

# Recuperación fecal de Rotavirus y otros enteropatógenos en lactantes menores de un año con diarrea aguda

Dr. José Zacarías S.<sup>1</sup> Dr. Eugenio Spencer O.<sup>2</sup> (PhD); Dra. Valeria Prado J.<sup>3</sup> Dr. Pedro Herskovic L.<sup>4</sup> Dr. Jacob Cohen V.<sup>3</sup> Dra. Soledad Tagle V.<sup>5</sup> Dr. Guillermo Cienfuegos S.<sup>5</sup> Dra. Magdalena Araya Q.<sup>6</sup> (PhD)

## FECAL ISOLATION OF ROTAVIRUS AND OTHER ENTEROPATHOGENES IN INFANTS WITH ACUTE DIARRHEA

Fecal identification of rotavirus, *Salmonella*, *Shigella*, *Escherichia coli* (classis serotypes and invasiveness), and parasites was carried out in infants admitted for acute diarrhea during winter 1980 (Period I, N = 40) and summer 1980-81 (Period II, N = 38). Rotavirus was detected in 10% and 5.3% of fecal samples during Period I and II respectively. Bacterial recovery was 38.5% and 60.5% in the same periods. *Giardia lamblia* was not detected and *Entamoeba histolytica* was found in one case (Period II). Clinical presentation of diarrhea was similar to that described in the literature. It was not possible to identify those patients excreting rotavirus in their feces by clinical parameters.

La diarrea aguda constituye un problema de salud frecuente en nuestro país. La capacidad para identificar los diversos tipos de agentes patógenos que posee el servicio asistencial que recibe al enfermo con esta condición determina, en la práctica, el criterio de tratamiento a seguir con el paciente. Por otra parte, el manejo clínico más o menos acertado hace que la evolución del cuadro se acorte o se alargue y que el impacto nutricional en el individuo sea de mayor o menor importancia.

Nuevas tecnologías desarrolladas en la década del 70 han permitido identificar algunos virus capaces de producir diarrea aguda en el humano.<sup>1-6</sup> Entre estos, los rotavirus parecen ser los de mayor importancia epidemiológica.<sup>7-10</sup> Se les ha encontrado en todos los países en que se han buscado y son los virus aislados con mayor frecuencia en las heces de sujetos con diarrea aguda. La incidencia de diarrea por rotavirus varía de un país a otro y en las distintas estaciones del año, siendo más fre-

cuentes durante las estaciones frías y húmedas.<sup>7-10</sup> En Canadá, Australia y Estados Unidos de Norteamérica se ha aislado rotavirus en el 50 a 80% de los pacientes hospitalizados por diarrea aguda durante los meses de invierno.<sup>7, 11, 12</sup> Existe escasa información respecto al cono Sur de nuestro continente. Muchnik y col.<sup>13-14</sup> en Argentina aislaron rotavirus en el 30 y 32% de los casos de diarrea estudiados en invierno de 1979 y 1980 respectivamente. En Chile, Calderón y col.<sup>15</sup> obtuvieron aislamientos positivos en 40% de las muestras fecales de niños hospitalizados por diarrea aguda durante los meses de invierno de 1979 en el Area Norte de Santiago.

El objetivo de este trabajo fue:

- A) Medir y comparar la frecuencia de aislamiento de rotavirus en niños hospitalizados por diarrea aguda durante un invierno (1980) y un verano (1980-81).
- B) En el mismo grupo de pacientes, comparar la frecuencia con que se detecta rotavirus y/o agentes bacterianos y parasitarios, y
- C) Caracterizar algunos aspectos clínicos de la diarrea aguda asociada a rotavirus.

## PACIENTES Y PROCEDIMIENTOS

### Pacientes:

Se estudiaron los lactantes menores de un año que ingresaron a la Unidad de Lactantes del Hospital Luis Calvo Mackenna con diagnóstico de

<sup>1</sup>Jefe Servicio de Pediatría, Hospital Luis Calvo Mackenna.

<sup>2</sup>Jefe Unidad de Virología, Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos (INTA), U. de Chile.

<sup>3</sup>Unidad de Microbiología, División Ciencias Médicas Oriente, Universidad de Chile y Servicio de Pediatría Hospital Luis Calvo Mackenna.

<sup>4</sup>Laboratorio de Referencia de Parasitología, Instituto de Salud Pública de Chile.

<sup>5</sup>Médico Becario, Hospital Luis Calvo Mackenna.

<sup>6</sup>Unidad de Gastroenterología, Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos (INTA), U. de Chile.

diarrea aguda y sin tratamiento antibiótico previo, durante los meses de julio, agosto y septiembre de 1980 (Período I) y durante noviembre, diciembre 1980 y enero 1981 (Período II).

#### Procedimientos:

En todos estos casos se obtuvieron datos de anamnesis, lugar (comuna) de procedencia, edad, sexo, estado nutricional, días de evolución previos a la hospitalización, requerimientos de hidratación parenteral, duración de la hospitalización y características clínicas del cuadro: frecuencia y aspectos de las heces, presencia de vómitos, fiebre y dolor abdominal y síntomas clínicos de intolerancia a lactosa lo que se documentó con medición de pH fecal y reacción de Benedict con y sin hidrólisis previa.

#### Estudios Viroológicos:

Se recolectaron las heces emitidas en horas del día durante los dos o tres primeros días de hospitalización y se formó con ellas un "pool", del que se tomaron dos alícuotas que fueron usadas para aislar el RNA viral mediante la técnica de electroforesis en gel de agarosa/acrilamida.<sup>16-17</sup>

#### Estudio Bacteriológicos:

Se obtuvo una muestra diaria de heces directamente del recto con una tórula estéril durante los dos primeros días de hospitalización. Estas se transportaron en medio de Cary Blair al laboratorio, donde se sembraron en agar SS y Mckonkey. Se estudiaron 5 colonias por placa desde el punto de vista bioquímico y serológico según técnicas de rutina<sup>18</sup> para detectar Salmonella, Shigella, y

Escherichia coli enteropatógeno (serotipos clásicos y capacidad invasiva). Las cepas de E. coli invasivas se detectaron por medio del test de Sereny.<sup>19</sup>

#### Estudios Parasitológicos:

Se obtuvieron tres muestras de heces por medio de una sonda rectal y se procesaron por el método de PAFS<sup>20-21</sup> para pesquisar quistes y/o trofozoitos de parásitos y comensales y huevos de helmintos. Cada estudio fue realizado por dos observadores, de manera independiente y sin conocimiento de la identidad del sujeto analizado.

## RESULTADOS

Se estudió un total de 40 niños en el Período I y 38 en el Período II. Provenían de las comunas que atiende el Hospital y la distribución geográfica y temporal de los casos no sugirió que existieran brotes epidémicos durante el período de estudio.

El aislamiento de agentes virales, bacterianos y parasitarios se muestra en la Tabla 1. Se detectó rotavirus en el 10% (4 niños) y 5.3% (2 niños) de los casos estudiados en los Períodos I y II respectivamente. La búsqueda de Salmonella, Shigella y Escherichia coli (serotipos clásicos e invasivos) fue positiva para al menos uno de estos agentes en 38.5% y 60.5% de los casos estudiados en los Períodos I y II respectivamente. Las cepas de las especies bacterianas identificadas se detallan en la Tabla 2. No se encontraron parásitos en el Período I. En el Período II se identificó Entamoeba histolítica en un caso.

Tabla 1

Aislamiento de enteropatógenos virales, bacterianos y parasitarios en lactantes hospitalizados por diarrea aguda. Invierno (Período I), Verano (Período II).

| ENTEROPATOGENOS AISLADO | PERIODO I           | PERIODO II          |
|-------------------------|---------------------|---------------------|
| Rotavirus               | 4 (10%)<br>N = 40   | 2 (5.3%)<br>N = 38  |
| Bacterias               | 15 (38.5)<br>N = 39 | 23 (60.5)<br>N = 38 |
| Parásitos               | 0<br>N = 40         | 1 (3.5%)<br>N = 29  |

Tabla 2

Bacterias enteropatógenas en deposiciones de niños hospitalizados por diarrea aguda Invierno (Período I) Verano (Período II)

| BACTERIAS ENTEROPATOGENAS    | PERIODO I<br>(N = 39) | PERIODO II<br>(N = 38) |
|------------------------------|-----------------------|------------------------|
| — E.C.E.P.*<br>Clásico       | 15 (38.5%)            | 14 (36.8%)             |
| Escherichia coli<br>0111 B4  | 13 (86.7%)            | 13 (92.8%)             |
| Escherichia coli<br>055 B5   | (— — — —)             | 1 (7.2%)               |
| Escherichia coli<br>086      | 1 (6.6%)              | (— — — —)              |
| Escherichia coli<br>0111 B25 | 1 (6.6%)              | (— — — —)              |
| — E.C.E.P.*<br>Invasivo      | (— — — —)             | 1 (4.4%)               |
| — Shigella flexnerii         | (— — — —)             | 2 (8.7%)               |
| — Shigella sonnei            | (— — — —)             | 2 (8.7%)               |
| — Salmonella<br>Typhimurium  | (— — — —)             | 4 (17.4%)              |
| <b>TOTAL</b>                 | <b>15</b>             | <b>23</b>              |

\*E.C.E.P.: Escherichia coli enteropatógenos.

Las distribuciones por sexo y edad aparecen en la Tabla 3. El 82% del total de los casos eran menores de 6 meses y un 50% menores de 3 meses, en ambos períodos. El estado nutricional de los niños se muestra en la Tabla 4. No se encontraron diferencias significativas entre los casos estudiados en ambos períodos. El 62.5% (Período I) y el 77.1% (Período II) de los niños fueron eutróficos o tenían grados mínimos de desnutrición. En los mismos períodos, 20% y 11.3% tenían desnutrición grado III. De los 6 pacientes en que se aisló

rotavirus en dos había desnutrición grado I, uno tenía desnutrición grado II y uno grado III.

La duración de la evolución previa a la hospitalización fue de 1 a 17 días en el grupo estudiado. En todos los casos en que se encontró rotavirus la enfermedad tenía menos de una semana de evolución. El tiempo de hospitalización varió entre 3 y 31 días en los niños del Período I y entre 3 y 76 días en el Período II. En los seis niños en que se aisló rotavirus la hospitalización duró menos de una semana.

Tabla 3

Distribución por sexo y edad de lactantes hospitalizados por diarrea aguda durante el invierno 1980 (Período I) y verano 1980-1981 (Período II).

| PERIODOS DE ESTUDIOS   | SEXO   |       | EDAD (meses) |       |       |      |
|------------------------|--------|-------|--------------|-------|-------|------|
|                        | MASC.* | FEM.† | 1-3          | 3-6   | 6-9   | 9-12 |
| PERIODO I<br>(N = 40)  | 52.8%  | 47.5% | 47.5%        | 35%   | 12.5% | 5%   |
| PERIODO II<br>(N = 38) | 54.5%  | 45.5% | 54.5%        | 27.2% | 11.3% | 3%   |

\*Masculino  
†Femenino

**Tabla 4**

Estado nutricional de lactantes hospitalizados por diarrea aguda durante el invierno 1980 (Período I) y verano 1981 (Período II).

| ESTADO NUTRITIVO          | PERIODO I<br>(N = 40) | PERIODO II<br>(N = 38) |
|---------------------------|-----------------------|------------------------|
| Obesidad                  | (--)                  | 2.2%                   |
| Eutrofia                  | 45%                   | 54.5%                  |
| Desnutrición<br>Grado I   | 17.5%                 | 20.4%                  |
| Desnutrición<br>Grado II  | 17.5%                 | 11.3%                  |
| Desnutrición<br>Grado III | 20%                   | 11.3%                  |

Al estudiar las características clínicas de los seis casos con rotavirus se encontró que: todos tuvieron deposiciones líquidas y mucosas, con una frecuencia diaria de 1 a 6 evacuaciones. Un caso tuvo vómitos, otro fiebre y uno intolerancia clínica a la lactosa. No había diferencias entre las características clínicas de los pacientes en que se aisló rotavirus de sus deposiciones y aquellos en que se identificó otros enteropatógenos.

Todos los niños recibieron hidratación parenteral por períodos variables de tiempo. Los seis pacientes con rotavirus requirieron de uno a tres días de hidratación parenteral, excepto un caso en que el tratamiento debió prolongarse por cinco días. En el período total de estudio se efectuaron 34 diagnósticos adicionales, que se agregaron al de ingreso con posterioridad a este estudio: 13 durante el Período I y 21 en el Período II. Estos diagnósticos fueron: Otitis media aguda (N = 13), sarna (N = 1), bronconeumonía (N = 13), meningitis viral (N = 1), artritis (N = 1), onfalitis (N = 1), microcefalia (N = 1), candidiasis oral (N = 1), infección urinaria (N = 2). La relación entre diarrea y entidad o intercorrelación asociada no quedó establecida en el estudio. Ningún paciente infectado con rotavirus tuvo enfermedades agregadas ni intercorrelaciones.

#### DISCUSION

Los resultados muestran que en el invierno de 1980 se detectó rotavirus en el 10% de los niños

hospitalizados por diarrea aguda en el servicio de Lactantes del Hospital L. Calvo Mackenna. Este porcentaje fue significativamente menor que el encontrado el año anterior por Calderón y col. en el mismo tipo de pacientes en otro hospital de Santiago.<sup>15</sup> No existen estudios nacionales previos que comuniquen cifras de detección del virus en períodos estivales. En un trabajo de terreno llevado a cabo paralelamente a éste, Araya y col.<sup>22</sup> encontraron que 12% de los niños con diarrea aguda investigados entre los meses de diciembre 1980 enero y febrero 1981 tenían rotavirus en las deposiciones. Ninguno de ellos requirió hospitalización. En ambos estudios la detección del virus se realizó usando el mismo método y laboratorio.

Analizando las características de los niños hospitalizados se observa que en un cierto número de ellos (12 de 40 y 11 de 38 en los Períodos I y II respectivamente) se hizo el diagnóstico de diarrea aguda en el hospital después de 7 a 17 días de evolución previa en casa. Una de las características clínicas descritas por diversos autores<sup>7, 8, 12, 23</sup> en la diarrea asociada a rotavirus es que es profusa, y que puede llevar a la deshidratación rápidamente. La excreción fecal del virus dura entre 48 y 72 horas, de manera que resulta improbable que mediante las técnicas en uso se detecte virus en las heces de niños que se hospitalizan después de una semana de evolución. Si este argumento es correcto y calculamos la incidencia de detección viral solamente entre los niños que se hospitalizaron durante la primera semana de evolución, resulta que 13,8% (4 de 29) y 7,4% (2 de 27) elimina-

ban el agente en las heces durante los Períodos I y II respectivamente. Aún haciendo esta corrección, la incidencia observada es menor que la encontrada por Calderón y col. en el invierno anterior y por Araya y col. en el estudio de terreno antes mencionado. Por otro lado, las diferencias observadas pueden ser reales: Estudios efectuados en Canadá a lo largo de varios años consecutivos<sup>8</sup> muestran que tanto las incidencias mensuales como las anuales varían considerablemente en el tiempo.

El aislamiento de enteropatógenos bacterianos fue comparable al obtenido en el mismo hospital en estudios efectuados en años anteriores. Entre las especies bacterianas identificadas, *Escherichia coli* (serotipos clásicos) tuvo el más alto porcentaje de recuperación (Tabla 1), con amplio predominio del serotipo 0111 B4, que se detectó en 13 de los 15 casos en que se aisló esta bacteria (Tabla 2). Destacamos el aislamiento de un *E. coli* invasivo, que demuestra la existencia de estas cepas en nuestro medio, pero con una incidencia baja. El aislamiento de *Shigella* estuvo bajo lo habitual. (Tabla 2).

En niños que asistían a la Sala Cuna y Jardín Infantil de dos Hospitales de Santiago, Noemi y col. (1975) encontraron que la incidencia de identificación de enteroparásitos en las heces variaba entre 20% y 68%, dependiendo de la edad del grupo estudiado. Siete (20%) de los lactantes menores de un año incluidos en dicho estudio eliminaban *Giardia lamblia* en las deposiciones. Siendo éste el único parásito encontrado. En el estudio cuyos resultados presentamos no se detectó *Giardia lamblia* en ningún paciente. Sólo se encontró un niño que excretaba *Entamoeba histolítica* (Período II). Las técnicas usadas para identificar a los parásitos fueron las que se emplean rutinariamente en el laboratorio de Parasitología del Hospital. Durante el período de estudio, la positividad de los exámenes analizados por el mismo laboratorio en muestras provenientes de pacientes ajenos a este protocolo, no varió respecto a lo habitual. Esto hace altamente improbable que los resultados obtenidos se deban a errores de técnica.

Es difícil comentar las características clínicas del cuadro presentado por los niños en que se aisló rotavirus de sus deposiciones, ya que fueron sólo seis. En general, los episodios se observaron tanto en niños eutróficos como con desnutrición. Cuatro de los seis eran menores de seis meses. Todos tuvieron un aumento apreciable del conte-

nido acuoso de las heces. En todos ellos la recuperación fue rápida. Todas estas características coinciden con lo publicado en la literatura.<sup>7</sup> Sin embargo, contrariamente a lo descrito, sólo un caso desarrolló intolerancia clínica a la lactosa.

Este estudio muestra que en nuestro medio los casos de diarrea aguda, asociados a rotavirus cursan con síntomas y evolución semejantes a los descritos en otros países.<sup>1-14</sup> La frecuencia de detección del agente viral fue significativamente mayor durante la estación fría y húmeda, lo que está de acuerdo con lo descrito en otros países de clima templado. La incidencia de diarrea aguda asociada a este virus puede variar considerablemente de un año a otro, en los casos en que ella es baja las diarreas agudas asociadas a enteropatógenos bacterianos representan un problema más frecuente, incluso durante los meses de invierno.

## RESUMEN

Se midió la recuperación fecal de rotavirus, enterobacterias *Salmonella*, *Shigella*, *Escherichia coli* (serotipos clásicos e invasivos), y enteroparásitos en los lactantes menores de un año que se hospitalizaron con diagnóstico de diarrea aguda en el Hospital Calvo Mackenna durante el invierno 1980 (Período I, N = 40) y durante el verano 1980-81 (Período II, N = 38). Se obtuvo 10% y 5.3% de recuperación fecal del virus en los Períodos I y II respectivamente. La detección de las enterobacterias mencionadas fue 38.5% y 60.5% en los dos períodos de estudio. No se detectó *Giardia lamblia* y se encontró un caso que excretaba *Entamoeba histolítica* (Período II). Las características clínicas de la diarrea presentada por los pacientes en que se pesquisó rotavirus fue semejante a la descrita en la literatura y no permitió diferenciar a estos sujetos de aquellos en que se identificó bacterias enteropatógenas en sus deposiciones.

## REFERENCIAS

- 1 Bishop R.F., Davidson G.P., Holmes I.H., Ruck B.J. Virus particles in epithelial cells of duodenal mucosa from children with acute non-bacterial gastroenteritis. *Lancet* II, 1281-1283, 1973.
- 2 Bishop R.F., Davidson G.P., Holmes I.H., Ruck B.J. Detection of a new virus by electron microscopy of faecal extracts from children with acute gastroenteritis. *Lancet* I, 149-151, 1974.
- 3 Flewett I.W., Bryden A.S., Davies H., Woode G.N., Bridger J.C., Derrick J.M. Relation between viruses from acute gastroenteritis of children and newborn calves. *Lancet* II, 61-63, 1974.

- 4 *Flewett T.W., Boxall E.* The search for viruses in the gastrointestinal tract. *Clinics in Gastroenterology* 5 (2) 359-385, 1976.
- 5 *Dolin R., Blacklow N.R., Du Pont H., Buscho R.F., Wyatt R.G., Kasel J.A., Hornick R., Chanock R.M.* Biological properties of Norwalk agent of acute infections non-bacterial gastroenteritis. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 140, 578-583, 1972.
- 6 *Greenberg H.B., Wyatt R.G., Kalica A.R.* Role of Norwalk virus in outbreaks of non-bacterial gastroenteritis. *J. Infect Dis.* 139, 564-568, 1979.
- 7 *Blacklow N.R., Cukor G.* Viral gastroenteritis. *N. Engl. J. Med.* 304 (7) 397-406, 1981.
- 8 *Kapikian A.Z., Kim H.W., Wyatt, R.G.* Human reo-like agent as the major pathogen associated with "winter" gastroenteritis in hospitalized infants and young children. *N. Engl. J. Med.* 294, 965-972, 1976.
- 9 *Davidson G.P., Bishop R.F., Townley R.R.W., Holmes I.H., Ruck B.J.* Importance of a new virus in acute sporadic enteritis in children-Lancet I, 242-246, 1975.
- 10 *Bryden A.S., Davies H.A., Hadley R.E., Flewett, T.H., Morris C.A., Oliver P.* Rotavirus enteritis in the West Midlands during 1974. *Lancet*, 2, 241-242, 1975.
- 11 *Davidson G.P., Gall D.G., Petric M., Butler D.G., Hamilton J.R.* Human rotavirus enteritis induced in conventional piglets. *J. Clin. Invest.* 60, 1402-1409, 1977.
- 12 *Gall D.G., Hamilton J.R.* Infectious diarrhea in infants and children. *Clinics in Gastroenterology* 6 (2), 431-443, 1977.
- 13 *Muchnik G.E., Grinstein S., Plaza A., Valli R.* Gastroenteritis infantil por rotavirus. *Proc. XVII Reunión Anual en la Sociedad Latinoamericana de Investigaciones Pediátricas (SLAIP)*, N.º 38, 7-11 noviembre, Iguazú, Argentina, 1979.
- 14 *Muchnik G.R., Grinstein S., Plaza A.* Dos años de estudio epidemiológico de la asociación rotavirus-gastroenteritis infantil. *Proc. XVIII Reunión Anual de la Sociedad Latinoamericana de Investigaciones Pediátricas (SLAIP)*, N.º 18, 2-6 noviembre, Cuarajuá, Brasil, 1980.
- 15 *Calderón A., Macaya J., Avendaño L.F., Prenzel I., Ojeda J.M., Duarte E.* Diarrea aguda por rotavirus: algunos aspectos clínicos. *Rev. Chil. Ped.* 51 (2), 113-116, 1980.
- 16 *Espejo R.T., Calderón E., González N.* Distinct reovirus-like agents associated with acute infantile gastroenteritis. *J. Clin. Microbiol.* 6, 502, 1977.
- 17 *Spencer E., Arias M.L.* Studies of "in vitro" transcription catalyzed by heat-treated human rotavirus. *Journal of virology*: 1981. En Imprinta.
- 18 *Lenette E.H., Spalding E.H., Trunant J.P.* Manual of clinical microbiology 2nd E. American Society for Microbiology, Washington, D.C. 1974.
- 19 *Sereny B.* Biochemical reactions and virulence of E. Coli 0124: K72 (B17). *Acta microbiol. Acad. Sci. Hung.* 10: 11-18, 1963.
- 20 *Torres P., Navarrete N.* Comparación entre los métodos del fijador PAFS y del Telemán Modificado en el diagnóstico de protozoos intestinales del hombre. *Bol. Chil. Parasitol.* 27, 90-95, 1972.
- 21 *Sagua H., Subiabre V., Torres P., Puga S., Arias B.* Análisis comparativo del rendimiento del fijado PAFS con referencia al método del fijado con alcohol polivinílico, en el diagnóstico de protozoos y helmintos intestinales. *Bol. Chile, Parasit.* 28: 58-60, 1973.
- 22 *Araya M., Brunser O., Espinoza J., Figueroa G., Montecinos N., Spencer E.* Etiología de la enfermedad diarreica aguda. Estudio en terreno. XIX Reunión Anual de la Sociedad Latinoamericana de Investigaciones Pediátricas. (SLAIP), N.º 4 1-4 noviembre Quito-Ecuador, 1981.
- 23 *Infectious diarrhea: Clinical implications of recent research.* J.R. Hamilton. *CMA Journal*, 122, 29-31, 1980.