childhood diarrhea following rotavirus vaccination in El Salvador. *Pediatr Infect Dis J*. 2011; 30 (1 Suppl):S6-S10.
96. Buttery JP, Lambert SB, Grimwood K, Nissen MD, Field EJ, Macartney KK, et al. Reduction in rotavirus-associated acute gastroenteritis following introduction of rotavirus vaccine into Australia's national childhood vaccine schedule. *Pediatr Infect Dis J*. 2011; 30 (1 suppl):S25–9.
97. Lambert S, Faux CE, Hall L, Birrell FA, Peterson KV, Selvey CE, et al. Early evidence for direct and indirect effects of the infant rotavirus vaccine program in Queensland. *Med J Aus*. 2009; 191:157–60.
98. EuroRotaNet. *Determining the Diversity of Co-circulating Rotavirus Strains in Consecutive Rotavirus Seasons*. Disponible en:
URL:<http://www.eurorota.net/download.php?file=EuroRotaNetAnnualReport6th.pdf>.
(último acceso septiembre 2015)
99. Richardson V, Hernandez-Pichardo J, Quintanar-Solares M, Esparza-Aguilar M, Johnson B, Gomez-Altamirano CM, et al. Effect of rotavirus vaccination on death from childhood diarrhea in Mexico. *N Engl J Med*. 2010; 362:299–305.
100. Madhi SA, Cunliffe NA, Steele D, Witte D, Kirsten M, Louw C, et al. Effect of human rotavirus vaccine on severe diarrhea in African infants. *N Engl J Med*. 2010; 362:289–98.

101. Uhlig U, Kostev K, Schuster V, Uhlig HH. Rotavirus vaccination in Germany: analysis of nationwide surveillance data 2006 to 2010. *Pediatr Infect Dis J.* 2011; 30:e244–7.
102. Vesikari T, Karvonen A, Ferrante SA, Ciarlet M. Efficacy of the pentavalent rotavirus vaccine, RotaTeq[®], in Finnish infants up to 3 years of age: the Finnish Extension Study. *Eur J Pediatr.* 2010;169:1379–86.
103. Martínón-Torres F, Martínón-Torres N, Bouzón-Alejandro M, Redondo-Collazo L, Pértega-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.
104. Dudareva-Vizule S, Koch J, An der Heiden M, Oberle D, Keller-Stanislawski B, Wichmann O. Impact of rotavirus vaccination in regions with low and moderate vaccine uptake in Germany. *Hum Vaccin Immunother.* 2012; 8:1407–15.
105. Karafillakis E, Hassounah S, Atchison C. Effectiveness and impact of rotavirus vaccines in Europe, 2006–2014. *Vaccine.* 2015; 33:2097–107.
106. Martínón-Torres F, Bouzón-Alejandro M, Redondo-Collazo L, Sánchez-Lastres JM, Pértega-Díaz S, Seoane-Pillado MT, et al. Effectiveness of rotavirus vaccination in Spain. *Hum Vaccin.* 2011; 7:757–61.
107. Pérez-Vilar S, Díez-Domingo J, López-Lacort M, Martínez-Ubeda S, Martínez-Beneito MA. Effectiveness of rotavirus vaccines, licensed but not funded, against rotavirus hospitalizations in the Valencia Region, Spain. *BMC Infect Dis.* 2015; 15:92.
108. Comité Asesor de vacunas de la Asociación Española de Pediatría. *El portal de las vacunas de la Asociación Española de Pediatría.* Manuel Merino Moína. Disponible en: URL: <http://vacunasaep.org/documentos/deteccion-de-adn-de-circovirus-porcino-en-las-vacunas-frente-rotavirus-rotarix-y-rotateq>. (último acceso Junio 2015)
109. Martínón-Torres F, Aramburo A, Martínón-Torres N, Cebey M, Seoane-Pillado MT, Redondo-Collazo L, et al. A reverse evidence of rotavirus vaccines impact. *Hum Vaccin Immunother.* 2013; 9:1289–91.
110. Iturriza-Gómara M, Dallman T, Bányai K, Bottiger B, Buesa J, Diedrich S et al. Rotavirus surveillance in Europe, 2005–2008: web-enabled reporting and real-time analysis of genotyping and epidemiological data. *J Infect Dis.* 2009; 200 suppl 1:S215–221.
111. Koukou D, Grivea I, Roma E, Tsioni H, Trimis G, Galanakis E, et al. Frequency, clinical characteristics, and genotype distribution of rotavirus gastroenteritis in Greece (2007 – 2008). *J Med Virol.* 2011; 83:165–9.
112. Rahman M, Matthijnsens J, Yang X, Delbeke T, Arijs I, Taniuchi K et al. Evolutionary history and global spread of the emerging g12 human rotaviruses. *J Virol.* 2007; 81:2382–90.

113. Cilla G, Montes M, Gomariz M, Alkorta M, Iturzaeta A, Perez-Yarza EG, et al. Rotavirus genotypes in children in the Basque Country (North of Spain): rapid and intense emergence of the G12[P8] genotype. *Epidemiol Infect.* 2013; 141:868-74.
114. Sherchand JB, Nakagomi O, Dove W, Nakagomi T, Yokoo M, Pandey BD, et al. Molecular epidemiology of rotavirus diarrhea among children aged <5 years in Nepal: predominance of emergent G12 strains during 2 years. *J Infect Dis.* 2009; 200 Suppl 1: S182-7.
115. Hull JJ, Teel EN, Kerin TK, Freeman MM, Esona MD, Gentsch JR, et al. United States rotavirus strain surveillance from 2005 to 2008: genotype prevalence before and after vaccine introduction. *Pediatr Infect Dis J.* 2011; 30 (1 suppl):S42-7.
116. Tran A, Talmud D, Lejeune B, Jovenin N, Renois F, Payan C, et al. Prevalence of rotavirus, adenovirus, norovirus, and astrovirus infections and coinfections among hospitalized children in northern France. *J Clin Microbiol.* 2010; 48:1943-6.
117. Iturriza-Gómara M, Dallman T, Bányai K, Böttiger B, Buesa J, Diedrich S, et al. Rotavirus genotypes co-circulating in Europe between 2006 and 2009 as determined by EuroRotaNet, a pan-European collaborative strain surveillance network. *Epidemiol Infect.* 2011; 139:895-909.
118. Cilla G, Montes M, Gomariz M, Piñeiro L, Pérez-Trallero E. Rotavirus genotypes in children in the Basque Country (northern Spain) over a 13-year period (July 1996-June 2009). *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2010; 29:955-60.
119. Antunes H, Afonso A, Iturriza M, Martinho I, Ribeiro C, Rocha S et al. G2P[4] the most prevalent rotavirus genotype in 2007 winter season in an European non-vaccinated population. *J Clin Virol.* 2009; 45:76-8.
120. Zeller M, Donato C, Trovao NS, Cowley D, Heylen E, Donker NC, et al. Genome-wide evolutionary analyses of G1P[8] strains isolated before and after rotavirus vaccine introduction. *Genome Biol Evol.* 2015; 7:2473-83.
121. De Donno A, Grassi T, Bagordo F, Idolo A, Cavallaro A, Gabutti G. Emergence of unusual human rotavirus strains in Salento, Italy, during 2006-2007. *BMC Infect Dis.* 2009; 9:43.
122. Hacimustafaoglu M, Celebi S, Agin M, Ozkaya G. Rotavirus epidemiology of children in Bursa, Turkey: a multi-centered hospital-based descriptive study. *Turk J Pediatr.* 2011; 53:604-13.
123. Giaquinto C, van Damme P. Age distribution of paediatric rotavirus gastroenteritis cases in Europe: the REVEAL study. *Scand J Infect Dis.* 2010; 42:142-7.
124. Medici MC, Martinelli M, Abelli LA, Ruggeri FR, Di Bartolo I, Arcangeletti MC, et al. Molecular epidemiology of norovirus infections in sporadic cases of viral gastroenteritis among children in Northern Italy. *J Med Virol.* 2006; 78:1486-92.

125. Colomba C, Saporito L, Giammanco GM, De Grazia S, Ramirez S, Arista S, et al. Norovirus and gastroenteritis in hospitalized children, Italy. *Emerg Infect Dis.* 2007; 13:1389–91.
126. Khamrin P, Maneekarn N, Peerakome S, Tonusin S, Malasao R, Mizuguchi M, et al. Genetic diversity of noroviruses and sapoviruses in children hospitalized with acute gastroenteritis in Chiang Mai, Thailand. *J Med Virol.* 2007; 79:1921–6.
127. Román E, Negredo A, Dalton RM, Wilhelmi I, Sánchez-Fauquier A. Molecular detection of human calicivirus among spanish children with acute gastroenteritis. *J Clin Microbiol.* 2002; 40:3857-9.
128. Guix S, Caballero S, Villena C, Bartolomé R, Latorre C, Rabella N, et al. Molecular epidemiology of astrovirus infection in Barcelona, Spain. *J Clin Microbiol.* 2002; 40:133-9.
129. Farkas T, Jiang XI. Rotaviruses, caliciviruses, astroviruses, enteric adenoviruses; and other diarrheic viruses. En: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Landry ML, Pfaller MA, editors. *Manual of clinical microbiology.* 9th ed. Washington: ASM Press; 2007. p. 999-1004.
130. Valentini D, Vittucci AC, Grandin A, Tozzi AE, Russo C, Onori M, et al. Coinfection in acute gastroenteritis predicts a more severe clinical course in children. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2013; 32:909–15.
131. Román E, Wilhelmi I, Colomina J, Villar J, Cilleruelo ML, Nebreda V, et al. Acute viral gastroenteritis: proportion and clinical relevance of multiple infections in Spanish children. *J Med Microbiol.* 2003; 52:435–40.
132. De Grazia, S, Platia MA, Rotolo V, Colomba C, Martella V, Giammanco GM. Surveillance of human astrovirus circulation in Italy 2002–2005: emergence of lineage 2c strains. *Clin Microbiol Infect.* 2011; 17:97–101.
133. Platts-Mills JA, Babji S, Bodhidatta L, Gratz J, Haque R, Havt A, et al. Pathogen-specific burdens of community diarrhoea in developing countries: a multisite birth cohort study (MAL-ED). *Lancet Glob Health.* 2015; 3:e564-75.
134. Oldak E, Sulik A, Rozkiewicz D, Liwoch-Nienartowicz N. Norovirus infections in children under 5 years of age hospitalized due to the acute viral gastroenteritis in northeastern Poland. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2012; 31:417-22.
135. La Rosa G, Della Libera S, Petricca S, Iaconelli M, Donia D, Saccucci P, et al. Genetic Diversity of Human Adenovirus in Children with Acute Gastroenteritis, Albania, 2013-2015. *Biomed Res Int.* 2015; :142912. Disponible en: URL: <http://dx.doi.org/10.1155/2015/142912>.
136. Román-Riechmann E, Wilhelmi-de Cal I, Cilleruelo-Pascual ML, Calvo-Rey C, García-García ML, Sánchez-Fauquier A. Nosocomial acute gastroenteritis and asymptomatic infection by rotavirus and astrovirus in hospitalized children. *An Pediatr.* 2004; 60:337-43.

137. Schnadower D, Tarr PI, Gorelick MH, O'Connell K, Roskind CG, Powell EC, et al. Validation of the Modified Vesikari Score in children with gastroenteritis in 5 U.S. Emergency Departments. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2013; 57:514-9.
138. González R, Salas-Maronsky H, Balebona E, Martínez JR, Serrano N, Pérez-Schael I. Epidemiological and clinical study of diarrhea by rotavirus in children <5 years of age attended in medical centers of the Miranda State, Venezuela. *Invest Clin.* 2008; 49:499-510.
139. Rivero M, Coello Z, Mesa O, Sánchez R, Alcoba J, Ortigosa L. Gastroenteritis por rotavirus en niños menores de 5 años en la isla de Tenerife. *Can Pediatr.* 2009; 33:159.
140. Cascio A, Vizzi E, Alaimo C, Arista S. Rotavirus gastroenteritis in Italian children: can severity of symptoms be related to the infecting virus?. *Clin Infect Dis.* 2001; 32:1126–32.
141. Iturriza-Gómara M, Green J, Brown DW, Ramsay M, Desselberger U, Gray JJ. Molecular epidemiology of human group A rotavirus infections in the United Kingdom between 1995 and 1998. *J Clin Microbiol.* 2000; 38:4394–401.
142. Clark HF, Lawley DA, Schaffer A, Patacsil JM, Marcello AE, Glass RI, et al. Assessment of the epidemic potential of a new strain of rotavirus associated with the novel G9 serotype which caused an outbreak in the United States for the first time in the 1995–1996 season. *J Clin Microbiol.* 2004; 42:1434–8.
143. Arista S, Vizzi E, Migliore MC, Di Rosa E, Cascio A. High incidence of G9P[8] rotavirus infections in Italian children during the winter season 1999–2000. *Eur J Epidemiol.* 2003; 18:711–4.
144. Pitzer VE, Viboud C, Simonsen L, Steiner C, Panozzo CA, Alonso WJ, et al. Demographic variability, vaccination, and the spatiotemporal dynamics of rotavirus epidemics. *Science.* 2009; 325:290–4.
145. Cook SM, Glass RI, LeBaron CW, Ho MS. Global seasonality of rotavirus infections. *Bull World Health Organ.* 1990; 68:171-7.
146. D'Souza RM, Hall G, Becker NG. Climatic factors associated with hospitalizations for rotavirus diarrhoea in children under 5 years of age. *Epidemiol Infect.* 2008; 136:56–64.
147. Levy K, Hubbard AE, Eisenberg JN. Seasonality of rotavirus disease in the tropics: a systematic review and meta-analysis. *Int J Epidemiol.* 2009; 38:1487–96.
148. Parashar UD, Li JF, Cama R, DeZalia M, Monroe SS, Taylor DN, et al. Human caliciviruses as a cause of severe gastroenteritis in Peruvian children. *J Infect Dis.* 2004; 190:1088–92.
149. Kaiser P, Borte M, Zimmer KP, Huppertz HI. Complications in hospitalized children with acute gastroenteritis caused by rotavirus: a retrospective analysis. *Eur J Pediatr.* 2012; 171:337–45.

150. Coffin SE, Elser J, Marchant C, Sawyer M, Pollara B, Fayorsey R. Impact of acute rotavirus gastroenteritis on pediatric outpatient practices in the United States. *Pediatr Infect Dis J.* 2006; 25:584-9.
151. 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.

ANEXOS

9. ANEXOS

CUESTIONARIO DE RECOGIDA DE DATOS

1. Datos Demográficos:

- Número de identificación y etiqueta
- Teléfono de contacto
- Número de registro de URG-P
- Número de historia clínica
- Edad (meses)
- Sexo. 1. Varón 2. Mujer
- Fecha de nacimiento
- Lugar de residencia (municipio)

2. Datos Epidemiológicos:

- Estancia en el extranjero en los últimos 21 días:
1.No 2. Sí (indicar país y zona)
- Contactos con personas con diarrea en los últimos 21 días:
1.No 2. Sí
- Asistencia a guardería:
1.No 2. Sí
- Contacto con personas procedentes de un país extranjero en los últimos 21 días.
1.No 2.Sí (indicar país y zona).
- Vacunación frente a rotavirus.
1.No 2.Sí (indicar cuál, fecha y número de dosis)
- Profesión materna
- Dedicación actual materna
- Nivel de estudios materno
- Profesión paterna
- Dedicación actual paterna
- Nivel de estudios paterno

3. Datos clínicos

- Fecha de ingreso
- Fecha de alta
- Días de ingreso
- Fecha de inicio de la diarrea
- Fecha de fin de la diarrea
- Duración de diarrea (días)
- Desenlace:
1.Recuperado 2. Fallecimiento 3. Otro
- Complicaciones:
 - Sepsis: 1.No 2.Sí
 - Osteomielitis: 1.No 2.Sí
 - Malnutrición: 1.No 2.Sí
 - Diarrea grave rebelde: 1.No 2.Sí
 - Intolerancia a la lactosa: 1.No 2.Sí
 - Intolerancia a las proteínas de la leche de vaca: 1.No 2.Sí
 - Otros

- Vómitos: 1.No 2.Sí
- Número máximo de vómitos por día
- Fiebre: 1.No 2.Sí
- Temperatura máxima:
- Características de la diarrea:
 - Duración (días)
 - Número máximo de deposiciones al día
 - Presencia de moco: 1.No 2.Sí
 - Presencia de sangre: 1.No 2.Sí
- Grado de deshidratación:
 - No
 - Leve (<5%)
 - Moderada (6-9%)
 - Grave (>10%)
- Rehidratación previa.: 1.No 2.Sí
- Escala de gravedad:
 - Puntuación:
 - Leve (<6)
 - Moderada (7-11)
 - Grave (>11)

4. Datos Analíticos

- Grupo sanguíneo
- Sodio: 1. hipo 2.normo 3.hiper
- Potasio: 1.hipo 2. normo 3.hiper
- GPT
- GOT
- GGT

5. Datos Microbiológicos

- Fecha de recogida del coprocultivo:
- Coprocultivo:
 - Negativo
 - Rotavirus
 - Adenovirus
 - Astrovirus
 - otro (especificar)
 - *Campylobacter*
 - *Salmonella*
 - *Yersinia*
 - *E. Coli*
 - *Shigella*
 - otro (especificar)
 - Hemocultivo
 - Carga viral

6. Datos Terapéuticos:

- Rehidratación: 1.No 2.Sí
 - Oral: 1.No 2.Sí
 - Intravenosa: 1.No 2.Sí
 - Uso de antibióticos: 1.No 2.Sí
 - Uso de probióticos: 1.No 2.Sí

HOJA INFORMATIVA A LOS PADRES (o REPRESENTANTES LEGALES)
Estudio interdisciplinar de gastroenteritis virales en España

La gastroenteritis aguda, caracterizada por diarreas y vómitos, es muy común en niños pequeños y se considera un problema de salud pública, que provoca la hospitalización de un gran número de niños menores de 5 años.

Se le propone que su hijo participe en un estudio, para ampliar el conocimiento del origen de la gastroenteritis aguda. Este estudio no implica la administración de fármacos o vacunas, o intervenciones específicas de su hijo. Este estudio ha sido concebido por el Centro Nacional de Microbiología del Instituto Carlos III (ISCIII). El coordinador del estudio es la Dra. Alicia Sánchez Fauquier.

El objetivo principal es determinar los tipos de rotavirus que producen gastroenteritis aguda. El estudio tendrá lugar entre marzo de 2006 y marzo de 2007 en los Departamentos de Pediatría y Microbiología de hospitales localizados en 13 Comunidades Autónomas diferentes.

La participación en este estudio es voluntaria. Tiene derecho a negarse a que su hijo/a participe. Si su hijo/a no participa en el estudio no perderá ninguno de los beneficios a los que tiene derecho. La atención médica que su hijo/a recibe actualmente y que recibirá en un futuro será la misma, tanto si participa o no en el estudio. Si decide que su hijo/a participe, tiene derecho a abandonar el estudio en cualquier momento sin dar ningún motivo. El médico le facilitará cualquier información adicional que pueda afectar a su decisión de permitir participar a su hijo/a en el estudio. La participación no supone un beneficio clínico inmediato para su hijo/a, sin embargo, nos ayudará a conocer más sobre la enfermedad por rotavirus.

Si acepta participar:

- 1) El médico investigador le hará algunas preguntas sobre la enfermedad y entorno de su hijo/a, para conocer mejor el origen de la gastroenteritis.**
- 2) Se recogerá una muestra de heces de su hijo/a durante las 48 horas posteriores a su visita. La muestra podrá ser analizada en el hospital según los procedimientos habituales, y después será enviada al ISCIII donde se realizarán pruebas para intentar determinar el tipo de virus responsable de la infección.**

El protocolo del estudio ha sido aprobado por el Comité Ético de Investigación Clínica en

Cualquier información médica acerca de su hijo/a relacionada con el estudio será procesada por el médico investigador y transferida, de forma anónima mediante un código numérico al coordinador del estudio con el objetivo de evaluarla científicamente. Esta información conservará el anonimato (lo cual significa que no será posible identificar a los pacientes participantes) y podrá ser publicada de forma anónima en medios científicos. En cualquier caso se respetarán sus derechos tal y como establece la ley de protección de datos española.

Conserve esta hoja informativa en la cartilla sanitaria de su hijo/a, para informar al médico (en caso de que no sea el médico que le visite hoy) o cualquier otro miembro del personal sanitario que esté cuidando a su hijo/a durante el transcurso de este episodio de diarrea y vómitos. Para cualquier pregunta relacionada con el estudio, contacte con..... Tfno:

Muchas gracias por el tiempo empleado en leer esta información.

CONSENTIMIENTO INFORMADO

Título del estudio: Estudio interdisciplinar de gastroenteritis virales en España

Yo, (nombre y apellidos)
en calidad de (relación con el participante)
de (nombre del participante)

- He leído la hoja de información que se me ha entregado.
- He podido hacer preguntas sobre el estudio.
- He recibido respuestas satisfactorias a mis preguntas.
- He recibido suficiente información sobre el estudio
- He hablado con (nombre del investigador)

Comprendo que la participación es voluntaria.

Comprendo que puedo retirarme del estudio:

1. Cuando quiera
2. Sin tener que dar explicaciones
3. Sin que esto repercuta en los cuidados médicos

En mi presencia se le ha dado a (nombre del participante)
..... toda la información pertinente, adaptada
a su nivel de entendimiento y está de acuerdo en participar.

Y presto mi conformidad a (nombre del participante)
..... para participar en este estudio.

Fecha y firma del representante legal

Fecha y firma del investigador

1 por paciente; 1 por médico

