

Original

Rotavirus G9 es la principal causa de diarrea aguda en niños ingresados menores de 5 años

J.M. MARUGÁN DE MIGUELSANZ¹, M.I. FERNÁNDEZ-NATAL², C. IGLESIAS BLÁZQUEZ¹, H. RODRÍGUEZ POLLÁN², C. CARBAYO LÁZARO¹, M. ROSÓN VARAS¹, M. NEIRA ARCILLA¹, A. SÁNCHEZ-FAUQUIER³

Servicios de ¹Pediatría y ²Microbiología del Complejo Asistencial de León. ³Centro Nacional de Microbiología. Instituto de Salud Carlos III, Madrid

RESUMEN

Objetivos: analizar el perfil etiológico de la diarrea aguda en niños ingresados menores de 5 años, y la distribución de los serotipos de rotavirus en nuestro medio.

Métodos: estudio prospectivo observacional descriptivo llevado a cabo en todos los niños de 1 mes a 5 años de edad, ingresados por diarrea aguda en el Servicio de Pediatría del Hospital de León, entre 15 de enero y 31 de diciembre de 2005. En todos los casos se realizó coprocultivo para bacterias enteropatógenas, y estudio de virus en heces por inmunocromatografía para rotavirus y adenovirus, y enzimoimmunoensayo para astrovirus, y posteriormente por reacción en cadena de la polimerasa a tiempo real (RT-PCR) para rotavirus, analizando con esta última los genotipos G del mismo. Idéntico estudio se llevó a cabo en los casos de diarrea nosocomial.

Resultados: en el período estudiado hubo un total de 1.037 ingresos (excluida la edad neonatal), de los cuales 674 (65%) fueron menores de 5 años. Se incluyeron en el estudio 106 niños: 90 ingresados por diarrea aguda comunitaria (13,3 % de los ingresos en ese grupo de edad), y 16 casos de diarrea nosocomial. En el primer grupo se aisló un patógeno bacteriano en un 13,3% (*Campylobacter* y *Salmonella* a

partes iguales), y en el 43,3% un virus (rotavirus 87,1%, astrovirus 17,9%, y adenovirus 5,1%), con algunos casos de coinfección. Rotavirus se aisló por tanto en un 37,7% de los ingresos por diarrea comunitaria. El único germen aislado en la diarrea nosocomial fue rotavirus, en un 37,5%. Se analizó el tipo G de 26 cepas de rotavirus: G9 57,7%, G1 15,4%, G2 11,5%, G3 11,5%, G4 0, y G9+G3 3,8%.

Conclusiones: rotavirus es la causa más frecuente de diarrea aguda en niños hospitalizados menores de 5 años, siendo responsable de más de un tercio de los casos tanto en la diarrea comunitaria como en la nosocomial. Más de la mitad de los rotavirus aislados mostraban el tipo G9.

Palabras clave: diarrea aguda; etiología; ingreso hospitalario; menores de 5 años; rotavirus.

ABSTRACT

Objectives: analyze the etiological profile of acute diarrhea in hospitalized children under five years of age and the distribution of the rotavirus serotypes in our setting.

Methods: perspective, observational, descriptive study conducted in all the children from one month to five years of age hospitalized due to acute diarrhea in the Pediatrics

Correspondencia: J. M. Marugán de Miguelsanz. Servicio de Pediatría. Complejo Asistencial de León. 24071-León

Correo electrónico: jmmarugan@ono.com

Recibido: septiembre 2006. Aceptado: septiembre 2006

© 2006 Sociedad de Pediatría de Asturias, Cantabria, Castilla y León

Este es un artículo de acceso abierto distribuido bajo los términos de la licencia Reconocimiento-NoComercial de Creative Commons

(<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/2.1/es/>), la cual permite su uso, distribución y reproducción por cualquier medio para fines no comerciales, siempre que se cite el trabajo original.

Department of the Hospital de Leon, between January 15 and December 31, 2005. In all the cases, stool culture was made for enteropathogenic bacteria and the virus study was done in stools by immunochromatography for rotavirus and adenovirus and enzyme immunoassay was done for astrovirus and subsequently by real time polymerase chain reaction (RT-PCR) for rotavirus, analyzing the G genotypes in the latter. An identical study was conducted in the cases of nosocomial diarrhea.

Results: in the period studied, there were a total of 1037 hospital admissions (neonatal age being excluded). A total of 674 (65%) of them were under five years of age. One hundred six children were included in the study: 90 admitted for community acute diarrhea (13.3% of those admitted in this age group), and 16 cases of nosocomial diarrhea. In the first group, a bacterial pathogen was isolated in 13.3% (*Campylobacter* and *Salmonella* equally). In 43.3%, a virus (rotavirus 87.1%, astrovirus 17.9%, and adenovirus 5.1%) was isolated with some cases of coinfection. Thus, rotavirus was isolated in 37.7% of those admitted due to community diarrhea. The only germ isolated in nosocomial diarrhea was rotavirus in 37.5%. The type G of 26 rotavirus strains was analyzed: G9 57.7%, G1 15.4%, G2 11.5%, G3 11.5%, G4 0, and G9+G3 3.8%.

Conclusions: rotavirus is the most frequent cause of acute diarrhea in hospitalized children under five years of age, it being responsible for more than one third of the cases of both community and nosocomial diarrhea. More than half of the rotaviruses isolated had type G9.

Keywords: acute diarrhea; etiology; hospital admission; children under five years; rotavirus.

INTRODUCCIÓN

Aunque la incidencia y gravedad de la diarrea aguda infantil han disminuido drásticamente, continúa representando un problema frecuente, incluso en países desarrollados, y es una causa importante de mortalidad en todo el mundo⁽¹⁻⁵⁾. La diarrea aguda es el tercer motivo de consulta más frecuente después de la fiebre y la tos, tanto en los servicios de urgencia hospitalarios como en los centros de atención primaria⁽⁶⁾. Alrededor de 1 billón de episodios de diarrea aguda ocurren en el mundo cada año en niños, con una media anual de, al menos, 3 procesos en menores de 5 años de edad, según estimaciones

de la OMS⁽⁷⁾. Sin embargo, el uso de soluciones de rehidratación oral ha tenido un significativo efecto sobre la mortalidad en los últimos 20 años, especialmente en países en vías de desarrollo, pasando de 4,5 millones de muertes anuales en 1979 a 1,6 millones en el año 2002.

Las infecciones son la causa de la mayoría de episodios de diarrea aguda esporádica, e inciden más en los 2 primeros años de la vida del niño, por su inmadurez digestiva, metabólica e inmunológica⁽⁸⁾. La diarrea aguda infecciosa puede ser causada por un buen número de agentes bacterianos y protozoos, pero en más del 75% de los casos donde se llega a identificar la causa, son producidas por virus⁽⁹⁾.

La infección por rotavirus es muy común y cabe esperar que todos los niños hayan tenido contacto en una o varias ocasiones con ella a la edad de 4-5 años, especialmente en los 2 primeros, con una tasa de ataque entre los 6 y 24 meses, manifestada con o sin diarrea, entre 0,6-1 episodio/n niño/año, tanto en países industrializados como en vías de desarrollo^(10,11). La clínica característica comienza tras un período de incubación en torno a 48 horas, en general con un debut brusco de fiebre y vómitos, y posteriormente diarrea, mostrando un predominio invernal⁽¹²⁻¹⁴⁾.

Ante la inminente aparición de una vacuna oral efectiva frente a la infección por rotavirus, nos propusimos analizar el perfil etiológico de la diarrea aguda en niños menores de esa edad que son hospitalizados por la misma, y la distribución de los distintos tipos de rotavirus en nuestro medio. Dicha vacuna ha sido ya recientemente comercializada al publicar los resultados del estudio.

Esta investigación forma parte de un estudio multicéntrico llevado a cabo por el Grupo GEGAVI (Grupo Español de Gastroenteritis Virales), coordinado desde el Instituto de Salud Carlos III⁽¹⁵⁾. Se aportan los datos locales referidos al Complejo Asistencial de León.

MATERIAL Y MÉTODOS

Estudio prospectivo observacional descriptivo llevado a cabo en todos los niños mayores de 1 mes y menores de 5 años de edad que ingresaran por diarrea aguda en el Servicio de Pediatría del Hospital de León, entre el 15 de enero y el 31 de diciembre de 2005. Se descartaron por tanto los casos habidos en el período neonatal.

TABLA I. RESULTADOS DEL ESTUDIO MICROBIOLÓGICO

	Sólo bacterias	Sólo virus	Coinfección Rotavirus-Salmonella enteritidis	Estudios negativos	Total
Diarrea comunitaria	10 <i>Campylobacter jejuni</i>6 <i>Salmonella enteritidis</i>4	37 Rotavirus.....28 Astrovirus.....4 Adenovirus....1 Rota+Astro....3 Rota+Adeno...1	2	41	90
Diarrea nosocomial	0	6 Rotavirus.....6	0	10	16
Total	10	43	2	51	106

En todos los casos se recogió una muestra de heces para realizar coprocultivo convencional (estudio de bacterias enteropatógenas: *Salmonella* sp, *Shigella* sp, *Campylobacter* sp, *Yersinia* sp y *Aeromona* sp) y para estudio de virus (rotavirus y adenovirus mediante técnica inmunocromatográfica (Combi Strip™ Fastia diagnostics. Coris Bioccept. Bélgica) y astrovirus mediante técnica cualitativa inmunoenzimática amplificada (Amplified IDEIA™ Astrovirus. DakoCytomation. Dinamarca) en el Servicio de Microbiología de nuestro hospital, y, posteriormente, por reacción en cadena de la polimerasa a tiempo real (RT-PCR) en el Centro Nacional de Microbiología de Majadahonda (Madrid).

En el caso de positividad para rotavirus, se estudiaron los tipos G del mismo también mediante RT-PCR, lo cual se llevó a cabo sólo en las muestras recogidas hasta septiembre de 2005.

Asimismo, se recogió muestra para cultivo y virus en heces en los casos de diarrea nosocomial, definida ésta si la sintomatología diarreica comenzaba, al menos, 48 horas tras el ingreso en planta por otro motivo, o si el niño reingresa por comenzar con diarrea en las primeras 48 horas tras el alta de otro ingreso.

RESULTADOS

Durante el período de tiempo que duró el estudio, hubo un total de 1.037 ingresos en el Servicio de Pediatría, excluyendo la Unidad Neonatal, de los cuales 674 (65 %) fueron menores de 5 años.

Se incluyeron en el estudio un total de 106 niños de 0 a 5 años. De ellos, fueron hospitalizados por diarrea como motivo principal de ingreso 90 niños (13,3% del total de ingresos en ese grupo de edad, y un 8,6% del total de hospitalizaciones pediátricas en ese período). El resto, es decir, 16 casos (15% del total de diarreas estudiadas), fueron diarreas nosocomiales, según los criterios diagnósticos establecidos para la misma.

El estudio de virus en heces se realizó en nuestro laboratorio en la totalidad de muestras, y además por RT-PCR en las primeras 70 de las 106 analizadas.

Los resultados microbiológicos globales de ambos grupos, diarrea comunitaria y diarrea nosocomial, se muestran en la Tabla I.

Dentro del grupo de diarrea comunitaria que motivó ingreso (90 muestras), en un 13,3 % (12 casos) se aisló un patógeno bacteriano, y en un 43,3 % un virus (39 casos), si bien en 2 niños se observó coinfección por rotavirus y *Salmonella enteritidis*. Las infecciones bacterianas se repartieron a partes iguales entre *Campylobacter jejuni* y *Salmonella enteritidis* (6 casos cada una). Por tanto, fue posible reconocer la posible causa de la diarrea en un 54,5 % de los niños menores de 5 años estudiados, y los virus fueron la etiología del 47,4 % de los casos con coprocultivo negativo (37/78).

Entre los virus, identificados en 39 niños, rotavirus fue con mucho el más frecuente, siendo detectado en 34 de ellos (87,1% de los virus), astrovirus en 7 (17,9%), y adenovirus en 2 (5,1%), algunos de ellos en coinfección (Tabla I). Por tanto rotavirus fue la causa más frecuente de diarrea en este

grupo de edad, suponiendo un 37,7 % de los niños ingresados por ese motivo.

En los niños con diarrea nosocomial, rotavirus fue el único patógeno aislado, en 6 de los 16 casos observados (37,5%), siendo el estudio negativo en el resto. Ningún caso de infección nosocomial pudo atribuirse, por lo tanto, a infección bacteriana.

En resumen, el estudio microbiológico no encontró ningún patógeno en 51 de las 106 muestras totales estudiadas (48,1%), siendo negativo en el 45,5% de las diarreas adquiridas en la comunidad y que ingresan por ese motivo, y en el 62,5% de las nosocomiales.

Del total de muestras analizadas para presencia de rotavirus en heces en ambos laboratorios (70 casos), se detectaron 28 rotavirus, 25 por ambas técnicas, y 3 sólo mediante RT-PCR. Considerando a esta técnica como el estándar de referencia, la detección de rotavirus por método inmunocromatográfico en nuestro estudio presentó 3 falsos negativos, pero ningún falso positivo (sensibilidad en este caso: 89,3%, y especificidad 100%).

Se realizó tipaje de 26 de los 28 aislamientos de rotavirus obtenidos diagnosticados por RT-PCR. Los tipos aislados fueron los que se indican en la Tabla II. Más de la mitad de los casos correspondieron a cepas G9 (61,5%), en un caso asociada a G3.

DISCUSIÓN

La diarrea aguda es uno de los motivos más frecuentes de ingreso hospitalario a lo largo de todo el mundo, especialmente en menores de 5 años. En ese grupo de edad, el 13,3% de los ingresos en nuestro estudio fueron motivados por diarrea aguda, en un porcentaje casi idéntico al 13% publicado recientemente en Estados Unidos por el CDC de Atlanta⁽¹⁶⁾.

El número de virus identificados como posibles causantes de diarrea ha ido incrementándose con la mejora de las técnicas diagnósticas^(17,18). El rotavirus es la causa más común de gastroenteritis en niños en todo el mundo, así como de episodios de diarrea grave, con más de 100 millones de casos al año, representa entre el 50 y 70% de todos los ingresos hospitalarios por diarrea aguda infecciosa grave^(9,19), y ocasiona 440.000 muertes al año (el 82% en países en vías de desarrollo)⁽²⁰⁾. El más frecuente es el del grupo

TABLA II. TIPO G DE LOS ROTAVIRUS DETECTADOS

G9	15 / 26	57,7%
G1	4 / 26	15,4%
G2	3 / 26	11,5%
G3	3 / 26	11,5%
G4	0 / 26	0%
G9 + G3	1 / 26	3,8%

A, incide sobre todo entre los 6 y 24 meses de edad⁽²¹⁻²⁴⁾ e infecta prácticamente a todos los niños en los primeros 4-5 años de vida^(2,10). Le siguen en frecuencia astrovirus (4-9%), adenovirus entérico (2-4%) y calicivirus, este último causante de la mayoría de brotes epidémicos en países industrializados^(9,17). Algunas publicaciones indican que coronavirus y torovirus, pueden ser patógenos emergentes en la gastroenteritis viral^(23,25), así como norovirus, que a diferencia de los anteriores, es detectable por métodos inmunoenzimáticos al alcance de laboratorios de Microbiología, incluso de carácter fundamentalmente asistencial⁽²⁶⁾.

La incidencia anual de hospitalizaciones atribuidas a rotavirus se estima en nuestro medio en 12 casos por 10.000 niños menores de 5 años⁽²⁷⁾. Nuestro estudio confirma gran parte de estos datos. En la diarrea aguda que precisa hospitalización en niños menores de 5 años se aisló un patógeno bacteriano en un 13,3 % de los cultivos (*Campylobacter jejuni* y *Salmonella enteritidis*, en el mismo porcentaje), y un agente viral en un 43,3% (fundamentalmente rotavirus, que se aisló en el 37,7% del total de muestras estudiadas). Encontramos que en los pacientes con coprocultivo negativo, casi la mitad de los episodios de diarrea que motivó ingreso en niños menores de 5 años tuvo una etiología vírica.

Rotavirus apareció en asociación con otros patógenos en 6 de los 40 aislamientos del mismo, en 4 casos a otros virus (10% de infecciones por rotavirus) y en 2 a *Salmonella enteritidis* (5%), datos similares a los del estudio conjunto de ámbito nacional⁽¹⁵⁾. El porcentaje de astrovirus (segundo virus más frecuentemente aislado) y adenovirus es similar al referido en la literatura^(9,17). Finalmente, y como ya hemos comentado, un 2,2% del total de diarreas agudas comunitarias presentaba coinfección de rotavirus y *Salmonella*.

Rotavirus muestra un alto grado de diversidad genética, y aunque suele haber predominio de determinados tipos, existen grandes variaciones en la distribución entre diferen-

tes poblaciones y períodos de tiempo analizados, lo que podría tener trascendencia en la elaboración de una vacuna eficaz para el mismo. En nuestro medio los serotipos/ genotipos G de los rotavirus circulantes han sido G1 (publicado previamente como el más común en España) a G4, y más recientemente G9⁽²⁸⁾. En nuestro estudio local existe un claro predominio del tipo G9, responsable de más de la mitad de los casos de diarrea por rotavirus, con mayor presencia aún que en el estudio nacional (61,5% en el estudio de León vs. 43,7% en el estudio conjunto). Los tipos G1, 2 y 3 tuvieron mucha menor relevancia, y el G4 no se aisló en ningún caso.

Aunque en la infección por rotavirus existen formas graves, la mayoría de las infecciones son asintomáticas o con síntomas leves⁽¹⁴⁾, independientemente del tipo o cepa de rotavirus⁽²⁹⁾. Según las series publicadas, la infección asintomática acontece en un 15-50% de las infecciones primarias^(13,29,30), y hasta un 80% en el tercer episodio⁽¹⁰⁾. Existe también por tanto un elevado número de portadores asintomáticos, entre un 1-10 % de la población general^(14,31), con cifras muy superiores durante las epidemias de rotavirus. Esto contribuye a la diseminación del virus, siendo un eslabón importante en la cadena de transmisión de la infección, tanto en el ámbito hospitalario (infección nosocomial) como en la comunidad infantil (domicilio, guarderías, escuelas)^(29,30). El rotavirus es el agente etiológico más frecuente en la diarrea nosocomial pediátrica (31-87% de los casos), suponiendo en nuestro estudio el único agente aislado, responsable de más de un tercio de los episodios analizados de diarrea nosocomial.

Globalmente, incluyendo la diarrea comunitaria y nosocomial, nuestro porcentaje de detección de rotavirus en el total de muestras estudiadas fue menor que los resultados nacionales globales, donde este virus fue hallado en el 57,8% de las muestras estudiadas, por un 37,7% en nuestro caso. Esas diferencias no parecen explicarse por problemas metodológicos, dada la elevada fiabilidad de las técnicas no moleculares utilizadas en su detección, procedimiento exclusivo en un tercio de las muestras, sino que seguramente serán atribuibles a otros factores no controlados, por ejemplo geográficos o climáticos, sociosanitarios, demográficos, o relacionados con criterios de ingreso hospitalario. Las técnicas no moleculares son eficientes, rápidas y baratas en la detección de agentes virales causantes de gastroenteritis, aunque las técnicas más caras y complejas de TR-PCR tienen la ventaja de poder identificar el genotipo del virus, con fines epidemiológicos.

Para prevenir la enorme morbimortalidad del rotavirus se ha acelerado el desarrollo de una vacuna eficaz, sin el mayor riesgo de invaginación intestinal que se detectó con la primera comercializada en 1999 y que tuvo que ser retirada por dicho motivo. Tras amplios ensayos clínicos recientemente publicados, existen ya en la actualidad en el mundo dos vacunas orales de virus atenuado, altamente eficaces en la prevención de diarrea grave y seguras en relación a la aparición de invaginación intestinal, una comercializada en América^(32,33), y otra en Europa, disponible ya en nuestro país desde julio de 2006⁽³⁴⁾, aún de precio elevado, y consistente en dos dosis administradas en torno a los 2 y 4 meses de edad.

La puesta en práctica de una campaña de vacunación masiva para la prevención de la infección por rotavirus, a través de su inclusión en el calendario vacunal, debería producir efectos apreciables ya en un período de 2-3 años⁽³⁵⁾, reduciendo especialmente sus formas graves, la incidencia de infección nosocomial, y el costo asociado a la hospitalización y visitas médicas en el mundo desarrollado, así como disminuir drásticamente la mortalidad por diarrea en lactantes en los países en vías de desarrollo.

BIBLIOGRAFÍA

1. Guandalini S. Acute diarrhea. En: W.A. Walker et al. (eds.). *Pediatric Gastrointestinal Disease*, fourth edition. BC Decker: Hamilton, Ontario; 2004. p. 167-179.
2. Román Riechmann E, Barrio Torres J. Diarrea aguda. En: *Protocolos diagnósticos y terapéuticos en Pediatría*, vol. 5, Gastroenterología, Hepatología, Nutrición. Bilbao: Ed. Asociación Española de Pediatría, 2003. p. 19-26.
3. Walker-Smith JA. Advances in the management of gastroenteritis in children. *Br J Hosp Med* 1992; **48**: 582-5.
4. WHO/UNICEF. Diarrhoea Treatment Guidelines. http://www.who.int/child-adolescent-health/New_Publications/CHILD_HEALTH/Diarrhoea_guidelines.pdf
5. Podewils LJ, Mintz ED, Nataro JP, Parashar UD. Acute, infectious diarrhea among children in developing countries. *Semin Pediatr Infect Dis* 2004; **15**: 155-68.
6. Aranda-Michel J, Giannella RA. Acute diarrhea: A practical review. *Am J Med* 1999; **106**: 670-6.
7. World Health Organization: *The safe of the world's children*. Geneva: WHO, 1995.
8. Calvo Romero C, Marugán de Miguelsanz JM. Diarrea aguda. En: *Sociedad Española de Gastroenterología, Hepatología y Nutrición Pediátrica* (ed.). *Tratamiento en Gastroenterología, Hepatología y Nutrición pediátrica*. Madrid: Ergon, 2003. p. 67-78.

9. Goodgame RW. Viral causes of diarrhea. *Gastroenterol Clin North Am* 2001; **30**: 779-95.
10. Velázquez FR, Matson DO, Calva JJ, Guerrero L, Morrow AL, Carter-Campbell S, et al. Rotavirus infections in infants as protection against subsequent infections. *N Engl J Med* 1996; **335**: 1022-8.
11. Fischer TK, Valentiner-Branth P, Steinsland H, Perch M, Santos G, Aaby P, et al. Protective immunity after natural rotavirus infection: a community cohort study of newborn children in Guinea-Bissau, west Africa. *J Infect Dis* 2002; **186**: 593-7.
12. Marugán de Miguelsanz JM, Calvo Romero C. Diarrea aguda. En: C.A. Velasco Benítez (ed.), *Enfermedades digestivas en niños*, 2ª ed. Cali (Colombia): Programa Editorial Universidad del Valle, 2006. p. 39-62.
13. Gianino P, Mastretta E, Longo P, Laccisaglia A, Sartore M, Russo R et al. Incidence of nosocomial rotavirus infections, symptomatic and asymptomatic, in breast-fed and non-breast-fed infants. *J Hosp Infect* 2002; **50**: 13-17.
14. Bass DM, Estes MK. Viral infections. En: WA Walker et al. (eds), *Pediatric Gastrointestinal Disease*, fourth edition. Hamilton, Ontario: BC Decker Inc, 2004. p. 666-706.
15. Sánchez-Fauquier A, Montero V, Moreno S, Iturriza M, Revilla A, Alonso A, et al. The changing epidemiology of rotavirus in spanish children: G9 and G3 as a major cause of diarrhoea in hospitalized children. 24th Annual Meeting of the European Society for paediatric infectious diseases- ESPID. Basel, Switzerland, May 3-5, 2006. <http://www.kenes.com/espид2006/program/ViewAbstract.asp>
16. Malek MA, Curns AT, Holman RC, Fischer TK, Bresee JS, Glass RI, et al. Diarrhea- and rotavirus-associated hospitalizations among children less than 5 years of age: United States, 1997 and 2000. *Pediatrics* 2006; **117**: 1887-92.
17. Clark B, McKendrick M. A review of viral gastroenteritis. *Curr Opin Infect Dis* 2004; **17**: 461-9.
18. Eiros Bouza J, Bachiller Luque M, Ortiz de Lejarazu R. Emergent riboviruses implicated in gastroenteritis. *An Esp Pediatr* 2001; **54**: 136-44.
19. Waters V, Ford-Jones EL, Petric M, Fearon M, Corey P, Moindein R. Etiology of community-acquired pediatric viral diarrhea: a prospective longitudinal study in hospitals, emergency departments, pediatric practices and child care centers during the winter rotavirus outbreak, 1997 to 1998. The Pediatric Rotavirus Epidemiology Study for Immunization Study Group. *Pediatr Infect Dis J* 2000; **19**: 843-8.
20. Pan American Health Organization, Family and Comunitary Health Area, Immunization Unit. Regional Meeting of the implementation of Rotavirus Epidemiological Surveillance: Generating Information for decision-making. Washington: PAHO, 2003.
21. Dennehy PH. Rotavirus vaccines: an update. *Curr Opin Pediatr* 2005; **17**: 88-92.
22. Rosenfeldt V, Vesikari T, Pang XL, Zeng SQ, Tvede M, Paerregaard A. Viral Etiology and Incidence of Acute Gastroenteritis in Young Children Attending Day-Care Centers. *Pediatr Infect Dis J* 2005; **24**: 962-5.
23. Wilhelmi I, Roman E, Sánchez-Fauquier A. Viruses causing gastroenteritis. *Clin Microbiol Infect* 2003; **9**: 247-62.
24. Katyal R, Rana SV, Singh K. Rotavirus infections. *Acta Virol* 2000; **44**: 283-8.
25. Koopmans MP, Goosen ES, Lima AA, McAuliffe IT, Nataro JP, Barrett LJ, et al. Association of torovirus with acute and persistent diarrhea in children. *Pediatr Infect Dis J* 1997; **16**: 504-7.
26. Dimitriadis A, Marshall JA. Evaluation of a commercial enzyme immunoassay for detection of norovirus in outbreak specimens. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2005; **24**: 615-8.
27. Gil de Miguel A, Carrasco Garrido P, Esteban Hernández J, San-Martín Rodríguez M, González López A. Ingresos hospitalarios atribuibles a rotavirus en niños de la Comunidad de Madrid, período 1999-2000. *An Pediatr (Barc)* 2006; **64**: 530-5.
28. Sánchez-Fauquier A, Wilhelmi I, Colomina J, Cubero E, Roman E. Diversity of group A human rotavirus types circulating over a 4-year period in Madrid, Spain. *J Clin Microbiol* 2004; **42**: 1609-13.
29. Gleizes O, Desselberger U, Tatochenko V, Rodrigo C, Salman N, Mezner Z, et al. Nosocomial rotavirus infection in European countries: a review of the epidemiology, severity and economic burden of hospital-acquired rotavirus disease. *Pediatr Infect Dis J* 2006; **25** (suppl. 1): S12-S21.
30. Roman Riechmann E, Wilhelmi de Cal, I, Cilleruelo Pascual ML, Calvo Rey C, Garcia Garcia ML, Sánchez-Fauquier A. Gastroenteritis aguda nosocomial e infección asintomática por rotavirus y astrovirus en niños hospitalizados. *An Pediatr (Barc)* 2004; **60**: 337-43.
31. Barnes GL, Callaghan SL, Kirkwood CD, Bogdanovic-Sakran N, Johnson LJ, Bishop RF. Excretion of serotype G1 rotavirus strains by asymptomatic staff: a possible source of nosocomial infection. *J Pediatr* 2003; **142**: 722-5.
32. Vesikari T, Matson DO, Dennehy P, Van Damme P, Santosham M, Rodriguez Z, et al. for the Rotavirus Efficacy and Safety Trial (REST) Study Team. "Safety and efficacy of a pentavalent human-bovine (WC3) reassortant rotavirus vaccine". *N Engl J Med* 2006; **354**: 23-33.
33. Vesikari T, Karvonen AV, Majuri J, Zeng SQ, Pang XL, Kohberger R, et al. Safety, Efficacy, and Immunogenicity of 2 Doses of Bovine-Human (UK) and Rhesus-Rhesus-Human Rotavirus Reassortant Tetravalent Vaccines in Finnish Children. *J Infect Dis* 2006; **194**: 370-6.
34. Ruiz-Palacios GM, Perez-Schael I, Velázquez FR, Abate H, Breuer T, Clemens SC, et al. for the Human Rotavirus Vaccine Study Group. "Safety and efficacy of an attenuated vaccine against severe rotavirus gastroenteritis". *N Engl J Med* 2006; **354**: 11-22.
35. Glass RI, Parashar UD, Bresee JS, Turcios R, Fischer TK, Widdowson MA, et al. Rotavirus vaccines: current prospects and future challenges. *Lancet* 2006; **368**: 323-32.