



**Infecciones
gastrointestinales víricas y
genotipos más frecuentes
de Rotavirus en el Sector
Sanitario 3 de Zaragoza
Viral gastrointestinal
infections and most
common Rotavirus
genotypes in the Health
Sector 3 of Zaragoza**

**Junio, 2016
Departamento de
microbiología,
medicina
preventiva y salud
pública.
Área de
microbiología**

Realizado por: Graciela Elisenda Bagüeste Morán
Bajo la dirección de la doctora Cristina Seral García

**Universidad
de Zaragoza
Facultad de
medicina**

Índice

| | |
|---|-----------|
| Resumen | 1 |
| Introducción..... | 3 |
| ROTAVIRUS..... | 3 |
| -Características..... | 3 |
| -Epidemiología..... | 4 |
| -Mecanismos de replicación y transmisión..... | 4 |
| -Patogenia e inmunidad | 4 |
| -Clínica | 4 |
| -Detección y diagnóstico | 5 |
| -Tratamiento | 6 |
| -Pronóstico y prevención | 6 |
| ADENOVIRUS..... | 6 |
| -Características..... | 7 |
| -Epidemiología..... | 7 |
| -Mecanismos de replicación y transmisión..... | 8 |
| -Patogenia e inmunidad | 8 |
| -Clínica | 8 |
| -Detección y diagnóstico | 8 |
| -Tratamiento | 9 |
| -Pronóstico y prevención | 9 |
| NOROVIRUS O VIRUS NORWALK..... | 9 |
| -Características..... | 9 |
| -Epidemiología..... | 9 |
| -Mecanismos de replicación y transmisión..... | 9 |
| -Patogenia e inmunidad | 10 |
| -Clínica | 10 |
| -Detección y diagnóstico | 10 |
| -Tratamiento | 11 |
| -Pronóstico y prevención | 11 |
| ASTROVIRUS..... | 11 |
| -Carácterísticas..... | 11 |
| -Epidemiología..... | 11 |
| -Mecanismos de replicación y transmisión..... | 11 |

| | |
|---|-----------|
| -Patogenia e inmunidad | 11 |
| -Clínica | 11 |
| -Detección y diagnóstico | 12 |
| -Tratamiento | 12 |
| -Pronóstico y prevención | 12 |
| Material y métodos | 13 |
| REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA | 13 |
| SELECCIÓN DE LAS MUESTRAS | 13 |
| Análisis epidemiológico de los pacientes con infección gastrointestinal producida por virus | 13 |
| DETECCIÓN DE ANTÍGENOS DE LOS VIRUS | 14 |
| Fundamento del test | 14 |
| Preparación de la muestra y procedimiento..... | 15 |
| Observaciones | 16 |
| Reacciones cruzadas..... | 16 |
| GENOTIPADO DE ROTAVIRUS..... | 16 |
| Resultados y Discusión..... | 17 |
| Infecciones gastrointestinales causadas por los virus Rotavirus, Adenovirus, Astrovirus y Norovirus durante el periodo de tiempo 2013-2015..... | 17 |
| Genotipos de rotavirus más frecuentes..... | 19 |
| Distribución por sexos | 22 |
| Frecuencia por edades | 24 |
| Distribución de los virus según la estacionalidad: | 26 |
| Comparación del número de diagnósticos realizados en centros de salud y urgencias..... | 28 |
| Distribución de los pacientes ingresados..... | 30 |
| Coinfecciones en el periodo de tiempo estudiado | 32 |
| Conclusiones | 36 |
| Anexos | 40 |

Resumen

Introducción: Los virus causantes de infecciones gastrointestinales se caracterizan principalmente por presentar una clínica basada en diarrea y vómito y carecer de un tratamiento específico, siendo la base fundamental del tratamiento la hidratación. La transmisión de estos virus se realiza principalmente por vía fecal-oral, agua y alimentos contaminados. Estos virus afectan principalmente a niños y pacientes institucionalizados, siendo los causantes principales Rotavirus y Adenovirus. También pueden causar brotes epidémicos en pacientes inmunocompetentes, como es más frecuente en el caso del virus Norwalk o Norovirus. Ninguno de estos virus se desarrolla fácilmente en cultivos celulares sistemáticos, pero todos muestran alguna característica que permite diferenciarlos al microscopio electrónico. Con el desarrollo de las técnicas inmunocromatográficas (EIA) se ha agilizado mucho su diagnóstico. El diagnóstico se emplea fundamentalmente para alertar de brotes epidemiológicos o diagnosticar la etiología vírica en cuadros clínicos graves.

Material y métodos: Se han estudiado los datos recogidos en un hospital terciario en el periodo de tiempo 2013-2015, tras analizar las muestras de heces de pacientes afectados con diarrea aguda con una técnica inmunocromatográfica de un solo paso para Rotavirus, Adenovirus, Norovirus y Astrovirus. Algunos de los Test positivos para Rotavirus, se han genotipado con técnicas de PCR. Con los datos obtenidos se ha analizado la epidemiología de los afectados y se ha comparado con datos de la literatura.

Resultados y discusión: Los virus que más afectan a la población de Zaragoza son Rotavirus (genotipos G1P[8] y G3P[8]) y Adenovirus. Los pacientes más afectados son varones (lactantes), especialmente en los meses fríos. La coinfección más frecuente es la que está formada por la asociación de Rotavirus y Astrovirus. Urgencias es el lugar en el que más diagnósticos se realizan.

Palabras clave: Rotavirus, Adenovirus, Astrovirus, Norovirus, diagnóstico, prevalencia, inmunocromatografía, genotipado, coinfección.

Abstract:

Introduction: The viruses that cause gastrointestinal infections are mainly characterized by a clinic-based diarrhea and vomiting and lack of specific treatment, being the foundation of treatment hydration. The transmission of these viruses is primarily done by the fecal-oral, contaminated food and water. These viruses mostly affect children and institutionalized patients, the main cause Rotavirus and Adenovirus. They can also cause outbreaks in immunocompetent patients, as is more often in the case of the Norwalk virus or the Norovirus. None of these viruses are easily developed in routine cell cultures but all of them show a feature that can be distinguished through an electron microscope. With the development of the immunochromatographic techniques (EIA) it has streamlined its diagnosis much. Diagnosis is mainly used to alert about outbreaks or to diagnostic the viral etiology in severe clinical processes.

Material and Methods: We studied data collected in a tertiary hospital in the period 2013-2015, after analyzing stool samples of patients with acute diarrhea with an immunochromatographic technique of one step for Rotavirus, Adenovirus, Norovirus and Astrovirus. Some of the positive tests for Rotavirus, were genotyped with PCR techniques. With the data obtained are analyzed the epidemiology of affected and compared with literature data.

Results and discussion: The viruses that most affect the population in Zaragoza are Rotavirus (genotypes G1P[8] and G3P[8]) and Adenovirus. The most affected are males (infants), especially in the cold months. The most prevalent coinfection is formed by Rotavirus and Astrovirus. Emergency room is the place where most diagnoses are demanded.

Keywords: Rotavirus, Adenovirus, Astrovirus, Norovirus, immunochromatography, prevalence, coinfection, genotype, diagnosis.

Introducción

RELEVANCIA DEL TEMA EN LA ACTUALIDAD Y OBJETIVOS DEL TRABAJO:

Las infecciones gastrointestinales son un importante problema de salud en la sociedad. La prevalencia e incidencia son mayores cuanto menos desarrollado socioeconómicamente esté un país. Cada año a nivel mundial, más de 700 millones de niños menores de 5 años padecen diarrea aguda, con una mortalidad de 3 a 5 millones de casos al año. En nuestro país, la mortalidad por infecciones gastrointestinales virales es casi nula ^(1,2).

Los objetivos del trabajo son:

- Obtener la prevalencia de Rotavirus, Astrovirus, Adenovirus, Norovirus en el Sector Sanitario Zaragoza 3 en el periodo 2013-2015.
- Comparar la prevalencia obtenida en los diferentes años en base a diferentes criterios: sexo, edad, paciente hospitalizado/ no hospitalizado, centro sanitario del que procede la muestra y estacionalidad.
- Estudiar el número de coinfecciones que se produjeron en 2013-2015 por Rotavirus, Astrovirus, Adenovirus y Norovirus.
- Describir los genotipos más frecuentes de Rotavirus en nuestra área geográfica.
- Comparar los datos epidemiológicos obtenidos en Zaragoza con respecto a los datos que nos ofrece la literatura

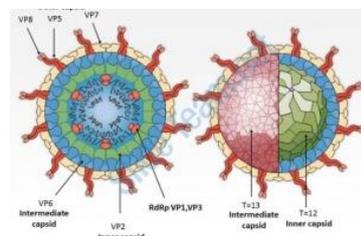
ROTAVIRUS

Los Rotavirus forman parte de la familia Reoviridae, siendo los patógenos más importantes de ésta. Existen al menos 6 serotipos de rotavirus humanos.

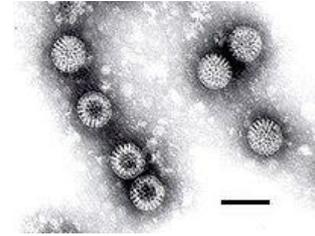
-Características

Son virus de 60-80 nm, formados por un genoma ARN segmentado bicatenario rodeado por una cápside icosaédrica de doble capa sin envoltura, formada por 3 capas:

- Capa interna: contiene las proteínas VP1, VP2 y VP3.
- Capa media: contiene la proteína VP6 (hemaglutinina vírica) que determina la reactividad antigénica específica en la que se basa la clasificación de estos virus en 7 grupos (A-G). Los grupos A, B y C pueden afectar a humanos, siendo el A3 el que causa la mayoría de los casos de infección. D, E y F solo afectan a animales.
- Capa externa: contiene las proteínas VP7 y VP4 que dan lugar a una respuesta inmune del huésped, que permite subclasificar a los rotavirus del grupo A en 2 sistemas complementarios de serotipado y genotipado:



- Serotipos y genotipos G mediante proteína VP7: las cepas más frecuentemente aisladas en humanos G1,G2,G3,G4,G9,G12, siendo los que más infecciones gastrointestinales producen en niños G1,G2,G3,G4 y G9.
- Serotipos y genotipos P mediante proteína VP4



Su nombre viene de “rueda”, ya que al microscopio electrónico tiene aspecto de llanta.

El virión contiene una polimerasa ARN ARN-dependiente^(3,4).

-Epidemiología

Responsables del mayor número de infecciones gastrointestinales infantiles en niños menores de 5 años a nivel mundial. Incidencia predominante entre los 6 y 24 meses. Puede producir brotes familiares y constitucionales⁽⁵⁾.

Produce más de 114 millones de episodios y más de 453.000 muertes en niños menores de 2 años, especialmente en los países subdesarrollados^(6,7). Las infecciones crónicas por rotavirus pueden resultar problemáticas en pacientes con inmunodeficiencias primarias⁽⁴⁾.

Su mayor incidencia en el hemisferio norte es en invierno⁽⁸⁾.

-Mecanismos de replicación y transmisión

Por transmisión feco-oral, Rotavirus se une a la superficie celular a través del receptor B-adrenérgico. Tras la entrada del virión, la polimerasa ARN ARN-dependiente sintetiza mRNA de cada uno de los 10 ó 11 fragmentos del citoplasma que se traducen en el correspondiente número de proteínas estructurales y no estructurales. El virus se libera del citoplasma por lisis celular, donde se replica⁽³⁾.

-Patogenia e inmunidad

Rotavirus se multiplica en las células de la mucosa del intestino delgado, atacando principalmente al epitelio columnar del duodeno y yeyuno proximal produciendo malabsorción que da lugar a diarrea no sanguinolenta sin inflamación del tubo digestivo.

Después de la infección se detectan anticuerpos en el suero. Las pruebas de Ig G específica demuestran que a los 6 años la mayoría de los niños tienen anticuerpos contra al menos un serotipo. Los anticuerpos IgA producidos en el intestino constituyen un factor fundamental en la respuesta inmune^(3,4).

-Clínica

Característicos las náuseas, vómitos y diarreas pudiendo producir fiebre, tras un periodo de incubación de 1-3 días. Es un cuadro autolimitado de 5-10 días.

Es más grave en los niños pequeños, en los que la deshidratación y desequilibrio electrolítico son los principales problemas. Los adultos normalmente presentan una clínica más larvada. Pueden existir infecciones asintomáticas^(9,10,11).

-Detección y diagnóstico

La mayoría de las veces el diagnóstico de los casos de gastroenteritis vírica no implica laboratorio debido a que suelen ser cuadros autolimitados. El diagnóstico puede hacerse por:

1. **Detección de antígenos de rotavirus:** Existe una amplia variedad de inmunoensayos comercializados para la detección de antígenos del grupo A en heces. Éstas son consideradas métodos de referencia por su alta sensibilidad (96%), especificidad (99%) y porque además permiten la realización de muchas determinaciones simultáneas. Sin embargo, tienen dos inconvenientes que son: el largo tiempo necesario para la realización de la técnica y la necesidad de un espectrofotómetro para su realización. Por eso, en muchas ocasiones se realiza un diagnóstico más rápido mediante inmunocromatografía (ICG), enzimoimmunoensayos (EIA) de membrana o aglutinación en partículas de látex, sin embargo como estas técnicas no tienen una especificidad muy elevada las muestras positivas deberían ser confirmadas con ELISA de captura o técnica de RT-PCR
 - a. Técnicas de inmunocromatografía: detección de rotavirus en heces solo o en combinación con otros virus, siendo el más frecuente adenovirus. Su limitación es que la presencia de sangre en las heces puede originar resultados falsos positivos.
 - b. Técnicas de EIA: Realizan la detección cualitativa de antígeno de rotavirus en heces. Estas técnicas pueden ser consideradas semi-cuantitativas.
 - c. Técnicas de EIA de membrana: Métodos cualitativos, rápidos (30 minutos) y fáciles de realizar que se presentan en pruebas individualizadas.
2. **Métodos moleculares:** Es necesario extraer previamente los ácidos nucleicos de la muestra para realizar la reacción de la transcriptasa inversa (en casos de virus con ARN) y la PCR. Las técnicas moleculares de transcripción inversa seguida de PCR convencional (RT-PCR) se han generalizado como métodos de detección de rotavirus en heces, en otras muestras clínicas (LCR, suero) y en muestras ambientales utilizando cebadores específicos de los segmentos génicos que codifican las proteínas VP6,VP7,VP4. Se han desarrollado instrumentos y técnicas de PCR a tiempo real que detectan y cuantifican la concentración de virus en la muestra.

3. **Inmunomicroscopía electrónica:** Donde los anticuerpos agregan los viriones permitiendo su visualización. No factible para el uso de rutina.
4. **Cultivo:** A diferencia de otros reovirus, los rotavirus tratados con tripsina pueden propagarse en cultivos primarios de células renales de simios, pero este método no se aplica en diagnósticos de rutina ^(3,4,12,13).

-Tratamiento

Tratamiento sintomático cuyo objetivo fundamental es prevenir o tratar la deshidratación. Las infecciones graves pueden necesitar hospitalización ^(10,14).

-Pronóstico y prevención

Buen pronóstico debido a que es un cuadro autolimitado.

Las principales medidas de prevención son el control de excretas y lavado de manos ⁽⁶⁾.

Actualmente hay 2 vacunas frente a Rotavirus comercializadas, ambas han mostrado alta eficacia, inmunogenicidad, seguridad y muy escasa reactogenicidad, estas son: Rotarix (vacuna monovalente con virus vivos atenuados que contiene G1P[8]) (laboratorio GlaxoSmithKline) y RotaTeq (laboratorio Sanofi Pasteur MSD) vacuna pentavalente que contiene los tipos G1,G2,G3,G4 y P[8] ⁽¹⁵⁾. Estudios han demostrado que Rotateq presenta protección del 98% y Rotarix 85%

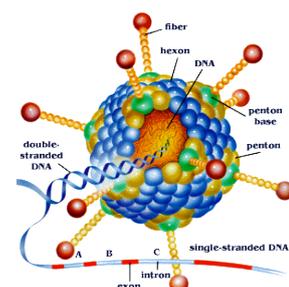
En el 2009 la World Health Organization (WHO) recomendó la inclusión de las vacunas contra el rotavirus en los calendarios vacunales de todos los países. Sin embargo, su elevado coste económico impide que se pueda realizar una vacunación universal en algunos países como España, Francia, Holanda y Grecia. La vacuna contra el rotavirus fue aprobada en España a finales del año 2006-principios del 2007. Siendo la única disponible RotaTeq (no financiada).

Un estudio detallado de eficacia demostró que la vacuna RotaTeq se asoció a una reducción del 85% en las consultas al pediatra, del 93% en las visitas a urgencias y del 96% en la frecuencia de ingresos por diarrea debida a rotavirus ⁽¹⁶⁾.

Para conocer la prevalencia y variabilidad de los genotipos de rotavirus, es fundamental la vigilancia a largo plazo en la era postvacunal, que será fundamental para poder distinguir entre los cambios que se producen debido a la evolución natural del genotipo y los cambios debidos a la inmunidad de la población debido a las vacunas ⁽¹⁷⁾.

ADENOVIRUS

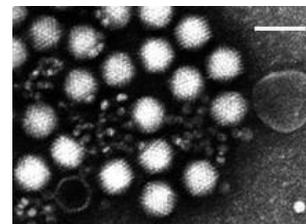
Los adenovirus pueden infectar a humanos y a mamíferos y aves. Existen 41 tipos de adenovirus humanos



-Características

Virus sin envoltura con ADN lineal de doble cadena y una nucleocápside icosaédrica. Cada cápside está formada por 252 unidades o capsómeros, que conforman la estructura icosaédrica con 240 hexones situados en las caras o aristas y 12 pentones en los vértices.

Cada pentón está constituido por una base situada en la cápside y unas prolongaciones o fibras que terminan en una extremidad engrosada. Este engrosamiento constituye la hematoglutinina y su longitud varía en los distintos subgrupos de adenovirus. Los hexones, pentones y fibras presentan diferencias inmunológicas:



-Los antígenos del hexón son grupo-específicos, comunes a todos los adenovirus humanos.

-Los antígenos de las fibras son tipo-específicos.

-Antígeno tumoral (T), es inducido por el virus y aparece asociado a células tumorales. Algunos serotipos de adenovirus humanos (12, 18, 31) causan sarcomas en el lugar de inyección en roedores de laboratorio, no hay evidencia de que causen tumores en humanos^(3,5).

-Epidemiología

Las infecciones por adenovirus son endémicas en todo el mundo⁽¹⁸⁾. Constituyen un 2-4% de las enfermedades respiratorias y un 4-17% de los casos de diarrea en lactantes. La incidencia de adenovirus aumenta en colectivos (reclutas militares, colegios....) y es más frecuente a finales de invierno y principios de primavera. Los Adenovirus entéricos son los serotipos 40 y 41⁽¹²⁾.

Algunos serotipos están asociados con determinadas edades y síndromes específicos⁽⁶⁾.

| ENFERMEDAD | POBLACIÓN | SEROTIPOS |
|-------------------------------|------------------------------|-------------|
| Enfermedad respiratoria aguda | Militares y colegios | 4,7,1,5,21 |
| Faringitis | Niños | 1,2,3,5,7 |
| Gastroenteritis | Niños | 40,41 |
| Conjuntivitis | Toda la población | 3,4,7,11,37 |
| Queratoconjuntivitis | Toda la población | 8,19,37 |
| Neumonía | Niños y militares | 4,7 |
| Cistitis aguda hemorrágica | Niños | 2,11,21 |
| Hepatitis | Niños, trasplantes de hígado | 3,7,21,30 |

-Mecanismos de replicación y transmisión

El ADN viral es replicado en el núcleo usando ADN-polimerasas de la célula, mientras que las proteínas son sintetizadas en el citoplasma. Una vez que el virus entra en la célula, el ADN es liberado dentro del núcleo: El ADN se transcribe en ARNm para sintetizar proteínas específicas del virus. El ARNm se traduce en el citoplasma. Las proteínas de la cápside son sintetizadas y transportadas al núcleo para ser incorporadas al virión completo. Los viriones son liberados mediante lisis celular⁽⁵⁾.

Existen diversos mecanismos de transmisión: aerosol, feco-oral (mecanismo más común en niños) e inoculación directa de la conjuntiva⁽³⁾.

-Patogenia e inmunidad

El virus se replica en las células epiteliales produciendo necrosis celular e inflamación. Se puede diseminar diversos órganos (riñón, vejiga, hígado etc). Pasada la fase aguda, los virus pueden acantonarse en estructuras linfáticas (amígdalas, placas de Peyer). Muestran múltiples mecanismos contra la respuesta antiviral⁽⁶⁾. La inmunidad basada en anticuerpos neutralizantes es específica de tipo y para toda la vida^(3,5).

-Clínica

En el aparato digestivo produce gastroenteritis con diarrea sin sangre principalmente en lactantes, que puede complicarse con invaginación intestinal. Pueden afectar a otros órganos, ya comentados anteriormente. Muchas infecciones son asintomáticas, con resolución espontánea⁽³⁾.

Los síntomas pueden aparecer entre 2 días-2 semanas después del contacto. La infección dura entre 2-7 días, si causa neumonía puede durar 4 semanas⁽⁶⁾.

-Detección y diagnóstico

1. **Detección de antígenos de adenovirus (género Adenovirus 40/41):**
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, ya que únicamente éste último será atribuible a los adenovirus entéricos.
2. **Métodos moleculares:** Se puede realizar PCR con oligonucleótidos específicos, convencional o en tiempo real. Otros métodos de caracterización de adenovirus entéricos son el análisis de polimorfismo de fragmentos de restricción, la hibridación en dot-blot y la secuenciación de los productos amplificados^(12,19).
3. **Pruebas inmunológicas:** detección de anticuerpos en 2 fechas diferentes separadas entre 1 y 21 días.
4. **Microscopía electrónica:** prácticamente en desuso.
5. **Inmunofluorescencia:** con anticuerpos dirigidos contra el adenovirus.
6. **Serología:** fijación del complemento e inhibición de la hemaglutinación^(3,5,6).

7. En gastroenteritis se puede detectar la presencia de adenovirus en heces por ELISA⁽⁶⁾.

-Tratamiento

Tratamiento sintomático, descanso e hidratación adecuada.

-Pronóstico y prevención

Hay disponibles 3 vacunas vivas, no atenuadas, contra los serotipos 4,7,21, sólo administrables al personal militar, no disponible para uso civil⁽²⁰⁾.

El lavado efectivo de manos, la desinfección de materiales contaminados y el uso de guantes son fundamentales para prevenir la transmisión secundaria⁽⁶⁾.

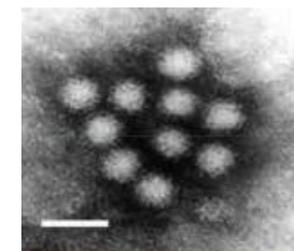
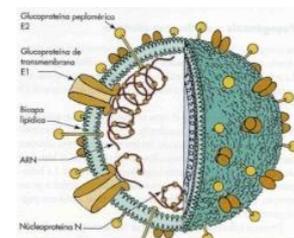
NOROVIRUS O VIRUS NORWALK

Patógeno más importante de la familia Caliciviridae. El número de serotipos es incierto

-Características

Forma de cáliz, de pequeño tamaño (37 nm). Genoma ARN no segmentado, monocatenario de cadena sencilla y polaridad positiva. Virus sin envoltura con nucleocápside icosaédrica muy resistente al calor, éter y ácidos. No hay polimerasa en el virión⁽⁵⁾.

Cápside formada por 180 copias de VP1, en el que se pueden ver 2 dominios, "S" y "P". En el dominio "P" se pueden ver 2 subdominos P1 y P2. El P2 tiene un papel importante en la interacción entre los receptores celulares y los antígenos virales. Se han descrito varios epítopos principales o sitios antigénicos en la región P2 específica del genotipo II.4. Las partículas P se han utilizado como una fuente de antígeno para recubrir placas de ELISA. En el microscopio electrónico se pueden ver 10 espículas prominentes y 32 depresiones ciatiformes⁽²¹⁾.



-Epidemiología

Genotipo II.4 es la causa principal de brotes epidémicos de gastroenteritis aguda no bacteriana en la comunidad afectando mundialmente a todas las edades, en todas las épocas del año, aunque es más frecuente en invierno y después de inundaciones^(22,23). Las epidemias están asociadas al consumo de alimentos o agua contaminada en colectivos: cruceros, escuelas, restaurantes, campamentos y hospitales⁽²⁴⁾.

-Mecanismos de replicación y transmisión

El ARNm genómico se traduce en una poliproteína grande que se fracciona en proteínas estructurales y NS. Todo el proceso de replicación se realiza en el

citoplasma, donde se produce el autoensamblaje. La transmisión por vía feco-oral y entre personas es muy frecuente⁽⁵⁾.

-Patogenia e inmunidad

La infección esta potenciada por varias características del virus:

- Baja dosis infectiva (< 100 partículas virales)
- Excreción del virus en las heces durante varias semanas tras la recuperación (hasta 2 semanas)
- Estabilidad viral bajo condiciones ambientales (resiste temperaturas de 60°C y un pH de 3)
- Resistencia a la inactivación por cloración y detergentes^(4,25).

La inmunidad tras la infección es breve, puede producirse reinfección. La diversidad genética del norovirus facilita los cambios en la antigenicidad de VP1 (nuevas cepas virales mutantes de escape).

Un estudio realizado en Valencia demostró que el 100% de los adultos que participaron tenían anticuerpos hacia VLPs y dominios P de los norovirus pertenecientes al GII.4⁽²²⁾.

-Clínica

Vómitos (en proyectil) y diarrea no sanguinolentos con febrícula y calambres abdominales, tras periodo de incubación de 18-48 horas. El cuadro dura 12-60 horas sin dejar secuelas, infección conocida como "gripe estomacal. En algunas epidemias puede producirse implicación del sistema nervioso central y producir dolor de cabeza, meningismo, fotofobia y obnubilación^(3,5).

Los pacientes inmunodeprimidos y trasplantados, se ven frecuentemente afectados por este virus. En ellos el cuadro infeccioso puede prolongarse⁽²⁶⁾. Muchas infecciones pueden llegar a ser asintomáticas⁽²⁷⁾.

-Detección y diagnóstico

1. **Clínico:** Si se cumplen los Criterios de Kaplan, diagnóstico presuntivo.
 1. Periodo de incubación de 24-48 horas
 2. Duración de los síntomas de 12-60 horas
 3. Vómitos en >50% de los casos
 4. Coprocultivos negativos y/o existencia de casos secundarios.
2. **Detección de antígenos de norovirus:** Existen dos métodos de EIA:
 1. IDEIA Norovirus: Sensibilidad (58,9%) y especificidad (93,9%).
 2. RIDASCREEN Norovirus: Sensibilidad (43,8%) y especificidad (96,3%)

En ambos casos se recomienda confirmar los resultados por RT-PCR.

3. **Métodos moleculares:** RT-PCR es el método de referencia actualmente. Permite identificar el genogrupo (I o II) y el genotipo de la cepa de norovirus detectada (GI.1 a GI.8 y GII.1 al GII.17).

4. **Inmunomicroscopía electrónica:** Prácticamente en desuso.

-Tratamiento

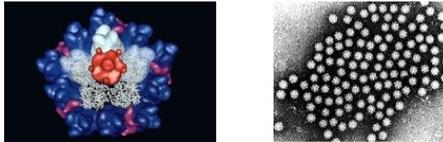
Tratamiento sintomático. El subsalicilato de bismuto puede reducir la gravedad de los síntomas gastrointestinales⁽³⁾.

-Pronóstico y prevención

Lavado de manos, depuración de aguas residuales y control de brotes epidémicos^(3,4,28).

ASTROVIRUS

Familia Astroviridae.



-Características

Virus ARN monocatenario positivo. Genoma no segmentado. Cápside icosaédrica sin envoltura compuesta de 2 ó 3 proteínas estructurales. Cada partícula del virus tiene 28-30 nm de diámetro cuya apariencia estrellada con 5-6 puntas⁽⁴⁾. Existen 8 serotipos.

-Epidemiología

2º causa más frecuente de brotes epidémicos de diarrea aguda en niños. En climas templados la incidencia alcanza un máximo pronunciado en invierno. En climas tropicales la incidencia es mayor en temporada de lluvias⁽⁴⁾.

-Mecanismos de replicación y transmisión

Por vía feco-oral, el virus se interna en la célula por endocitosis o de manera directa. La replicación se realiza de forma completa en el citoplasma. Una gran molécula de ARNm codifica una poliproteína viral que se fracciona para formar las proteínas de la cápside. Los viriones nuevos se autoensamblan y son liberados del citoplasma por lisis celular⁽⁴⁾. Es muy frecuente la infección nosocomial⁽²⁹⁾.

-Patogenia e inmunidad

Capacidad infectiva muy alta, pocos viriones pueden producir la enfermedad⁽³⁰⁾.

La infección es más frecuente en lactantes, lo que sugiere que tras la primoinfección se pueda desarrollar algún tipo de inmunidad. Las proteínas de la cápside VP26, VP29 desempeñan una función importante en la producción de anticuerpos neutralizantes heterotípicos⁽³¹⁾.

-Clínica

Tras periodo de incubación de 3-4 días se produce diarrea, náuseas, vómitos, fiebre, malestar general, anorexia y dolor abdominal, durante un proceso autolimitado de 3-4 días. No acostumbra a ser un proceso grave y son pocas las excepciones en las que se producen casos graves de deshidratación^(3,4).

-Detección y diagnóstico

1. **Detección de antígenos de Astrovirus:** Basado en anticuerpos monoclonales y policlonales frente a antígenos conservados de la cápside vírica con sensibilidad 91% y especificidad 98% similares a la inmunomicroscopía electrónica.
2. **Métodos moleculares:** Se han desarrollado distintos tipos de RT-PCR para diagnosticar infecciones por Astrovirus. Para aumentar la sensibilidad de la RT-PCR se ha combinado el aislamiento en el cultivo celular con la RT-PCR, con buenos resultados.
Es el método diagnóstico más utilizado, debido a ser el más sensible, rápido y permite realizar el genotipo de las muestras analizadas⁽¹²⁾.
3. **ELISA:** técnica muy sensible.
4. **Microscopía electrónica:** actualmente en desuso
5. **Células de carcinoma de colon humano:** tratadas con tripsina o en células renales de simio, pero no es usado en la práctica diaria⁽²¹⁾.

-Tratamiento

Realizar tratamiento sintomático⁽⁶⁾.

-Pronóstico y prevención

Buen pronóstico por ser un cuadro autolimitado⁽⁵⁾. Es fundamental el lavado de manos que puede reducir la incidencia de la infección⁽³²⁾. No hay vacuna contra el virus⁽³³⁾.

Material y métodos

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Para llevar a cabo la revisión sobre el estado actual del tema se ha realizado una búsqueda bibliográfica en 2 libros de virología humana, 2 libros de microbiología e inmunología médica, una monografía de la Sociedad Española de Epidemiología sobre “epidemiología de las gastroenteritis agudas víricas”, el protocolo de diagnóstico microbiológico de las infecciones gastrointestinales de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica y un protocolo de realización de la técnica inmunocromatográfica para la detección de virus en heces. Además se ha utilizado la base de datos Pubmed en el rango de tiempo de los 10 últimos años, utilizándose finalmente para el desarrollo del trabajo 22 artículos, además de otros artículos procedentes de otras fuentes (Elsevier...).

SELECCIÓN DE LAS MUESTRAS

Para realizar el estudio sobre la prevalencia de las infecciones gastrointestinales por Rotavirus, Astrovirus, Adenovirus y Norovirus en los pacientes pertenecientes al Sector Sanitario Zaragoza 3, en el que se incluyen el Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa de Zaragoza y determinados centros de salud cuyo centro de referencia para el diagnóstico microbiológico es dicho hospital, se han analizado los datos recogidos durante los años 2013, 2014 y 2015 (01/01/2013-31/12/2015) en una base de datos Excel sobre las peticiones de muestras para la determinación de la existencia de infección por dichos virus. En la base de datos se incluyen los datos demográficos de los pacientes, el servicio hospitalario o centro de salud del que procede la petición, la fecha en que la muestra fue procesada y el resultado del test diagnóstico realizado a cada muestra.

Análisis epidemiológico de los pacientes con infección gastrointestinal producida por virus

Para obtener los datos para hacer el estudio una vez exportados en la base de datos Excel, hemos realizado el mismo procedimiento en los tres documentos pertenecientes a cada año. En el documento correspondiente al 2013, utilizando los filtros de la base de datos Excel hemos seleccionado a todos los pacientes en los que el test diagnóstico fue positivo para Rotavirus. A partir de éstos, los hemos analizado clasificándolos en: sexo, edad, época del año en la que se procesó la muestra y por lo tanto en la que había dudas diagnósticas sobre infección, centro de salud o zona del hospital en la que se solicitó la prueba, si el paciente se encontraba ingresado o en su domicilio y por último, si existen coinfecciones con otros virus gastrointestinales. Posteriormente se realizó el mismo proceso para Astrovirus y Adenovirus y para los años 2014, 2015. A partir de abril del año 2015 se empezó a introducir en el test diagnóstico el cribado para Norovirus, por lo que en los pacientes estudiados de abril del 2015 en adelante, también se valoró la posibilidad de

que éstos estuviesen infectados por Norovirus, y por tanto se realizó el mismo proceso de obtención de datos.

Una vez obtenidos los datos, se ha llevado a cabo su representación en gráficos con la base de datos Excel, para comparar la prevalencia según sexo, edad, estacionalidad, centro de salud/localización hospitalaria, paciente ingresado/no ingresado y para comparar las diferencias sobre la prevalencia entre los años 2013, 2014 y 2015. Así mismo también para hacer comparaciones con los datos que nos muestra la literatura en las bases de datos (Pubmed).

DETECCIÓN DE ANTÍGENOS DE LOS VIRUS

La Prueba CerTest Rota+Adeno+Astro+Noro es una prueba inmunocromatográfica de un solo paso para la detección cualitativa simultánea de antígenos de Rotavirus, Adenovirus, Astrovirus y Norovirus en muestras de heces, que permite un ensayo de cribado sencillo y de alta sensibilidad para realizar un diagnóstico presuntivo de infección por estos virus intestinales.

Fundamento del test

- **Tira A:** consiste en una membrana de nitrocelulosa fijada previamente con anticuerpos monoclonales de ratón frente a Rotavirus en la línea del test(T), en la ventana de resultados y en la línea de control (C), con anticuerpos policlonales de conejo frente a una proteína específica . En el material absorbente para la muestra se ha dispensado una preparación de reactivos de la línea de test (anticuerpos monoclonales de ratón frente a rotavirus) conjugada con látex de poliestireno rojo y otra preparación para la línea de control (proteína específica de unión) conjugada con látex de poliestireno verde, formando dos complejos coloreados conjugados.
- **Tira B:** igual que la tira A pero fijada previamente con anticuerpos monoclonales de ratón frente a Adenovirus y los anticuerpos monoclonales de la línea de test del material absorbente son también frente a Adenovirus.
- **Tira C:** igual que la tira A y B pero fijada previamente con anticuerpos monoclonales de ratón frente a Astrovirus y los anticuerpos monoclonales de la línea de test del material absorbente son también frente a Astrovirus.
- **Tira D:** igual que la tira A,B y C pero fijada previamente con anticuerpos monoclonales de ratón frente a Norovirus y los anticuerpos monoclonales de la línea de test del material absorbente son también frente a Norovirus.

Si la muestra de rotavirus es positiva, los antígenos de la muestra diluida reaccionan con el complejo conjugado



coloreado rojo (anticuerpos monoclonales anti-rotavirus-microesferas rojas de látex) en la tira A. Lo mismo ocurre para Adenovirus, Astrovirus y Norovirus en el caso de que éstos sean positivos pero reaccionando sus antígenos con sus anticuerpos correspondientes en las tiras B,C,D respectivamente.

La mezcla avanza por capilaridad a través de la membrana. Conforme la mezcla va migrando también lo hacen los complejos conjugados. Los anticuerpos anti-Rotavirus presentes en la membrana de la tira A, los anticuerpos anti-Adenovirus presentes en la tira B, los anticuerpos anti-Astrovirus presentes en la tira C y los anticuerpos anti-Norovirus presentes en la tira D, capturarán el complejo coloreado del test y será visible una línea roja en las cuatro tiras. Estas líneas son las que se utilizarán para la interpretación del resultado.

Si la muestra es negativa, no hay presencia de antígenos de ninguno de los virus citados o los antígenos están presentes en una concentración inferior al límite de detección y no se produce reacción con ningún complejo coloreado rojo.

Independientemente de que la muestra sea positiva o negativa, en las cuatro tiras la mezcla continuará moviéndose a través de las membranas hacia los anticuerpos inmovilizados frente a la proteína específica localizados en las líneas de control. Estos anticuerpos anti-proteína específica presentes en las cuatro membranas capturarán el complejo conjugado de control y las líneas de control verdes siempre aparecerán.

La aparición de estas líneas se utiliza para:

- 1) Verificar que se ha añadido el volumen de muestra suficiente.
- 2) Saber si el flujo ha sido apropiado.
- 3) Control interno de los reactivos.

Preparación de la muestra y procedimiento

- 1) A partir de la muestra que llega al laboratorio, tomar la muestra para nuestro test en 4 zonas diferentes de la misma (una cantidad de heces aproximadamente de 125 mg) y posteriormente introducirla en el tubo para dilución de la muestra.
- 2) Cerrar el tubo que contiene la muestra y el diluyente y agitarlo para facilitar la dispersión de la muestra
- 3) Añadir 4 gotas de la muestra con el diluyente en la ventana circular marcada con la letra A y repetir el procedimiento en las ventanas B,C,D. Debemos evitar añadir partículas sólidas con el líquido.
- 4) A los 10 minutos leer el resultado. Los resultados obtenidos al pasar los 10 minutos carecen de valor.

Si la línea de control no aparece el test se considerará inválido.

Observaciones

La intensidad de las líneas de color rojo en las líneas del test en las ventanas de resultados variará dependiendo de la concentración de antígenos presentes en la muestra. Sin embargo, esta prueba es cualitativa por lo que ni la cantidad ni la tasa de aumento de antígenos pueden ser determinados por la misma

Reacciones cruzadas

Se ha realizado una evaluación para determinar posibles reacciones cruzadas de éste CerTes Rota+Adeno+Astro+Noro, pero no se ha determinado ninguna con patógenos gastrointestinales ocasionalmente presentes en las heces⁽³⁴⁾.

GENOTIPADO DE ROTAVIRUS

Una vez que la muestra es detectada positiva para rotavirus por EIA, para la caracterización de los genotipos G y P de rotavirus, se utilizó la reacción en cadena mediada por la polimerasa precedida por transcripción reversa (RT-PCR) aplicada en el gen completo de la proteína VP4 y VP7 utilizando diferentes grupos de iniciadores específicos.

En el caso de que la muestra resulte negativa para las proteínas VP4 y VP7, buscamos también el gen VP6 para descartar un genotipo extraño o confirmar que son falsos positivos de la técnica inmunológica (inmunocromatografía o ELISA)⁽³⁵⁾. Para más información consultar página web: <http://www.eurorota.net>

Resultados y Discusión

INFECCIONES GASTROINTESTINALES CAUSADAS POR LOS VIRUS ROTAVIRUS, ADENOVIRUS, ASTROVIRUS Y NOROVIRUS DURANTE EL PERIODO DE TIEMPO 2013-2015

Tras realizar un análisis de los datos obtenidos mediante la base de datos Excel para estudiar la prevalencia de virus gastrointestinales se han obtenido los siguientes resultados:

-Año 2013:

En 2013 se procesaron un total de 2190 muestras de heces para el estudio de virus gastrointestinales realizando un test de inmunocromatografía para su diagnóstico. Se obtuvieron los siguientes resultados:

- El 8,5% de las muestras analizadas fue positiva para alguno de los cuatro virus analizados.
- El 6% del total de las muestras (129 muestras) fueron positivas para Rotavirus.
- El 1,5% del total de las muestras (33 muestras) fueron positivas para Astrovirus.
- El 1,1% del total de las muestras (24 muestras) fueron positivas en el test para Adenovirus.
- Durante este año, todavía no se realizaba el test diagnóstico para Norovirus
- El resto de muestras (2004 muestras, 91,5%) fueron negativas para los cuatro virus analizados.

-Año 2014:

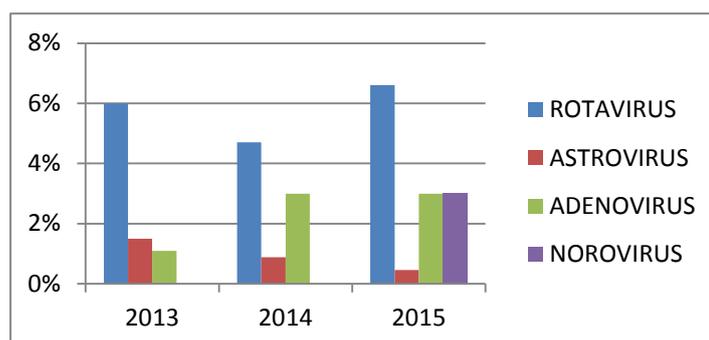
En 2014 se procesaron un total de 2251 muestras de heces (61 muestras más que el año anterior) en las que se obtuvieron los siguientes resultados:

- El 4,7% del total de las muestras (105 muestras) fueron positivas para Rotavirus.
- El 0,88% del total de las muestras (20 muestras) fueron positivas para Astrovirus.
- El 3% (66 muestras) fueron positivas para Adenovirus, cifra más llamativa que la producida en el año anterior. Durante este año tampoco se había introducido de momento el test diagnóstico para Norovirus.
- El resto de muestras (2060 muestras, 91,5%) fueron negativas para los cuatro virus analizados, mismo porcentaje que el año anterior.

-Año 2015:

En 2015 se procesaron un total de 2592 muestras de heces (341 muestras más que el año anterior y 402 muestras más que en el año 2013) de las que se obtuvieron los siguientes resultados

- El 6,6% del total de las muestras (170 muestras) fueron positivas para Rotavirus, porcentaje similar a años anteriores.
- El 0,46% del total de las muestras (12 muestras) fueron positivas para Astrovirus, porcentaje más bajo que en años anteriores.
- El 3% del total de las muestras (78 muestras) fueron positivas para Adenovirus, mismo porcentaje que se produjo en el 2014.
- En abril de 2015 se introdujo el Norovirus en el test diagnóstico. El 3% del total de las muestras estudiadas desde que se introdujo el Norovirus en el test diagnóstico (58 muestras) fueron positivas, mismo número de infecciones que las causadas por Adenovirus.
- El resto de muestras (2275 muestras, 87,7%) fueron negativas para los cuatro virus analizados, porcentaje menor que en años anteriores.



Con los datos obtenidos vemos que el virus causante del mayor número de infecciones gastrointestinales víricas en nuestro medio es Rotavirus, que se mantiene entre el 6-7% de las muestras analizadas entre los años 2013 y 2015. Adenovirus ha ido aumentando en el tiempo, siendo del 3% de las muestras analizadas en los años 2014 y 2015. La prevalencia por Astrovirus ha ido disminuyendo con el tiempo pasando del 1,5% en 2013 al 0,46% en 2015. Norovirus empezó a estudiarse en el año 2015 y en el tiempo estudiado hemos encontrado una prevalencia del 3%, igual que en el caso de adenovirus.

En el año 2000 se publicó un estudio realizado en el Hospital Clínico de Zaragoza sobre la incidencia de la infección por Astrovirus en niños menores de 10 años con gastroenteritis, en el que se determinó que Astrovirus afectaba al 5,5% de las muestras estudiadas pediátricas. El estudio concluyó diciendo que a los niños españoles que padecieran diarrea se les deberían hacer un screening rutinario para la presencia de Astrovirus. En el estudio igualmente se observó que Astrovirus era mucho menos prevalente que Rotavirus y

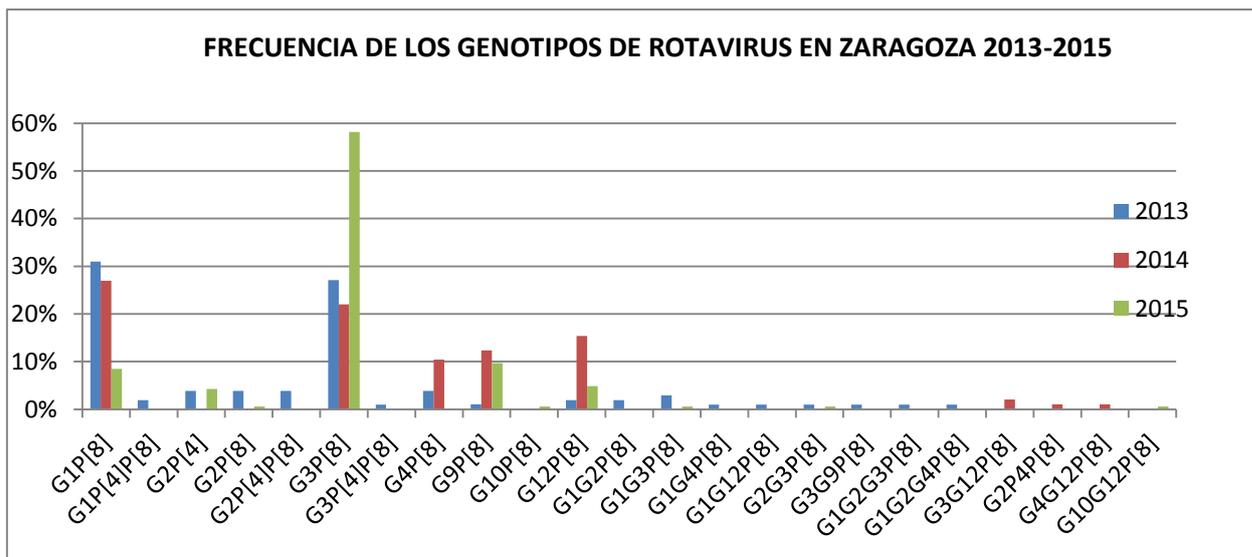
ligeramente menor que Adenovirus en los niños en Zaragoza⁽²¹⁾. En nuestro estudio observamos que la afectación de Astrovirus actualmente es mucho menor del 5,5%, pero el orden de patogenicidad se conserva respecto al año 2000, ya que Rotavirus es el más prevalente seguido de Adenovirus.

En un estudio realizado en Madrid, en el Instituto de Salud Carlos III, durante los años 2010-2011 con 370 muestras de niños ingresados por diarrea aguda se observó que 31,6% estaban causadas por Rotavirus, 11,8% por Norovirus, 7,2% por Astrovirus y 2,7% Adenovirus⁽¹⁷⁾, mientras que en Zaragoza las infecciones gastrointestinales por Astrovirus cada vez tienden a ser menores, en Madrid Astrovirus era mayor que Adenovirus. Sin embargo, este estudio fue en 2010-2011 y en 2013 Astrovirus también superaba al adenovirus en Zaragoza. Los porcentajes de este estudio son más altos porque la muestra seleccionada era niños ingresados en los que la probabilidad de infección por virus es más alta que en la población general.

En un estudio publicado en el año 2009 por el Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa y por el Hospital Universitario Miguel Servet de Zaragoza, se indica que la enfermedad diarreica es la enfermedad más frecuentemente notificada con aproximadamente 120.000 casos anuales, produciéndose un incremento del 10% en los años 2005-2006 con respecto al periodo 1982-2004, especialmente durante los meses de invierno. Tras realizar un estudio se observó que entre los principales patógenos a los que se debía este incremento se encontraba Rotavirus con un 17,1% y que las muestras positivas para este patógeno habían aumentado, pasando de 22 a 47/100.000 habitantes/año. Se observó que en 2005-2006 el diagnóstico de diarrea en invierno había aumentado de 2494 casos semanales a 3357 y el diagnóstico de Rotavirus había incrementado de 15 a 39 casos semanales. La correlación de las notificaciones de diarrea causadas por rotavirus fue de 0,05 en 1998-2004 y de 0,42 en 2005-2006. Rotavirus supone el 90,2% de los virus diagnosticados con mayor predominio en invierno siendo Rotavirus una de las causas principales del aumento de notificaciones por enfermedad diarreica en Aragón y recomendaban la determinación de la carga de la enfermedad de Rotavirus con el fin de orientar las políticas de vacunación⁽³⁶⁾. En nuestro estudio hemos podido observar como las infecciones gastrointestinales en Aragón, tienden a incrementarse (2190 peticiones en 2013, 2251 peticiones en 2014 y 2592 peticiones en 2015) y que Rotavirus, es el principal patógeno causante de las enfermedades diarreicas víricas, tal y como ya se determinó en 2006.

GENOTIPOS DE ROTAVIRUS MÁS FRECUENTES

Los resultados obtenidos sobre el genotipo de rotavirus durante los años estudiados fueron los siguientes:



-Genotipos de Rotavirus más frecuentes en 2013:

Durante el año 2013 se enviaron a la Universidad de Valencia un total de 103 muestras de Rotavirus desde el Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa para el análisis de los genotipos en aquellas muestras que habían sido positivas por los test diagnósticos y quedaba suficiente muestras para su estudio.

El genotipo más frecuente fue el genotipo G1P[8] en 32 pacientes (31%), seguido por el genotipo G3P[8] en 28 pacientes (27%) y el genotipo G9P[8] en 9 pacientes(1,05%). Además de otros genotipos como se puede ver en el gráfico adjunto.

Respecto a coinfecciones, la más frecuentes respecto a la proteína VP7 fueron G1G3P[8] en 3 pacientes (2,91%) y G1G2P[8] en 2 pacientes (1,94%), entre otras como podemos ver en el gráfico. Además, también se produjeron coinfecciones por 3 genotipos diferentes en base a esta proteína: 1 caso G1G2G3P[8] (0,97) y otro caso G1G2G4P[8](0,97%).

En relación con la proteína VP4, las únicas asociaciones fueron G2P4P[8] en 4 pacientes (3,88%) y G3P4P[8] en 1 paciente (0,97%).

Se obtuvieron 2 casos negativos para VP4 y VP7, a los que no se les realizó PCR para VP6.

-Genotipos más frecuentes en 2014:

En el año 2014 se mandaron a la Universidad de Valencia un total de 97 muestras positivas.

El genotipo más frecuente fue el genotipo G1P[8] con 26 casos (27%), menor que en 2013 que fue del 31% y G3P[8] con 21 casos (22%), menor que en 2013 que fue del 27%. Durante este año la afectación de G12P[8] (15%),

G9P[8] (12%), G4P[8] (10%) fue mucho mayor que en el año anterior donde únicamente afectaron a un 2%,1% y 4%,respectivamente.

Durante este periodo de 2014, no aparecieron: G2P[4], G2P[8], ambos presentes en 2013.

Respecto a las coinfecciones para la proteína VP7 se produjeron nuevas asociaciones de las observadas el año anterior: G3G12P[8], G2P4P[8] y G4G12P[8]. Para la proteína VP4 no se observó ninguna coinfección.

Se obtuvieron 9 casos negativos para el genotipado de VP4 Y VP7, a 6 de ellos se les realizo PCR para VP6, obteniendo 3 casos positivos.

-Genotipos más frecuentes en 2015:

Durante 2015 se enviaron a la Universidad de Valencia un total de 165 muestras positivas. El genotipo más frecuente fue el genotipo G3P[8] con 96 casos, lo que suponía un 58,2% de todas las muestras enviadas, el 2º más detectado fue G9P[8] con 16 casos (9,7%) y G1P[8] con 14 casos (8,5%).

Durante 2015 apareció un nuevo genotipo que no había sido detectado en los 2 años anteriores: G10P[8].

No apareció ninguna coinfección para la proteína VP4, igual que ocurrió en 2014. Tampoco apareció ninguna coinfección de las detectadas en años anteriores para la proteína VP7, a excepción de G1G3P[8], G2G3P[8], sin embargo, apareció una nueva asociación no vista en años anteriores: G10G12P[8].

Cabe destacar, que este año se detectó una coinfección por G1G3G4G9G12P[8] en un lactante de 2 meses, lo que nos hace pensar que fue debido a la administración de la primera dosis de la vacuna. En las heces se encontraron genes de cepas presentes en la vacuna G6G1G3G4 y otros genes de dos virus: G9 y G12. Esto nos hace pensar que el niño se infectó por dos rotavirus distintos nada más recibir la primera dosis de la vacuna cuando todavía no estaba inmunizado.

Durante este año 17 muestras resultaron negativas, de ellas se les realizo PCR VP6 a 15, con 5 resultados positivos para VP6.

En un estudio de vigilancia realizado en Madrid entre los niños con diarrea que fueron hospitalizados durante el periodo de tiempo 2010-2011, se detectó que en un total de 370 niños, 117 (31,6%) estaban infectados por rotavirus, siendo el genotipo más prevalente G1 (60,7%), seguido de G2 (16,09%), G9 (5,9%) y G12 (5,1%). G12 apareció por primera vez en España en 2008 y fue detectado por primera vez en este estudio⁽¹⁷⁾. En nuestro estudio el genotipo G12 ha sido detectado en 2 pacientes en 2013 mientras que en el periodo estudiado de

2014 fue detectado en 15 ocasiones y en el 2015 en 8. Además también apareció asociado a otros genotipos en más pacientes. Los genotipos más frecuentes en Zaragoza fueron G1, seguido de G3, G2, G9 a diferencia de lo que ocurrió en Madrid, donde G3 no fue detectado, sin embargo hemos de tener en cuenta que la prevalencia de los genotipos puede variar mucho según la el lugar y la época del año en la que nos encontremos⁽¹⁷⁾.

Un estudio realizado en Japón publicado en agosto del 2015 determinó las principales cepas de rotavirus circulantes que afectan a pacientes pediátricos. Los resultados obtenidos fueron: G1P [8], G2P [4], G3P [8], y G9P [8]⁽³⁷⁾. Los resultados fueron similares a los obtenidos en nuestro estudio, ya que son las mismas cepas de Rotavirus las que afectan con mayor frecuencia en Zaragoza, con la diferencia que G3P[8] es más frecuente que G2P[4] a diferencia de lo que ocurre en Japón.

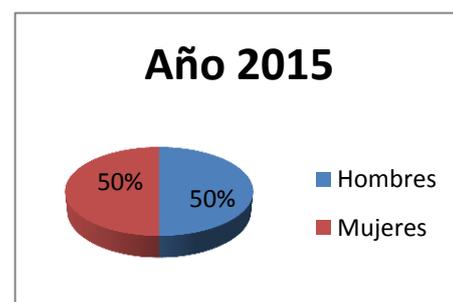
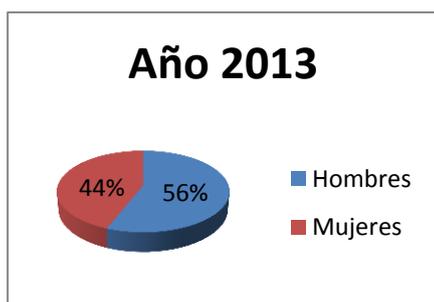
En un estudio piloto llevado a cabo entre noviembre de 2012 y abril de 2013 en un hospital en el sur de la India en niños mayores de 12 años y adultos con gastroenteritis aguda, G1P [8] fue el genotipo más común. Se detectó una cepa G1P [6], una G1P [4] y dos cepas G9P [4], mientras que una muestra mostró genotipos mixtos de G2 y G9P [4]⁽³⁸⁾. En comparación de lo ocurrido en nuestro estudio en Zaragoza, G1P[8] también fue el genotipo más frecuente, sin embargo no encontramos ninguna cepa del resto de las que encontraron en la India.

DISTRIBUCIÓN POR SEXOS

-Rotavirus

La prevalencia es mayor en el sexo masculino que en el femenino en los años estudiados, a excepción del año 2015 en el que no hubo diferencias.

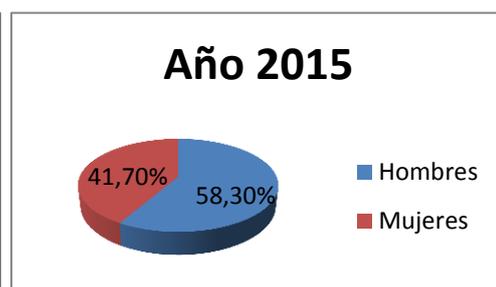
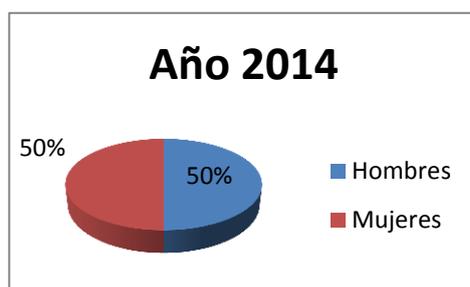
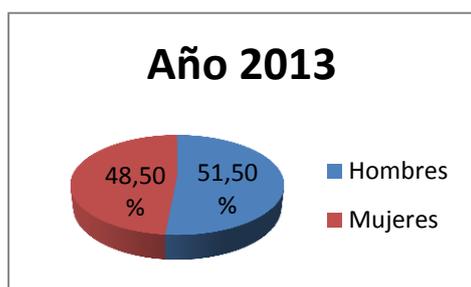
- En el año 2013 observamos 56% (72 casos) de las infecciones en varones y un 44% en mujeres (57 casos).
- En el año 2014 observamos un 62% de infecciones en el sexo masculino (65 casos) y 38% (40 casos) en el sexo femenino.
- En el año 2015, se produjo una igualdad de afectación en ambos sexos, siendo 85 pacientes afectados de sexo masculino y 85 de sexo femenino



-Astrovirus

La prevalencia es mayor en el sexo masculino que en el femenino en los años estudiados, a excepción del 2014 en el no hubo diferencias.

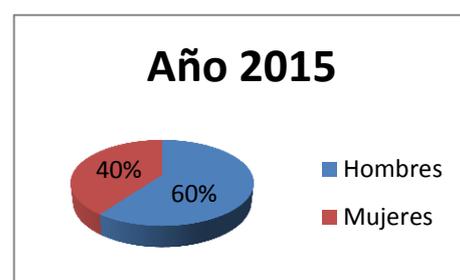
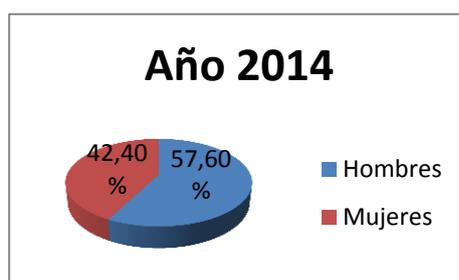
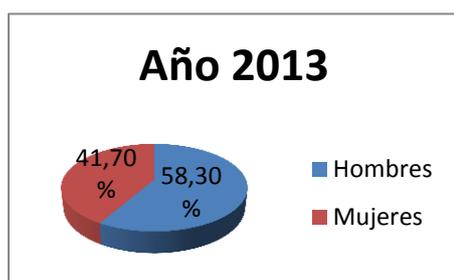
- En 2013 se afectaron 51,5% (17 casos) varones y 48,5% (16 casos) de mujeres. En 2014, la prevalencia fue igual en ambos sexos siendo 10 pacientes de cada sexo.
- En el año 2015, la afectación fue mayor en el sexo masculino (58,3%, 7 casos) respecto a 41,7% (5 casos) de mujeres.



-Adenovirus

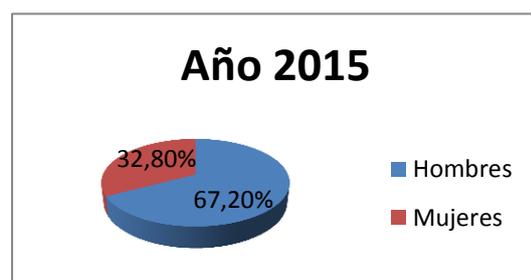
La prevalencia es mayor en el sexo masculino en los 3 años estudiados:

- En 2013, 58,3% (14 casos) varones, 41,7% (10 casos) mujeres.
- En 2014, 57,6% (38 casos) varones, 42,4% (28 casos) mujeres.
- En 2015, 60% (47 casos) varones, 40% (31 casos) mujeres.



-Norovirus:

Debido a que el test de diagnóstico de Norovirus se introdujo en 2015, no podemos comparar su prevalencia por sexos con otros años, sin embargo, observamos que Norovirus también es más frecuente en el sexo masculino (67,2%, 39 casos)



que en el sexo femenino (67,2%, 19 casos).

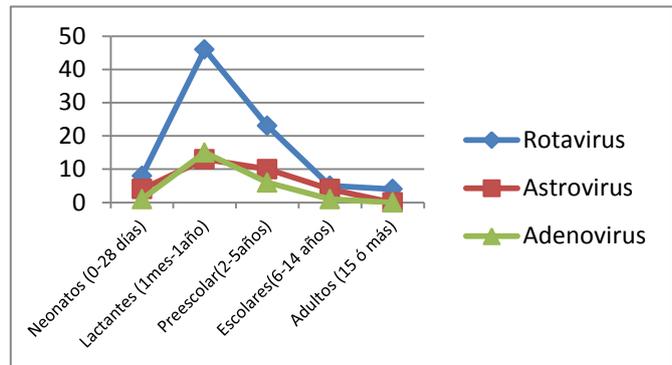
FRECUENCIA POR EDADES

-Año 2013

Las infecciones gastrointestinales víricas son más frecuentes en el periodo de “lactantes” (periodo comprendido entre 1 mes de vida y un año, ambos incluidos)

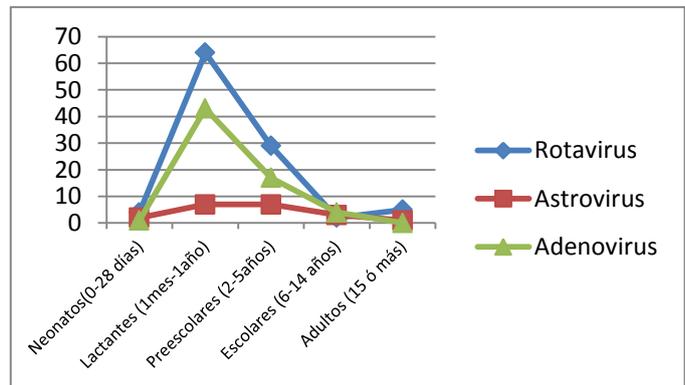
La infección es más frecuente en lactantes en los 3 virus en los que se realizó el estudio, siendo más prevalente Rotavirus, con 46 lactantes afectados, mientras que Astrovirus (13 casos) y Adenovirus (15 casos) afectaron a un número similar de lactantes.

Las infecciones por estos virus disminuyen con la edad, siendo menos frecuentes en escolares y prácticamente nulo en adultos.



-Año 2014

En 2014, la afectación también es mayor en los lactantes. Rotavirus es el virus más frecuente. Adenovirus aumentó su prevalencia en lactantes en comparación con 2013 y Astrovirus mantuvo una prevalencia similar entre los lactantes y los preescolares.

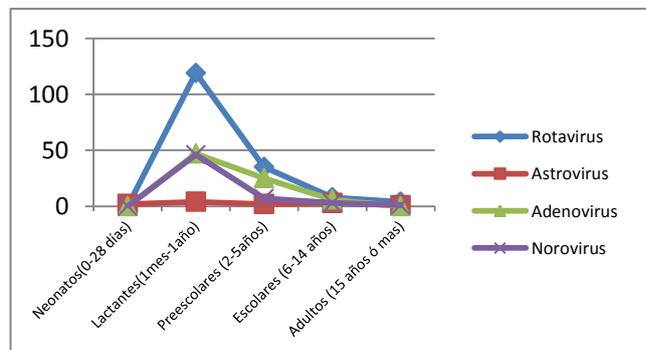


Igual que el año anterior, las infecciones son menos frecuentes en adultos, aunque la prevalencia en edades adultas fue mayor que el año anterior.

-Año 2015

En 2015 la infección por virus fue más frecuente en lactantes, igual que en años anteriores. Rotavirus de nuevo fue el virus más prevalente, con afectación prácticamente nula en adultos.

Norovirus, primera vez estudiado, sigue el mismo comportamiento que el resto de virus.



Astrovirus, de nuevo fue más frecuente en lactantes y preescolares.

Adenovirus fue más frecuente en lactantes, aunque también tuvo una prevalencia elevada en preescolares, a diferencia de años anteriores.

Tanto Adenovirus, como Astrovirus, representan prevalencia nula en pacientes adultos

En un estudio realizado en África Subsahariana se reclutó un total de 333 casos y 333 controles entre diciembre de 2011 y noviembre de 2013. La edad media de los casos fue de 12,9 meses, y el 56% eran hombres⁽³⁸⁾. En comparación con nuestro estudio en Zaragoza el porcentaje de varones fue similar así como la edad de afectación.

En un artículo publicado en Gwacheon, Korea en 2014 para el estudio de la prevalencia de Astrovirus en pacientes con gastroenteritis aguda mediante el uso de la RT-PCR y electroforesis, la prevalencia de Astrovirus fue de 1% (94 / 9.597 pacientes), la mayoría en lactantes. Los resultados fueron mayores en pacientes de 0-14 años, el 69% fueron mujeres y de ellas el 69,2% lactantes (0-12 meses), mientras que el 61,5% eran pacientes de 1-4 años de edad⁽³⁹⁾. En Zaragoza, no existen muchas diferencias en cuanto a la afectación por sexos, siendo predominante la afectación del sexo masculino a diferencia que en Korea. Respecto a la edad, la afectación de Adenovirus en Zaragoza es igual que en Korea afectando más a los lactantes.

En Mersin (Turquia) se publicó en 2010 un estudio realizado entre enero y diciembre de 2008 con el objetivo de determinar la frecuencia de las infecciones por rotavirus, adenovirus y astrovirus en niños con gastroenteritis aguda en la región y para evaluar estas frecuencias según la edad, sexo y características estacionales. Se recogieron un total de 363 muestras de heces, 182 de mujeres y 181 de varones (rango de edad: 0-6 años). La presencia de antígenos en las muestras se investigaron mediante el método de ELISA. Los resultados finalmente obtenidos fueron 72,6% detecciones de rotavirus, 23,6% de adenovirus y 3,7% de astrovirus⁽⁴⁰⁾, en nuestro estudio en Zaragoza, la prevalencia de Rotavirus igualmente es superior al resto de virus estudiados.

La diferencia entre las tasas de positividad de antígenos virales en hombres y mujeres fue estadísticamente significativa ($p > 0,05$), siendo más frecuente en hombres⁽⁴⁰⁾, igual que en Zaragoza, el sexo afectado con mayor frecuencia es el masculino.

Los tres virus diagnosticados alcanzaron su máxima prevalencia por edades en el grupo de lactantes de 12 a 24 meses de edad⁽⁴⁰⁾, de la misma manera que ocurre en Zaragoza.

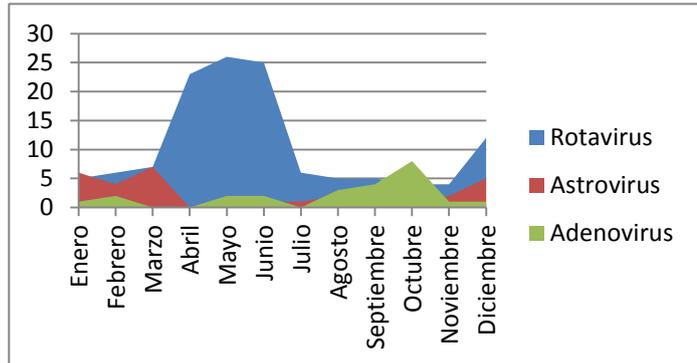
En un estudio realizado en Porto Velho, estado de Rondonia, Brasil, en niños menores de 6 años hospitalizados por diarrea grave, se estudió la presencia de

Norovirus, Adenovirus y Astrovirus desde febrero de 2010 hasta febrero de 2012. Norovirus fue el más detectado (7,8%) se encontró en todas las edades y fue más frecuente en varones de 0 a 18 meses de edad⁽⁴¹⁾, mientras que en Zaragoza Norovirus también predomina en el sexo masculino, en la edad de lactantes, igual que ocurrió en Brasil.

DISTRIBUCIÓN DE LOS VIRUS SEGÚN LA ESTACIONALIDAD:

-Año 2013

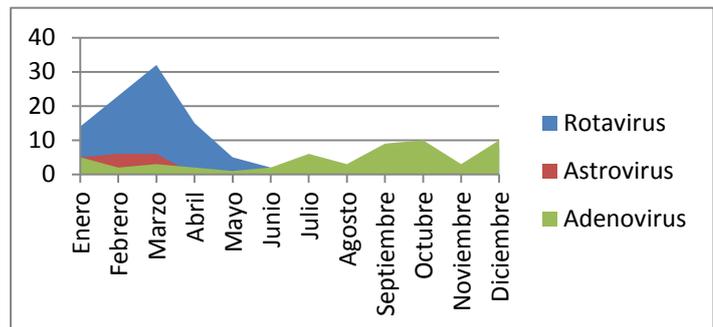
- Rotavirus: En 2013 estuvo presente en todas las épocas del año con predominio en los meses de primavera, alcanzando su máxima prevalencia en mayo, luego disminuyó y volvió a aumentar de nuevo en otoño.
- Astrovirus: Más frecuente en invierno, comenzó a aumentar en enero manteniéndose en el tiempo para alcanzar su máxima prevalencia a finales de febrero principios de marzo donde prácticamente desapareció hasta aparecer de nuevo en noviembre.
- Adenovirus: Estuvo presente durante enero y febrero, desapareció en marzo y volvió a aparecer a finales de abril, mayo y junio, sin embargo, en julio comenzó a aumentar para alcanzar su máxima prevalencia en octubre, por lo que podemos considerar que durante 2013 fue un patógeno principalmente de otoño



-Año 2014

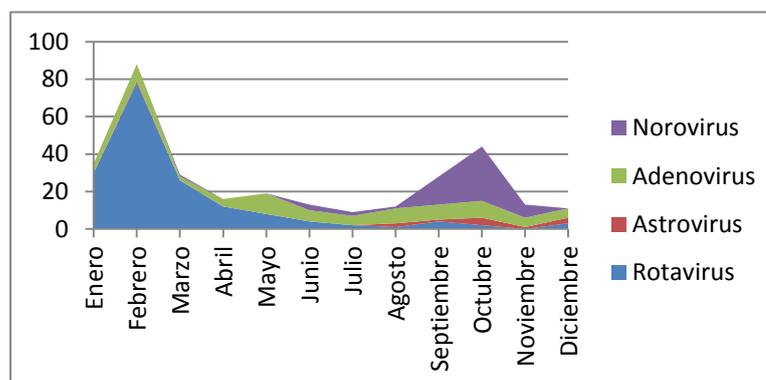
En 2014 observamos diferencias:

- Rotavirus comenzó en enero para alcanzar su máxima prevalencia en febrero-marzo y posteriormente prácticamente desapareció, mientras que el año anterior había estado presente todo el año.
- Astrovirus tuvo su máxima prevalencia en febrero, igual que el año anterior y se mantuvo durante finales de invierno-principios de primavera.



- Adenovirus, se mantuvo prácticamente presente durante todo el año, con varios picos de prevalencia, siendo mayor en los meses de otoño al igual que el año anterior. Sin embargo, a diferencia del año 2013, en 2014 presentó un gran aumento en noviembre y diciembre, mientras que en 2013 fue cuando comenzó a desaparecer.

-Año 2015:



- Rotavirus tuvo una distribución prácticamente igual que en el año anterior, su máxima prevalencia fue en febrero para disminuir el resto del año
- Astrovirus tuvo un comportamiento diferente a los 2 años anteriores. Alcanzó su máxima prevalencia en octubre, mientras que en los años anteriores se había producido en febrero.
- Adenovirus tuvo comportamiento similar al 2014, manteniéndose constante a lo largo de todo el año. En 2015 tuvo su mayor prevalencia en enero-febrero a diferencia de los dos años anteriores que fue en octubre.
- Norovirus, predominó en los meses de otoño, especialmente en octubre.

En un estudio realizado en Vellore (India) en el año 2014, se demostró como la prevalencia de Rotavirus era mayor en el periodo de Octubre-Marzo⁽⁴²⁾, mientras que en Zaragoza, rotavirus es más prevalente en los primeros meses del año, a excepción del 2013 que lo fue en primavera.

El estudio publicado en el Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa de Zaragoza en el año 2000 acerca de Astrovirus, ya comentado anteriormente, afirma que la mayor afectación por Astrovirus en el año 2000 se produjo en los meses de verano⁽²²⁾, mientras que en nuestro estudio hemos observado que durante el periodo de tiempo 2013-2015, la máxima afectación por Astrovirus se produjo en los meses de otoño e invierno, aunque también estuvo presente en los meses de verano.

Un artículo publicado sobre la etiopatogenia de Norovirus en América Latina en marzo de 2016, relata la gran variabilidad de la prevalencia estacional de Norovirus en este continente, el estudio defiende como causante de este hecho

la gran variabilidad climática norte-sur dentro del continente, así como la diferencia de ecosistemas, de la situación económica-social y de la concentración de la población (zonas urbanas muy pobladas frente a comunidades cerradas)⁽⁴³⁾, mientras que en nuestro estudio en Zaragoza, Norovirus tiene una prevalencia mucho mayor en septiembre y octubre.

Un estudio publicado en 2015 y realizado desde junio 2012 a junio 2013, demuestra que la diarrea infecciosa causada por Rotavirus y Adenovirus serotipos 40,41, es una de las causas principales de muerte en niños en África subsahariana, el estudio determina un aumento de la prevalencia de rotavirus en los meses secos mientras que adenovirus no demuestra predominio de estacionalidad ⁽⁴⁴⁾, mientras que en Zaragoza Rotavirus muestra preferencia por los meses de invierno (a excepción de 2013) y adenovirus muestra sus mayores prevalencias en otoño (a excepción de 2015, mayor en mayo).

En el estudio realizado en Turquía comentado anteriormente, Las infecciones por rotavirus se detectaron principalmente en la temporada de invierno (diciembre, enero, febrero y marzo) disminuyó durante el verano, y comenzó a subir en noviembre⁽⁴⁰⁾, mientras que en Zaragoza en 2014 y 2015 siguió esa misma distribución, en 2013 fue más frecuente los meses de primavera.

Adenovirus y Astrovirus predominaron en otoño e invierno, mientras que no se detectaron casos entre mayo y agosto⁽⁴⁰⁾, sin embargo en Zaragoza, en 2013 ambos fueron detectados durante todo el año, en 2014 y 2015 Astrovirus predominó en otoño e invierno igual que en Turquía, mientras adenovirus fue persistente durante ambos años.

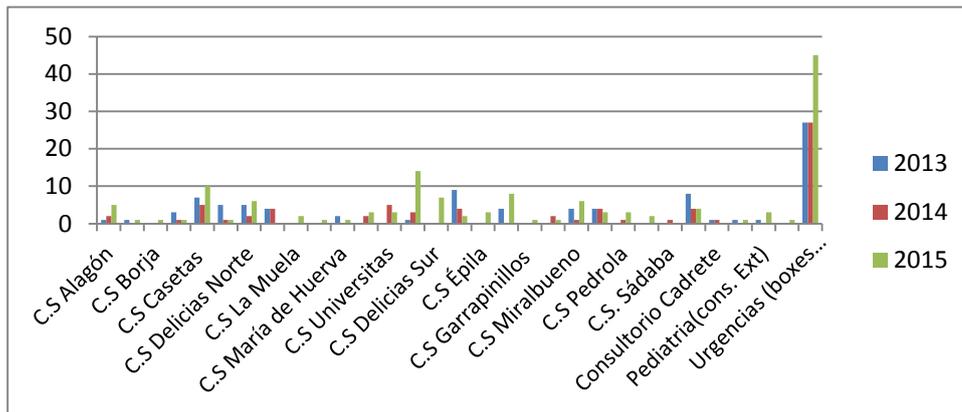
COMPARACIÓN DEL NÚMERO DE DIAGNÓSTICOS REALIZADOS EN CENTROS DE SALUD Y URGENCIAS

-Rotavirus

Durante el periodo de tiempo 2013-2015 observamos que Rotavirus cada vez ha sido más frecuente en los boxes de urgencias (27 casos diagnosticados en urgencias en 2013 frente a 45 casos en el año 2015).

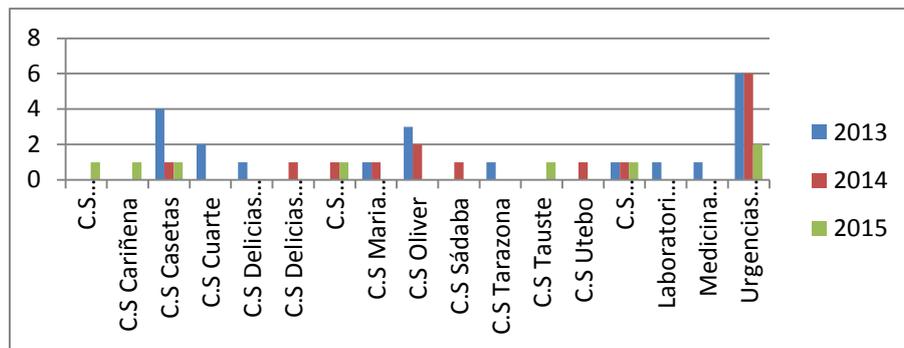
Los diagnósticos de Rotavirus son similares en todos los centros de salud entre unos años y otros, a excepción de Utebo donde se diagnosticaron 1 caso en 2013 y 3 en 2014 frente a 14 casos en el 2015.

También hay diferencias en Delicias Sur, donde los diagnósticos fueron nulos en 2013 y 2014 frente a 7 casos en 2015.



-Astrovirus

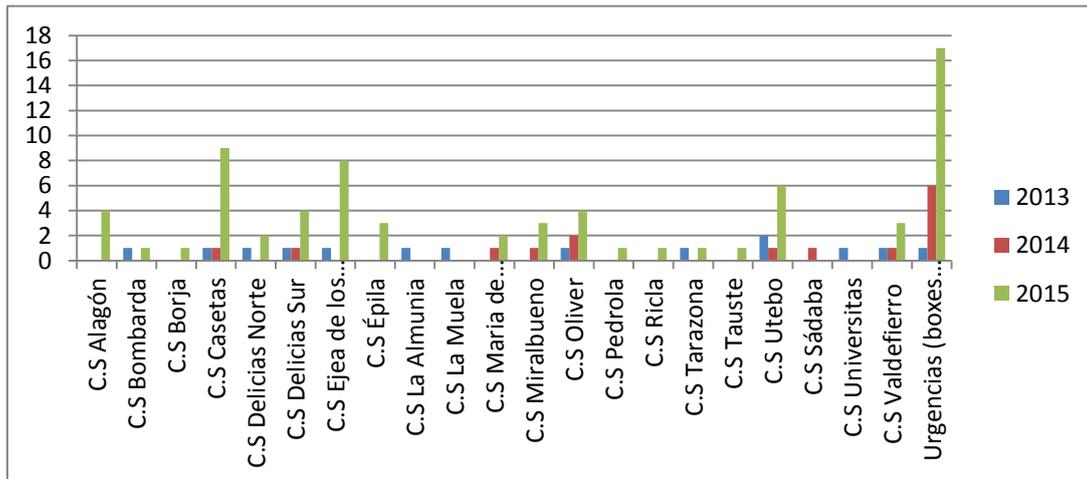
Astrovirus ha disminuido en el tiempo. Se ha producido una disminución de casos en urgencias (6 casos en 2013, 2 casos en 2015) y en los centros de salud



(Centro de Salud Casetas 4 peticiones en 2013, 1 petición en 2015).

-Adenovirus

Adenovirus ha ido creciendo en el tiempo. En urgencias ha sido cada vez más frecuente (1 caso en 2013, 17 en 2015) y lo mismo ocurre en todos los centros de salud (Ejea: 1 caso en 2013, 8 casos en 2015, Oliver: 1 caso en 2013, 4 casos en 2015, Alagón: ningún caso en 2013, 4 casos en 2015...)

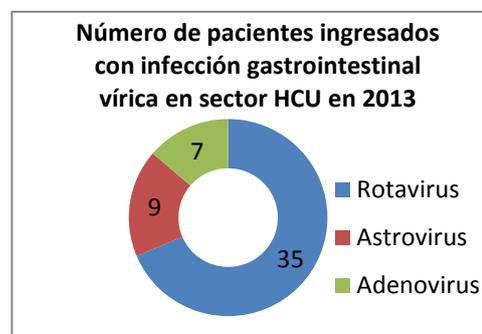


En Shangai, China, durante el periodo de tiempo de enero de 2010 a diciembre de 2011 se obtuvieron un total de 436 muestras de heces procedentes de ambulatorios de pacientes pediátricos con el objetivo de investigar las características genéticas y comparar las funciones de estos cinco virus en niños ambulatorios con diarrea en Shanghai. Rotavirus fue el virus más frecuente (43,3%), seguido por el Norovirus (28,9%, del que un 73% fue NoVGII.4), Adenovirus (7,1%), Astrovirus (1,8%) ⁽⁴⁵⁾. En Zaragoza, el virus más diagnosticado en los centros de Salud también es el Rotavirus, sin embargo el segundo más frecuente es Adenovirus, no Norovirus.

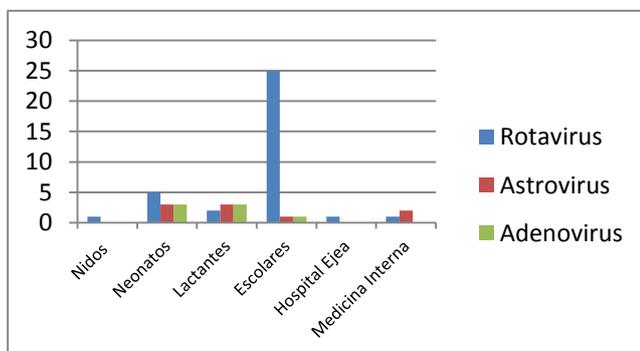
DISTRIBUCIÓN DE LOS PACIENTES INGRESADOS

-Año 2013

En 2013 fueron ingresados el 1,97% de los pacientes (51 casos: 35 por Rotavirus, 9 por Astrovirus y 7 Adenovirus)



La causa de ingreso más frecuente fue Rotavirus: 1 ingreso en nidos, 5 en neonatos, 2 en lactantes, 25 en escolares, 1 en medicina interna y 1 en Ejea.



Adenovirus, causó 7 ingresos: 3 en neonatos, 3 en lactantes, 1 en escolar y 2 en medicina interna.

Astrovirus produjo el mismo número de ingresos que Adenovirus pero ninguno en medicina interna.

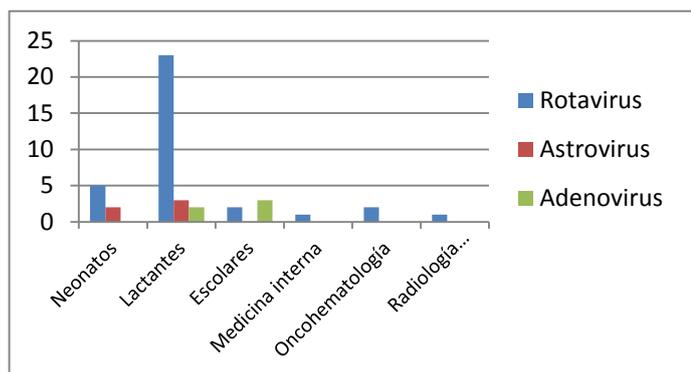
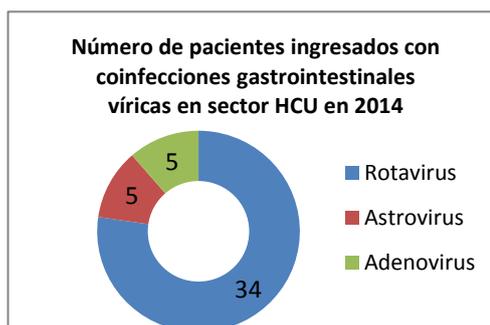
-Año 2014

En 2014 el 1,96% de pacientes fue ingresado, porcentaje muy similar al año anterior (44 casos: 34 casos de Rotavirus, 5 Astrovirus, 5 Adenovirus).

Rotavirus produjo 30 ingresos en pediatría: (5 en neonatos, 23 en lactantes, 2 escolares) y 4 casos en adultos.

Astrovirus causó 5 ingresos (2 en neonatos, 3 en lactantes) y Adenovirus 5 ingresos (2 en lactantes, 3 en escolares).

Ninguno de los 2 causaron ingresos en pacientes adultos.



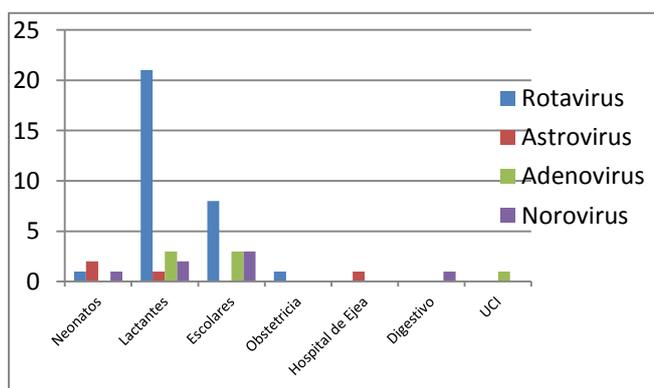
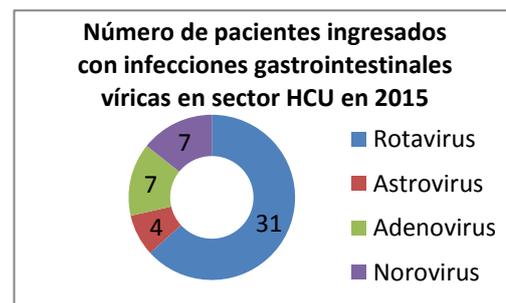
-Año 2015

En 2015 se ingresaron el 1,9% de los pacientes (49 casos: 31 casos Rotavirus, 7 casos Adenovirus, 7 casos Norovirus, 4 casos Astrovirus)

Rotavirus, 31 ingresos: 21 lactantes, 8 escolares, 1 neonato y 1 caso en obstetricia. De nuevo el grupo más afectado fueron los lactantes.

Astrovirus, 2 neonatos, 1 lactante, igual que otros años.

Adenovirus igual que en 2013 afectó a 3 lactantes y 3 escolares, afectando también a un paciente que se encontraba ingresado en la UCI.



Norovirus, primer año que se estudiaba afectó 7 pacientes (3 pacientes escolares, 2 lactantes, 1 en neonatos, 1 adulto en digestivo).

En un estudio realizado en Valencia durante los años 2008-2011, se investigó Norovirus por RT-PCR en las muestras de heces de 55 pacientes que

padecieron brotes de gastroenteritis aguda a lo largo de un periodo de 4 años y a la vez en 332 casos esporádicos de gastroenteritis aguda durante el mismo período. Ninguno de los casos de gastroenteritis que fueron adquiridos en la comunidad, requirieron hospitalización,⁽²²⁾ mientras que en nuestro estudio hemos podido comprobar como en Zaragoza sí que fue necesario el ingreso de 7 pacientes que se infectaron por Norovirus.

Un artículo publicado en Tarnów (Polonia) que tiene como objetivo evaluar la incidencia y la distribución de la gastroenteritis asociada a la salud en pacientes hospitalizados en la planta de pediatría en el Hospital St. Lukas Provincial, tras un periodo de estudio de 7 años (2007-2013) en el que se identificaron 251 casos de gastroenteritis, concluye con la idea de que los rotavirus son los agentes etiológicos más comúnmente identificados de gastroenteritis asociada a la salud en la planta de pediatría, siendo los niños menores de 2 años fueron los más frecuentemente afectados ⁽⁴⁶⁾. Los resultados de este estudio coinciden con los que hemos obtenido en Zaragoza, ya que la causa principal de ingreso en la planta de pediatría ha salido en lactantes debido al rotavirus.

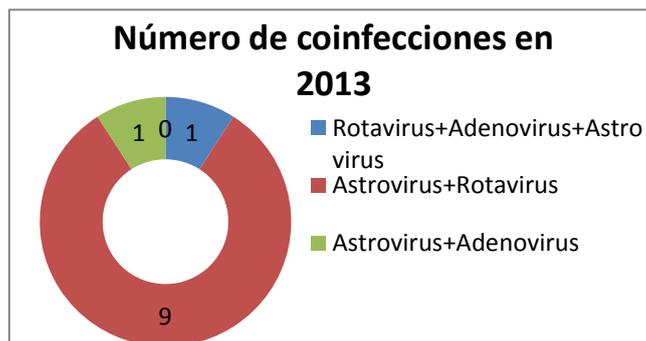
Un estudio realizado en Lublin (Polonia) con el objetivo del determinar la etiología de las infecciones intestinales de los pacientes hospitalizados, así como la evaluación de la situación epidemiológica del hospital en cuanto a las infecciones gastrointestinales causadas por virus en el año 2011, se mostró que las infecciones por rotavirus en los pacientes hospitalizados fue del 87%, mientras que la infección por norovirus afectaba al 58% de los pacientes⁽⁴⁷⁾. En Zaragoza, igualmente la mayor causa de ingresos está producida por Rotavirus, sin embargo, los ingresos por Norovirus son mucho menores que el 58% de los pacientes.

En un estudio epidemiológico realizado acerca de los brotes de Norovirus comunicados a la Agencia de Salud Pública de Barcelona 2010-2012, con el objetivo de determinar la incidencia de Norovirus en los centros de cuidado de ancianos, se registraron 27 brotes de Norovirus, donde 5 ocurrieron en hogares de ancianos (95 casos con letalidad de 1,05%), algunos de ellos precisaron ingreso⁽⁴⁸⁾, mientras que en nuestro estudio en Zaragoza, los pacientes adultos ingresados por Norovirus únicamente fue uno en digestivo.

COINFECCIONES EN EL PERIODO DE TIEMPO ESTUDIADO

-Año 2013

De los pacientes infectados por Rotavirus, Adenovirus, Astrovirus en 2013:



- 1 paciente neonato de 9 días padecía coinfección de Rotavirus, Adenovirus y Astrovirus.
- 9 coinfecciones de Astrovirus y Rotavirus.
- 1 coinfección de Astrovirus y Adenovirus.
- Ninguna coinfección de Rotavirus y adenovirus aislada.

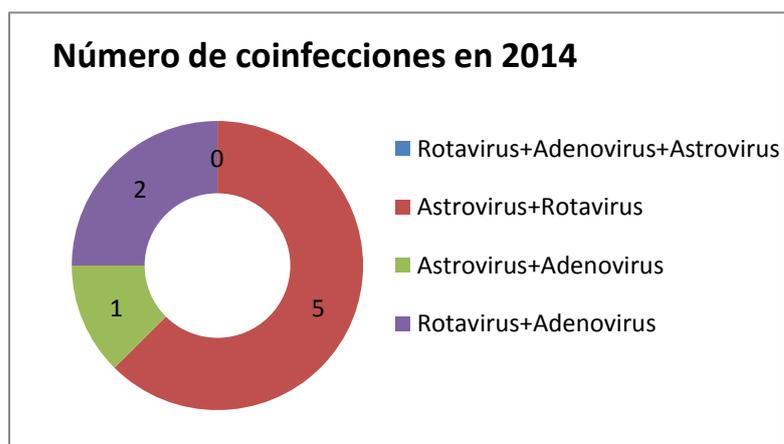
Como en este año todavía no se realizaba la detección de norovirus, no podemos saber si existían coinfecciones con dicho virus.

En 2013 la coinfección más frecuente fue la producida por Astrovirus y Rotavirus.

-Año 2014

De los pacientes infectados por Rotavirus, Adenovirus, Astrovirus en 2014:

- No se produjo ninguna coinfección por los tres virus.
- 5 coinfecciones de Rotavirus y Astrovirus.
- 2 coinfecciones de Rotavirus y Adenovirus.
- 1 coinfección de Astrovirus y Adenovirus.



Durante este año tampoco se determinaba todavía el Norovirus, por lo que tampoco podemos saber si se produjeron coinfecciones con él.

La coinfección más frecuente durante 2014 también fue la asociación de Rotavirus y Astrovirus.

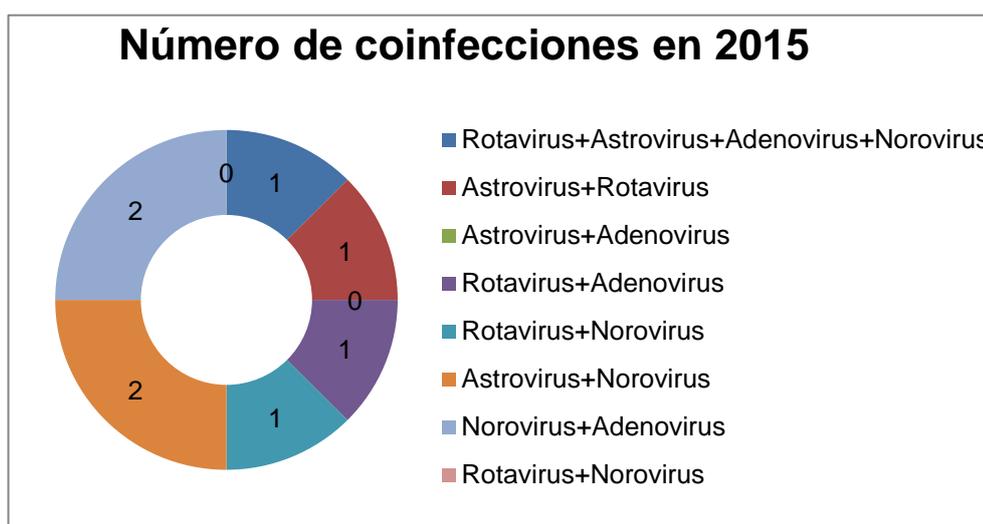
-Año 2015

Del total de pacientes infectados por Rotavirus, Astrovirus, Adenovirus y Norovirus se produjeron las coinfecciones:

- 1 paciente de 7 años que acudió a urgencias con una coinfección de los 4 virus.
- 1 coinfección de Rotavirus y Astrovirus
- 1 coinfección de Rotavirus y Norovirus
- 1 coinfección de Rota y Adenovirus
- 2 coinfecciones de Astrovirus y Norovirus
- 2 coinfecciones de Norovirus y Adenovirus
- Ninguna coinfección de Adenovirus y Astrovirus aislada
- Ninguna coinfección de Rotavirus y Norovirus aislada

En abril del 2015 es cuando se empezó a determinar el Norovirus en heces, por lo tanto hemos de saber que el número de coinfecciones observadas no se produjeron en todo el año sino a partir de Abril.

No hubo ninguna coinfección predominante durante este año, sin embargo sí que se observa que en la mayor parte de las coinfecciones observadas participa el Norovirus. Las más frecuentes fueron: coinfección por Adenovirus y Norovirus (2 casos) y la coinfección de Astrovirus con Norovirus (2 casos)



En el estudio realizado en Madrid durante el año 2010-2011 mencionado anteriormente, en las 370 muestras obtenidas obtuvieron 13 coinfecciones en las que participaba rotavirus, 11 donde participaba norovirus, 11 astrovirus y 3

adenovirus, siendo la asociación más frecuente rotavirus y astrovirus, ⁽¹⁷⁾ de la misma forma que ocurre en Zaragoza, donde hemos comprobado que la coinfección más frecuente desde 2013 a 2015 ha sido la compuesta por rotavirus y astrovirus, a excepción del año 2015.

En el estudio publicado en 2010 de Turquía comentado anteriormente, la asociación más frecuente detectada fue Rotavirus y Adenovirus (26/363, 7,2%)⁽⁴⁰⁾, a diferencia que ocurrió en Zaragoza en 2013 y 2014, años en los que la coinfección más frecuente fue Rotavirus y Astrovirus, y en el año 2015 fueron Astrovirus y Norovirus y Norovirus y Adenovirus.

En el Servicio de Pediatría del Hospital Servero Ochoa de Madrid, Leganés, en 2003 se publicó un estudio en el que las coinfecciones virales más comunes fueron las infecciones por Rotavirus y Astrovirus (13/26) y el Rotavirus y Adenovirus (10/26)⁽⁴⁹⁾, las mismas coinfecciones que se han observado en Zaragoza.

En el estudio realizado en los ambulatorios de Shangai durante los años 2010-2011, ya comentado anteriormente, el porcentaje de coinfecciones fue del 14,9%, donde la combinación más frecuente fue Norovirus más Rotavirus⁽⁴⁵⁾, coinfección que no se ha producido en Zaragoza con ambos virus solos.

En el estudio realizado en Tarnew (Polonia) comentado anteriormente, la segunda causa que más ingresos produjo después de la infección por Rotavirus, fue la coinfección producida por Rotavirus y Adenovirus⁽⁴⁶⁾, suceso que no se produjo en Zaragoza, ya que el número de coinfecciones fue mínimo en comparación con las infecciones por un solo virus.

Conclusiones

- I. El virus causante del mayor número de infecciones gastrointestinales víricas en nuestro medio es Rotavirus (6-7% de las muestras analizadas) entre los años 2013 y 2015, seguido de Adenovirus (3% de las muestras).
 - II. La prevalencia por Astrovirus ha ido disminuyendo con el tiempo pasando del 1,5% en 2013 al 0,46% en 2015.
 - III. Norovirus empezó a estudiarse en el año 2015. Donde detectamos una prevalencia del 3%, igual que en el caso de adenovirus.
 - IV. Las infecciones gastrointestinales en Zaragoza son más frecuentes en el sexo masculino y en pacientes de menor edad siendo el mayor número de pacientes ingresados neonatos y lactantes. Los adultos ingresados son pacientes inmunodeprimidos (UCI, medicina interna, oncohematología).
 - V. La prevalencia diagnóstica es mayor en urgencias que en centros de salud, a excepción de Adenovirus en 2013. El Centro de Salud Casetas es el centro en el que más infecciones gastrointestinales se diagnostican.
 - VI. La distribución estacional de los virus en Zaragoza es:
 - Rotavirus predomina en invierno, máxima prevalencia en febrero, a excepción del año 2013 que fue en primavera.
 - Adenovirus se mantiene de manera continua en el tiempo, alcanzando su máxima prevalencia en otoño.
 - Astrovirus es un virus de meses fríos con máxima prevalencia en febrero a diferencia de 2015 que fue mayor en otoño.
 - Norovirus predomina en otoño.
 - VII. La coinfección más prevalente en Zaragoza es la asociación de Rotavirus y Astrovirus, similar al resto de estudios comparativos.
 - VIII. El genotipo de Rotavirus más frecuente en Zaragoza es G1P[8] seguido de G3P[8], a diferencia de lo que ocurre en otros lugares del mundo donde la mayor prevalencia es G1P[8] y G2P[8].
- Bibliografía

Bibliografía

1. Roman 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
2. Clark B, McHendrick. A review of viral gastroenteritis. *Curr Opin Infect Dis.* 2004;17:19
3. Levinson W. Virología clínica. En Giber I. *Microbiología e Inmunología médicas.* Octava Edición. Madrid: McGraw-Hill-Interamericana de España; 2006.p.246-328.
4. Collier L, Oxford J. Virus de gastroenteritis. En Tovar MA. *Virología humana.* Tercera Edición. Mexico: Interamericana editores; 2008.p.97-102.
5. Cisterna R, Gallego L, Arrese E, Basaras M. Poxvirus, Adenovirus, Papilomavirus y Parvovirus. En EdiDe. *Compendio de microbiología médica.* Primera edición. Madrid: Harcourt;2004.p.284-292.
6. Alemany R, Bayley S, Bergelson JM, Bischoff JR, Cullen BR, Salas , et al. Adenoviridae. En Carrasco L, Almendral del Río JM. *Virus Patógenos.* Primera Edición. Madrid: Editorial Hélice;2006.p.209-222.
7. 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
8. 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: 565-572
9. Gonzalez Giménez B. Necesidad de la vacunación frente a rotavirus. *Revista Enfermería Castilla y León.* 2013; 5
10. Sanz Santaefemia FJ, Roa Francia MA, García Talavera ME, Tejedor Torres JC, Sebastián Planas M. Rotavirus: vieja enfermedad, nuevas vacunas. *Rev Pediatr Aten Primaria.* 2008; 10:89-98
11. Wilhelmi de Cal I, Mohedano del Pozo RB, Sánchez-Fauquier A. Rotavirus y otros virus productores de gastroenteritis aguda en la infancia. Servicio de Microbiología, Hospital Severo Ochoa. Leganés. Madrid. España. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2008;13:61-65
12. Álvarez Martínez M, Buesa Gómez J, Castillo García J, Vila Estape J. Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. SEIMC. 2008
13. Díez Domingo J, Baquero Artiago F, Del Castillo Martín F, Garcés Sánchez M, García García JJ, Giménez Sánchez F, et al. Vacunación frente a Rotavirus. Documento de consenso de las sociedades Científicas. Madrid: AEP, SEUP, Sociedad Española de Pediatría Extrahospitalaria y atención Primaria; 2008
14. Ortigosa del Castillo L. Vacunas frente a rotavirus. Situación actual. *BSCP Can Ped* 2006; 30, 2:31-36
15. Buesa J, Martínez-Costa C. Rotavirus infections, vaccines and virus variability. 2014. Elsevier España, S.L and Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica
16. Vesikari T, Matson DO, Dennehy P, Van Damme P, Santosham M, Rodríguez Z, et al. Safety and efficacy of a pentavalent human-bovine (WC3) reassortant rotavirus vaccine. *N Engl J Med.* 2006; 354:23-33
17. Sánchez-Fauquier A, González-Galán V, Arroyo S, Carbonero 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. October 13
18. Sanaei Dashti A, Ghahremani P, Hashempoor T, Karimi A. Molecular Epidemiology of Enteric Adenovirus Gastroenteritis in under-Five-Year-Old Children in Iran. *Gastroenterol Res Pract.* 2016;2016:2045697

19. Corcoran MS, van Well GT, van Loo IH. Diagnosis of viral gastroenteritis in children: interpretation of real-time PCR results and relation to clinical symptoms. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2014; 33:1663-73
20. Baum SG, Mandell GL, Bennett JE, Dolin R. Principles and practice of Infectious diseases. Elsevier Churchill Livingstone. 2005
21. López L, Castillo FJ, Fernández MA, Clavel A, Rubio MC, Gómez Lus R, et al. Astrovirus infection among children with gastroenteritis in the city of Zaragoza, Spain. 2000
22. Carmona-Vicente N, Fernández-Jimenez M, Ribes J, Tellez-Castillo CJ, Khodayar-Pardo P, Buesa J, et al. Norovirus infections and seroprevalence of genotype GII.4-Specific antibodies in a Spanish population. October 2014
23. Dinu S, Nagy M, Negru DG, Popovici ED, Zota L, Oprea G. Molecular identification of emergent GII.P17-GII.17 norovirus genotype, Romania, 2015. *Euro Surveill*. 2016 Feb; 18;21
24. Cooper E, Blamey S. A Norovirus gastroenteritis epidemic in a long-term-care facility. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2005; 26:256-8
25. Newman KL, Leon JS. Norovirus immunology: Of mice and mechanisms. *Eur J Immunol*. 2015 Oct; 45:2742-57
26. Knoll BM, Lindesmith LC, Yount BL, Baric RS, Marty FM. Resolution of diarrhea in an immunocompromised patient with chronic norovirus gastroenteritis correlates with constitution of specific antibody blockade titer. 2016 Jan
27. Newman KL, Moe CL, Kirby AE, Flanders WD, Parkos CA, Leon JS. Norovirus in symptomatic and asymptomatic individuals: Cytokines and viral shedding. *Clin Exp Immunol*. 2016 Jan
28. Li J, Pan H, Xiao W, Hu J, Yuan Z. Epidemiology of confirmed and suspected norovirus outbreaks in Shanghai, 2010-2014. *Zhonghua Liu Xing Bing Xue Za Zhi*. 2015 Nov; 36:1249-52
29. Departament de Salut. Guia per a la prevenció i el control de les toxiinfeccions alimentàries. 2ª -edició. Barcelona: Direcció General de Salut Pública; 2006
30. Treanor JJ, Dolin R. Astrovirus and Picobirnaviruses. En: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R. Principles and practice of Infectious diseases. 6th edition. Philadelphia: Elsevier Churchill Livingstone; 2005
31. Royuela E, Negro A, Sánchez-Fauquier A. Development of a one step real-time RT-PCR method for sensitive detection of human astrovirus. *J Virol Methods*. 2006; 133: 14-9
32. 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
33. Treanor JJ, Dolin R. Astrovirus and Picobirnaviruses. En: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R. Principles and practice of Infectious diseases. 6th edition. Philadelphia: Elsevier Churchill Livingstone; 2005
34. Cukor G and Blacklow N. Human viral gastroenteritis. En *Microbiological reviews*. Vol. 48 No; 1984 June. pp. 157-179
35. Caracterização molecular de rotavírus humanos do tipo G1 detectados em crianças de Belém, Pará, Brasil. Molecular characterization of G1 human rotaviruses detected in children from Belém, Pará, Brazil
36. Gerstel L, Rodrigo MP, Adiego B, Luquero FJ, Revilla MJ, Castillo FJ, et al. Is Rotavirus contributing to an increase of diarrhoea in a region of Spain? *Epidemiol Infect*. 2009 Jul; 137:950-6
37. Thongprachum A, Khamrin P, Maneekarn N, Hayakawa S, Ushijima H. Epidemiology of gastroenteritis viruses in Japan: Prevalence, seasonality, and outbreak. *J Med Virol*. 2016 Apr; 88:551-70

38. Anandan S, Peter R, Aramugam R, Ismail N, Veeraraghavan B, Kang G. Group A rotavirus gastroenteritis in older children and adults at a hospital in southern India. *Vaccine*. 2014 Aug;11;32 Suppl 1:A33-5
39. Breurec S, Vanel N, Bata P, Chartier L, Farra A, Favennec L, et al. Etiology and Epidemiology of Diarrhea in Hospitalized Children from Low Income Country: A Matched Case-Control Study in Central African Republic. *PLoS Negl Trop Dis*. 2016 Jan;5:10
40. Ham H, Oh S, Jang J, Jo S, Choi S, Pak S. Prevalence of human astrovirus in patients with acute gastroenteritis. *Ann Lab Med*. 2014 Mar;34:145-7
41. Ozdemir S, Delialioğlu N, Emekdaş G. Investigation of rotavirus, adenovirus and astrovirus frequencies in children with acute gastroenteritis and evaluation of epidemiological features. *Mikrobiyol Bul*. 2010 Oct;44:571-8
42. Amaral MS, Estevam GK, Penatti M, Lafontaine R, Lima IC, Spada PK, et al. The prevalence of norovirus, astrovirus and adenovirus infections among hospitalised children with acute gastroenteritis in Porto Velho, state of Rondônia, western Brazilian Amazon. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2015 Apr;110:215-21
43. Paul A, Gladstone BP, Mukhopadhyaya I, Kang G. Rotavirus infections in a community based cohort in Vellore, India. *Vaccine*. 2014 Aug 11;32
44. da Silva Poló T, Peiró JR, Mendes LC, Ludwig LF, de Oliveira-Filho EF, Bucardo F, et al. Human norovirus infection in Latin America. *J Clin Virol*. 2016 Mar;16:8:111-119
45. Mayindou G, Ngokana B, Sidibé A, Moundélé V, Koukouikila-Koussounda F, Christevy Vouvoungui J, et al. Molecular epidemiology and surveillance of circulating rotavirus and adenovirus in Congolese children with gastroenteritis. *J Med Virol*. 2016 Apr;88:596-605
46. Lu L, Jia R, Zhong H, Xu M, Su L, Cao L, et al. Molecular characterization and multiple infections of rotavirus, norovirus, sapovirus, astrovirus and adenovirus in outpatients with sporadic gastroenteritis in Shanghai, China, 2010-2011. *Arch Virol*. 2015 May;160:1229-38
47. Wolak Z, Wałaszek MZ, Dobroś W. Incidence of healthcare-associated gastroenteritis in children hospitalized on paediatric ward in provincial hospital in 2007-2013. *Przegl Epidemiol*. 2015;69:33-9
48. Puacz E, Cwikła S, Piasecka-Twaróg M. Analysis of norovirus and rotavirus infections of patients hospitalized in the General Specialist Hospital in Lublin. Retrospective studies. *Med Dosw Mikrobiol*. 2013;65:57-64
49. Moreno A, Manzanares-Laya S, Razquin E, Guix S, Domínguez Á, de Simón M. Grupo de Trabajo para el Estudio de los Brotes de Gastroenteritis Aguda Vírica en Cataluña. [Norovirus outbreaks in geriatric centers: importance of an early detection]. *Med Clin*. 2015 Mar; 9:144
50. 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 May;52:435-40.

Anexos

Tabla 1: prevalencia según edades en 2013

| | Rotavirus | Astrovirus | Adenovirus |
|-------------------------|-----------|------------|------------|
| Neonatos (0-28 días) | 8 | 4 | 1 |
| Lactantes (1mes-año) | 46 | 13 | 15 |
| Preescolar (2-5 años) | 23 | 10 | 6 |
| Escolares (6-14 años) | 5 | 4 | 1 |
| Adultos (15 años ó más) | 4 | 0 | 0 |

Tabla 2: prevalencia según edades en 2014

| | Rotavirus | Astrovirus | Adenovirus |
|------------------------|-----------|------------|------------|
| Neonatos(0-28 días) | 4 | 2 | 1 |
| Lactantes (1mes-1año) | 64 | 7 | 43 |
| Preescolares (2-5años) | 29 | 7 | 17 |
| Escolares (6-14 años) | 2 | 3 | 4 |
| Adultos (15 ó más) | 5 | 1 | 0 |

Tabla 3: prevalencia según edades en 2015

| | Rotavirus | Astrovirus | Adenovirus | Norovirus |
|-------------------------|-----------|------------|------------|-----------|
| Neonatos(0-28 días) | 0 | 2 | 0 | 0 |
| Lactantes(1mes-1año) | 119 | 4 | 47 | 46 |
| Preescolares (2-5años) | 35 | 2 | 25 | 7 |
| Escolares (6-14 años) | 8 | 3 | 6 | 3 |
| Adultos (15 años ó mas) | 4 | 1 | 0 | 1 |

Tabla 4: Prevalencia por estacionalidad en 2013

| | Rotavirus | Astrovirus | Adenovirus |
|------------|-----------|------------|------------|
| Enero | 5 | 6 | 1 |
| Febrero | 6 | 4 | 2 |
| Marzo | 7 | 7 | 0 |
| Abril | 23 | 0 | 0 |
| Mayo | 26 | 1 | 2 |
| Junio | 25 | 1 | 2 |
| Julio | 6 | 1 | 0 |
| Agosto | 5 | 2 | 3 |
| Septiembre | 5 | 3 | 4 |
| Octubre | 4 | 1 | 8 |
| Noviembre | 4 | 2 | 1 |
| Diciembre | 12 | 5 | 1 |

Tabla 5: prevalencia por estacionalidad en 2014

| | Rotavirus | Astrovirus | Adenovirus |
|------------|-----------|------------|------------|
| Enero | 14 | 5 | 5 |
| Febrero | 23 | 6 | 2 |
| Marzo | 32 | 6 | 3 |
| Abril | 15 | 0 | 2 |
| Mayo | 5 | 1 | 1 |
| Junio | 2 | 1 | 2 |
| Julio | 1 | 1 | 6 |
| Agosto | 0 | 0 | 3 |
| Septiembre | 3 | 0 | 9 |
| Octubre | 0 | 0 | 10 |
| Noviembre | 2 | 0 | 3 |
| Diciembre | 8 | 0 | 10 |

Tabla 6: prevalencia por estacionalidad en 2015

| | Rotavirus | Astrovirus | Adenovirus | Norovirus |
|------------|-----------|------------|------------|-----------|
| Enero | 30 | 0 | 5 | 0 |
| Febrero | 78 | 1 | 9 | 0 |
| Marzo | 26 | 0 | 2 | 1 |
| Abril | 12 | 0 | 4 | 0 |
| Mayo | 8 | 0 | 11 | 0 |
| Junio | 4 | 0 | 6 | 3 |
| Julio | 2 | 0 | 5 | 2 |
| Agosto | 1 | 2 | 8 | 1 |
| Septiembre | 4 | 1 | 8 | 15 |
| Octubre | 2 | 4 | 9 | 29 |
| Noviembre | 0 | 1 | 5 | 7 |
| Diciembre | 3 | 3 | 5 | 0 |

Tabla 7: comparación prevalencia del 2013-1015 en centros de salud y urgencias de Rotavirus

| Centro donde se realizó la petición | 2013 | 2014 | 2015 |
|-------------------------------------|-----------|-----------|-----------|
| C.S Alagón | 1 | 2 | 5 |
| C.S Bombarda | 1 | 0 | 1 |
| C.S Borja | 0 | 0 | 1 |
| C.S Cariñena | 3 | 1 | 1 |
| C.S Casetas | 7 | 5 | 10 |
| C.S Cuarte | 5 | 1 | 1 |
| C.S Delicias Norte | 5 | 2 | 6 |
| C.S Delicias Sur | 4 | 4 | 0 |
| C.S La Muela | 0 | 0 | 2 |
| C.S Mallén | 0 | 0 | 1 |
| C.S María de Huerva | 2 | 0 | 1 |
| C.S Tarazona | 0 | 2 | 3 |
| C.S Universitas | 0 | 5 | 3 |
| C.S Utebo | 1 | 3 | 14 |
| C.S Delicias Sur | 0 | 0 | 7 |
| C.S Ejea | 9 | 4 | 2 |
| C.S Épila | 0 | 0 | 3 |
| C.S Gallur | 4 | 0 | 8 |
| C.S Garrapinillos | 0 | 0 | 1 |
| C.S. La Almunia | 0 | 2 | 1 |
| C.S Miralbueno | 4 | 1 | 6 |
| C.S Oliver | 4 | 4 | 3 |
| C.S Pedrola | 0 | 1 | 3 |
| C.S Tauste | 0 | 0 | 2 |
| C.S. Sádaba | | 1 | 0 |
| C.S Valdefierro | 8 | 4 | 4 |
| Consultorio Cadrete | 1 | 1 | 0 |
| Consultorio Muel | 1 | 0 | 1 |
| Pediatría(cons. Ext) | 1 | 0 | 3 |
| Unidad de nutrición | 0 | 0 | 1 |
| Urgencias (boxes puertas) | 27 | 27 | 45 |

Tabla 8: comparación prevalencia del 2013-1015 en centros de salud y urgencias de Astrovirus

| Centro donde se realizó la petición | 2013 | 2014 | 2015 |
|-------------------------------------|------|------|------|
| C.S Calatorao | 0 | 0 | 1 |
| C.S Cariñena | 0 | 0 | 1 |
| C.S Casetas | 4 | 1 | 1 |
| C.S Cuarte | 2 | 0 | 0 |
| C.S Delicias Norte | 1 | 0 | 0 |
| C.S Delicias Sur | 0 | 1 | 0 |
| C.S Miralbueno | 0 | 1 | 1 |
| C.S Maria de Huerva | 1 | 1 | 0 |
| C.S Oliver | 3 | 2 | 0 |
| C.S Sádaba | 0 | 1 | 0 |
| C.S Tarazona | 1 | 0 | 0 |
| C.S Tauste | 0 | 0 | 1 |
| C.S Utebo | 0 | 1 | 0 |
| C.S Valdefierro | 1 | 1 | 1 |
| Laboratorio micro | 1 | 0 | 0 |
| Medicina interna consultas externas | 1 | 0 | 0 |
| Urgencias (boxes puertas) | 6 | 6 | 2 |

Tabla 9: comparación prevalencia del 2013-2015 en centros de salud y urgencias de Adenovirus

| Centro donde se realizó la petición | 2013 | 2014 | 2015 |
|-------------------------------------|------|------|------|
| C.S Alagón | 0 | 0 | 4 |
| C.S Bombarda | 1 | 0 | 1 |
| C.S Borja | 0 | 0 | 1 |
| C.S Casetas | 1 | 1 | 9 |
| C.S Delicias Norte | 1 | 0 | 2 |
| C.S Delicias Sur | 1 | 1 | 4 |
| C.S Ejea de los Caballers | 1 | 0 | 8 |
| C.S Épila | 0 | 0 | 3 |
| C.S La Almunia | 1 | 0 | 0 |
| C.S La Muela | 1 | 0 | 0 |
| C.S Maria de Huerva | 0 | 1 | 2 |
| C.S Miralbueno | 0 | 1 | 3 |
| C.S Oliver | 1 | 2 | 4 |
| C.S Pedrola | 0 | 0 | 1 |
| C.S Ricla | 0 | 0 | 1 |
| C.S Tarazona | 1 | 0 | 1 |
| C.S Tauste | 0 | 0 | 1 |
| C.S Utebo | 2 | 1 | 6 |
| C.S Sádaba | 0 | 1 | 0 |
| C.S Universitat | 1 | 0 | 0 |
| C.S Valdefierro | 1 | 1 | 3 |
| Urgencias (boxes puertas) | 1 | 6 | 17 |

Tabla 10: Prevalencia según edades de pacientes ingresados en HCU en 2013

| Lugar de ingreso | Rotavirus | Astrovirus | Adenovirus |
|------------------|-----------|------------|------------|
| Nidos | 1 | 0 | 0 |
| Neonatos | 5 | 3 | 3 |
| Lactantes | 2 | 3 | 3 |
| Escolares | 25 | 1 | 1 |
| Hospital Ejea | 1 | 0 | 0 |
| Medicina Interna | 1 | 2 | 0 |

Tabla 11: Prevalencia según edades de pacientes ingresados en HCU en 2014

| | Rotavirus | Astrovirus | Adenovirus |
|-----------------------------|-----------|------------|------------|
| Neonatos | 5 | 2 | 0 |
| Lactantes | 23 | 3 | 2 |
| Escolares | 2 | 0 | 3 |
| Medicina interna | 1 | 0 | 0 |
| Oncohematología | 2 | 0 | 0 |
| Radiología intervencionista | 1 | 0 | 0 |

Tabla 12: Prevalencia según edades de pacientes ingresados en HCU en 2015

| | Rotavirus | Astrovirus | Adenovirus | Norovirus |
|------------------|-----------|------------|------------|-----------|
| Neonatos | 1 | 2 | 0 | 1 |
| Lactantes | 21 | 1 | 3 | 2 |
| Escolares | 8 | 0 | 3 | 3 |
| Obstetricia | 1 | 0 | 0 | 0 |
| Hospital de Ejea | 0 | 1 | 0 | 0 |
| Digestivo | 0 | 0 | 0 | 1 |
| UCI | 0 | 0 | 1 | 0 |