

ORIGINALES

Estudio de enteropatógenos en población infantil del área sanitaria del Hospital Universitario de Valladolid

J. I. REGUERA*, J. M. EIROS, C. GOBERNADO, P. MACHÍN,
M. R. BACHILLER, R. ORTIZ DE LEJARAZU y A. RODRÍGUEZ-TORRES

RESUMEN: En este trabajo se presentan los resultados del estudio virológico y bacteriológico de 426 muestras de heces analizadas en el Laboratorio de Microbiología del Hospital Universitario de Valladolid, durante el período comprendido entre Febrero y Octubre de 1989. La prevalencia de rotavirus, adenovirus y bacterias enteropatógenas fue del 4,9 %, 0,2 % y 18,3 % respectivamente. De estas últimas *Salmonella enteritidis* (7,3 %) y *Campylobacter jejuni* (7,3 %) han sido las más frecuentes. No se han encontrado variaciones estacionales para rotavirus ni para adenovirus. La prevalencia de bacterias enteropatógenas ha sido mayor en los meses secos y cálidos del año. PALABRAS CLAVE: ROTAVIRUS. ADENOVIRUS. BACTERIAS ENTEROPATÓGENAS.

STUDY OF ENTEROPATHOGENS IN THE INFANTILE POPULATION OF THE SANITARY AREA OF THE UNIVERSITY HOSPITAL OF VALLADOLID. (SUMMARY): Virological and bacteriological results from 426 stool samples analyzed in the Microbiology Laboratory of the University Hospital (Valladolid) during the period February through October 1989, are presented. The prevalence of rotavirus, adenovirus and enteropathogen bacteria are 4,9 %, 0,2 % and 18,3 %. *Salmonella enteritidis* (7,3 %) and *Campylobacter jejuni* (7,3 %) are the more frequent bacteria isolated. No seasonal variations were seen for rotavirus and adenovirus, but the prevalence of enteropathogens bacteria was very marked in the hot dry months of the year. KEY WORDS: ROTAVIRUS. ADENOVIRUS. ENTEROPATHOGEN BACTERIA.

INTRODUCCIÓN

Los agentes etiológicos implicados en los cuadros de gastroenteritis en la infancia varían en función del tipo de población, área geográfica y condiciones higiénico-sanitarias (1-7). En la última década además del estudio de bacterias enteropatógenas se ha ampliado la investigación a rotavirus (RV) y adenovirus (ADV) (8-14). Esto ha sido posible gracias a la

disponibilidad de técnicas rápidas y fiables de detección de estos virus, tales como la aglutinación de látex (AL) y el enzimo-inmunoanálisis (EIA) (15-19). La confirmación mediante microscopía electrónica (ME) ha servido como técnica de referencia a su investigación (20-22).

En el presente trabajo se recogen los resultados del estudio sistemático de todos estos patógenos en las muestras de heces remitidas al Servicio de Microbiología del

Facultad de Medicina y Hospital Universitario.

* Facultad de Ciencia y Tecnología de los Alimentos. Universidad de Valladolid.

Hospital Universitario de Valladolid, durante el año 1989.

MATERIAL Y MÉTODOS

Muestras estudiadas

Se han estudiado un total de 426 muestras fecales de niños menores de 7 años, recibidas en nuestro servicio desde febrero a octubre de 1989. En todos los casos se recogieron los datos de edad, sexo y clínica asociada.

Las muestras de heces se recogieron en contenedores de tipo anaclín estériles. A su llegada al laboratorio se anotó su consistencia, distribuyendo dicho carácter organoléptico en cuatro categorías: heces líquidas, semilíquidas, semisólidas y sólidas.

Estudio virológico

El análisis inicial de las muestras se realizó mediante una técnica de AL para la detección de antígeno de grupo A de RV humano y otra técnica de AL para la detección de antígeno de grupo de ADV (Rotalex y Adenolex, respectivamente, Orion Diagnóstica, Spoo, Finland).

Las muestras RV positivas mediante AL se confirmaron mediante EIA policlonal para la detección de antígeno de grupo A de RV humano en heces (Rotazyme II, Abbott Laboratoires, North Chicago, ILL). Cuando se dispuso de cantidad suficiente se realizó además confirmación mediante ME. Del mismo modo se procedió con los ADV positivas mediante AL.

Estudio bacteriológico

El estudio bacteriológico se ha dirigido a la detección de *Salmonella*, *Shigella*, *Yersinia*, *Campylobacter jejuni*, así como *Aeromonas*.

Para el aislamiento de enterobacterias enteropatógenas se han utilizado los medios de agar Mac Conkey, Xilosa-Lisina-Deoxicolato, *Salmonella-Shigella* y Cefsulidina-Irgasan-Novobiocina (CIN), incubados a 37°C durante 24-48 horas, excepto el medio de CIN, que se ha incubado a 28°C durante 24-48 horas. Como medio de enriquecimiento para *Salmonella* se ha utilizado el Selenito F, incubado a 37°C durante 18 horas, que se ha resembrado en agar lisina-hierro modificado (LIAM). Para el aislamiento de *C. jejuni* se utilizó el medio de Preston incubado en microaerofilia a 42°C durante 48 horas. La identificación de las colonias en las que se sospechó su correspondencia a enteropatógenos se efectuó según técnicas previamente descritas (23).

Temperatura y humedad relativa

Se recogieron los datos de temperatura (°C) y humedad relativa (%) medias mensuales y estacionales de la ciudad de Valladolid, facilitados por el Centro Meteorológico Zonal del Duero (Tabla I).

Análisis estadístico

Para el análisis de las variables se han utilizado test de independencia (comparación de proporciones y chi cuadrado).

RESULTADOS

A lo largo del período de estudio hemos encontrado rotavirus en 21 muestras (4,9 %), adenovirus sólo en 1 (0,2 %) y bacterias enteropatógenas en 78 (18,3 %). Su distribución estacional se recoge en la Tabla II. La detección de rotavirus ha oscilado entre el 6,7 % en el verano y el 2,5 % en primavera. Únicamente se han detectado adenovirus en el invierno, con un porcentaje del 2 %.

TABLA I. TEMPERATURA (°C) Y HUMEDAD RELATIVA (%) MEDIAS MENSUALES Y ESTACIONALES

MES	TEMPERATURA MEDIA (TM)	HUMEDAD RELATIVA (HR)	TM	HR
FEBRERO	6,7	70		
MARZO	10,5	60		
ABRIL	8,7	67	12,0	60
MAYO	16,7	54		
JUNIO	19,4	48		
JULIO	23,5	41	21,8	45
AGOSTO	22,5	47		
SEPTIEMBRE	17,6	57		
OCTUBRE	14,8	63	16,2	60

TM: Temperatura media. HR: Humedad relativa.

TABLA II. DISTRIBUCIÓN ESTACIONAL DE LOS DIVERSOS ENTEROPATÓGENOS DETECTADOS DE FORMA SIMULTÁNEA

Meses	N	%	RV		ADV		BACTER	
			N	%	N	%	N	%
89 FB	51	12,0	3	5,9	1	2,0	3	5,9
89 MZ AB MY	160	37,5	4	2,5	/	/	23	14,4
89 JN JL AG	104	24,4	7	6,7	/	/	27	26,0
89 SP OC	111	26,1	7	6,3	/	/	25	22,5

RV: Rotavirus; ADV: Adenovirus; BACTER: B. Bacterias enteropatógenas.

El hallazgo de bacterias enteropatógenas resultó ser significativamente más elevado en verano (26 %) que en invierno (5,9 %), ($p \leq 0,05$). En las tablas III y IV se muestran la distribución de aislamientos por especies y estacional pormenorizada de las diferentes bacterias. *Campylobacter jejuni* ha sido la más frecuentemente hallada y se ha encontrado en el 16,3 % de las muestras del verano y en el 12,6 % de las de otoño, siendo escasa su aparición en primavera (1,9 %) y nula en invierno. Se han aislado 42 cepas de *Salmonella*, siendo *Salmonella enteritidis* la más frecuentemente encontrada (32/42), variando la prevalencia de esta

última entre un 9,4 % en primavera y un 5,1 % en verano.

Al reflejar conjuntamente los datos de temperatura y humedad relativa con los hallazgos virológicos estudiados no hemos observado una relación estrecha entre estos y aquellos. Sin embargo en el caso de aislamientos de bacterias enteropatógenas se ha observado que el número de aislamientos sigue un comportamiento paralelo al de la temperatura y por lo tanto al revés que la humedad.

Por lo que hace referencia a las técnicas utilizadas se ha encontrado una concordancia del 100 % entre ellas.

TABLA III. DISTRIBUCIÓN DE LOS AISLAMIENTOS DE BACTERIAS ENTEROPATÓGENAS

	N	%	EM (meses)
<i>Campylobacter jejuni</i>	31	7,3	18,6 ± 17,8
<i>Salmonella enteritidis</i>	31	7,3	26,5 ± 21,3
<i>Salmonella typhimurium</i>	8	1,9	36,4 ± 31,8
<i>Shigella flexneri</i>	3	0,7	32,0 ± 34,7
<i>Aeromonas hydrophila</i>	1	0,2	9,0
<i>Salmonella</i> grupo D ₁ de Kauffman	1	0,2	1,0
C. jejuni - A. hydrophila	1	0,2	2,0
C. jejuni - S. enteritidis	1	0,2	1,0
C. jejuni - <i>Salmonella</i> Grupo C ₁ de Kauffman	1	0,2	4,0 ± ,
NEGATIVAS	345	81,7	18,5 ± 18,2
	426	100,0	

EM = Edad Media.

TABLA IV. DISTRIBUCIÓN ESTACIONAL DEL HALLAZGO DE BACTERIAS ENTEROPATÓGENAS

Meses	N	C. jejuni		S. enter.		S. typhimur.		Sh. flex.		Otros	
		n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
89 FB	51	/	/	3	5,9	/	/	/	/	/	/
89 MZ AB MY	160	3	1,9	15	9,4	5	3,1	/	/	/	/
89 JN JL AG	104	17 ^a	16,3	6	5,8	/	/	3	2,9	2 ^b	1,9
89 SP OC	111	14 ^c	12,6	8 ^d	7,2	3	2,7	/	/	2 ^e	1,8
	426										

(^a): 1 caso asociado con *Aeromonas hydrophila*; (^b): 1 caso de *A. hydrophila* y otro de *A. hydrophila* asociado con *Campylobacter jejuni*; (^c): 1 caso asociado con *Salmonella enteritidis* y otro con *Salmonella* grupo C₁ de K.; (^d): 1 caso asociado con *C. jejuni*; (^e): 1 caso de *Salmonella* grupo D₁ de K. y otro de *Salmonella* grupo C₁ de K. asociado con *C. jejuni*.

DISCUSIÓN

Muchos de los trabajos realizados en España y en otros países ofrecen diferencias en los resultados globales de la detección de los distintos enteropatógenos, debidos entre otros factores a la composición de la muestra poblacional estudiada, a la metodología empleada y a la longitud del estudio. En ellos los porcentajes de detección de rotavirus se sitúan entre un 20 % y un 40 % (4, 5, 8, 9, 11, 16, 23). En

nuestra serie el porcentaje global en las 426 muestras de heces recibidas durante un período de casi un año ha sido del 4,9 %. La proporción de adenovirus observada por nosotros ha sido muy inferior (0,2 %), oscilando los porcentajes citados en otros artículos entre un 3 % y un 9 % (10, 12, 24).

Estos hechos merecen algunas reflexiones. En primer lugar hemos estudiado las heces remitidas para análisis microbiológico en nuestro hospital, mientras

que otros grupos se concentran exclusivamente en niños con gastroenteritis de salas de recién nacidos y lactantes (23, 25, 26). Otra explicación radica en el método de despistaje utilizado. En nuestro caso, tanto para rotavirus como para adenovirus se ha utilizado la aglutinación de látex como técnica de despistaje previo, que es algo menos sensible que las técnicas inmunoenzimáticas (13, 27), aunque en nuestra experiencia ha mostrado una excelente concordancia con la microscopía electrónica, confirmándose la totalidad de los positivos.

En relación con los hallazgos de bacterias enteropatógenas, en España se han obtenido porcentajes globales que oscilan entre el 20 % y el 30 % aproximadamente. En nuestra serie el porcentaje es algo menor, del 18,3 %. Las series más completas de la última década son las de Mirelis y cols. (5) y la de Velasco y cols. (4), en las que *Campylobacter jejuni* presenta una incidencia mayor, seguido de *Salmonella enteritidis* y de *Shigella flexneri*. Nuestros resultados se ajustan bastante a los mencionados, pues las incidencias encontradas han sido un 7,3 % para *Campylobacter jejuni*, y similar para *Salmonella enteritidis*, bastante superior a los descritos. Hecho que puede estar de acuerdo con el incremento de la incidencia global de gastroenteritis por *S. enteritidis* en el año analizado (28).

Las primeras publicaciones sobre la epidemiología de las infecciones por rotavirus describieron una marcada incidencia estacional de las mismas, en los meses fríos del año, para los países del hemisferio norte (23, 29, 30). En nuestro estudio el comportamiento estacional de las infecciones por rotavirus no se aprecia de forma evidente. Sin embargo sí hemos observado una asociación estacional para los enteropatógenos bacterianos. Algunos trabajos realizados en España revelan que las mayores incidencias de infecciones por bacterias enteropatógenas ocurren sobre todo en la segunda mitad del año (4, 5). No obstante, al hacer la distribución estacional por las distintas bacterias, estos trabajos no presentan resultados que concuerden entre sí, ya que en el estudio realizado en Barcelona (5) encuentran tanto para el género *Salmonella*, como para *Campylobacter jejuni*, una mayor incidencia en los seis últimos meses de 1983; y en el de Madrid (4) se observa un pico de mayor incidencia del género *Salmonella* durante el verano, no observando una distribución estacional para *Campylobacter jejuni*. Nosotros hemos observado una mayor incidencia global de las infecciones por bacterias enteropatógenas también durante el verano. En conclusión, con los datos obtenidos del período estudiado, no hemos podido demostrar una asociación estacional evidente en las infecciones por rotavirus y adenovirus de nuestro medio, que sí existe en los enteropatógenos bacterianos.

BIBLIOGRAFIA

1. MAIYA, P. P.; PEREIRA, S. M.; MATHAN, M.; BATH, P.; ALBERT, M. J.; BAKER, S. J.: *Aetiology of gastroenteritis in infancy and early childhood in southern India*. Arch. Dis. Child. 1977; 52: 482-485.
2. VESIKARI, T.; MAKI, M.; SARKKINEN, H. J.; ARSTILA, P. P.; HALONEN, P. E.: *Rotavirus, adenovirus and non-viral enteropathogens in diarrhea*. Arch. Dis. Child. 1981; 56: 264-270.
3. GEORGES, M. C.; WACHSMUTH, I. K.; MEUNIER, D. M. V. y cols.: *Parasitic, bacterial and viral enteric pathogens associated with diarrhea in the Central African Republic*. J. Clin. Microbiol. 1984; 19: 571-575.

4. VELASCO, A. C.; MATEOS, M. L.; MAS, G.; PEDRAZA, A.; DIEZ, M.; GUTIÉRREZ, A.: *Three-year prospective study of intestinal pathogens in Madrid, Spain*. J. Clin. Microbiol. 1984; 20: 290-292.
5. MIRELIS, B.; PORTUS, M.; RABELLA, N.; PERICAS, R.; AUSINA, V.; PRATS, G.: *Estudio etiológico de las gastroenteritis en un Hospital Universitario de Barcelona*. Enf. Infec. y Microbiol. Clin. 1986; 4: 106-112.
6. KIM, K. H.; SUH, I. S.; KIM, J. M.; KIM, C. W.; CHO, Y. J.: *Etiology of childhood diarrhea in Korea*. J. Clin. Microbiol. 1989; 27: 1192-1196.
7. TIEMESSEN, C. T.; WEGERHOFF, F. O.; ERASMUS, M. J.; KIDD, A. H.: *Infection by enteric adenoviruses, rotaviruses and other agents in a rural african environment*. J. Med. Virol. 1989; 28: 176-182.
8. BRANDT, C. D.; KIM, H. W.; RODRÍGUEZ, W. J. y cols.: *Comparison of direct electron microscopy, immune electron microscopy and rotavirus enzyme-linked immunosorbent assay for detection of gastroenteritis virus in children*. J. Clin. Microbiol. 1981; 13: 976-981.
9. GEORGES, M. G.; BERAUD, A. M.; BEARDS, G. M. y cols.: *Subgroups, serotypes and electropherotypes of rotavirus isolated from children in Banqui, Central African Republic*. J. Clin. Microbiol. 1988; 26: 668-671.
10. TIEMESSEN, C. T.; WEGERHOFF, F. O.; ERASMUS, M. J.; KIDD, A. H. y cols.: *Infection by enteric adenovirus, rotaviruses and other agents in a rural african environment*. J. Med. Virol. 1989; 28: 176-182.
11. RABELLA, N.; MARGALL, N.; CONDOM, M. J.; CARBO, LL.: *Estudio de la incidencia de rotavirus por microscopía electrónica. Comparación de los resultados con las pruebas de enzimo-inmunoanálisis y látex*. Enf. Infec. y Microbiol. Clin. 1987; 5: 17-19.
12. DE LA LOMA DANILOVA, A.; SÁNCHEZ-FAUQUIER, A.; CARRASCO GANDÍA, S.; HERRERA CALVET, I.: *Virus en síndromes diarréicos agudos de la infancia*. Inmunológica 1982; 4: 203-209.
13. REINA, J.; FIGUEROLA, J.: *Gastroenteritis por adenovirus en pacientes pediátricos: utilidad de la búsqueda rutinaria*. Enf. Infec. y Microbiol. Clin. 1991; 9: 584-585.
14. ORTIZ DE LEJARAZU, R.: *Gastroenteritis víricas*. En: Rozman C., ed. Farreras-Rozman; Medicina Interna. Barcelona, Ediciones Doyma, 1992: 2467-2470.
15. BRANDT, C. D.; ARNDT, C. W.; EVANS, G. L. y cols.: *Evaluation of a latex for rotavirus detection*. J. Clin. Microbiol. 1987; 25: 1800-1802.
16. BELLAMY, K.; GARDNER, P. S.; HANBLING, M. H.; RICE, S.; BRADBURN, A. F.: *Enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of human rotavirus in stools*. J. Virol. Methods 1983; 7: 65-72.
17. DOERN, G. V.; HERRMANN, J. E.; HENDERSON, P.; STOBBS-WALRO, D.; PERRON, D. M.; BLACKLOW, N. R.: *Detection of rotavirus with a new polyclonal antibody enzyme immunoassay (Rotazyme II) and a commercial latex agglutination test (Rotalex): comparison with a monoclonal antibody enzyme immunoassay*. J. Clin. Microbiol. 1986; 23: 226-229.
18. GRANDIEN, M.; PETTERSON, S. A.; SVENSSON, L.; UHNOO, I.: *Latex agglutination test for adenovirus diagnosis in diarrheal disease*. J. Med. Virol. 1987; 23: 311-316.
19. HAMMOND, G. W.; AHLUWALIA, G. S.; HAZELTON, P. R.: *Detection of human rotavirus in fecal specimens by a commercial latex-agglutination test*. J. Infect. Dis. 1984; 149: 1021.
20. HAIKALA, O. J.; KOKKONEN, J. O.; LEINONEN, M. K.; NURMI, T.; MANTYJARVI, R.; SARKKINEN, H. K.: *Rapid detection of rotavirus in stool by latex agglutination: comparison with radioimmunoassay and electron microscopy and clinical evaluation of the test*. J. Med. Virol. 1983; 11: 91-97.
21. MOOSAI, R. B.; ALCOCK, R.; BELL, T. M. y cols.: *Detection of rotavirus by a latex agglutination test rotalex: comparison with electron microscopy, immunofluorescence, polyacrilamide gel electrophoresis and enzyme linked immunosorbent, assay*. J. Clin. Pathol. 1985; 38: 694-700.
22. BALOWS, A.; HAUSLER, W. J.; HERRMANN, K. L.; ISENBERG, H. D.; SHADOMY, H. J., eds.: *Manual of Clinical Microbiology*, 5.ª ed. Nueva York, American Society for Microbiology, 1991.
23. REIPENHOFF-TALTY, M.; SAIF, L. J.; BARRETT, H. J.; SUZUKI, H.; OGRA, P. L.: *Potential spectrum of etiological agents of viral enteritis in hospitalized infants*. J. Clin. Microbiol. 1983; 17: 352-356.
24. REINA, J.; FIGUEROLA, J.; PERICAS, C. N.; MORALES, C.; BLANCO, I.; ALOMAR, P.: *Gastroenteritis por adenovirus entéricos serotipos 40 y 41. Estudio preliminar*. An. Esp. Pediatr. 1989; 31: 54-56.
25. MURPHY, A. M.; ALBREY, M. B.; CREWE, E. B.: *Rotavirus infections of neonates*. Lancet 1977; 2: 1149-1150.
26. PEREZ-SCHAEEL, I.; DAOUD, G.; WHITE, L. y cols.: *Rotavirus shedding by newborn children*. J. Med. Virol. 1984; 14: 127-136.

27. HERRMANN, J. E.: *Viral gastroenteritis*. Clin. Microbiol. Newsl. 1989; 11: 65-68.
28. *Boletín Epidemiológico Semanal*, 1989.
29. BRANDT, C. D.; KIM, H. W.; RODRÍGUEZ, W. J. y cols.: *Pediatric viral gastroenteritis during eight years of study*. J. Clin. Microbiol. 1983; 18: 71-78.
30. KONNO, T.; SUZUKI, H.; KATSUSHIMA, N. y cols.: *Influence of temperature and relative humidity on human rotavirus infection in Japan*. J. Infect. Dis. 1983; 147: 125-128.

Petición de Separatas:

J. I. REGUERA USEROS
Departamento de Microbiología.
Facultad de Medicina.
C/ Ramón y Cajal, 7
47005 VALLADOLID