

-236-

Vol. 31, N° 1
Año 1999

REVISTA ARGENTINA DE
MICROBIOLOGIA

PUBLICACION DE LA ASOCIACION ARGENTINA DE MICROBIOLOGIA

Red de laboratorios de Rotavirus: Resultados del primer año de vigilancia

K. BOK¹, N.C. CASTAGNARO², N.E. DIAZ³, A. BORSA⁴, M.R. CAGNOLI⁴, S. NATES⁵, S. YUDOWSKY⁶, C. ESPUL⁷, H. CUELLO⁷, O. FAY⁸, B. BRUNET⁹, O.C. UES¹⁰, R. SANTORO¹¹, S. GRINSTEIN¹², F. GONZALEZ¹³, I. MICELI¹³, J. A. GOMEZ^{1*}

¹ Laboratorio de Gastroenteritis Virales, Servicio de Hepatitis y Gastroenteritis, Departamento de Virus, Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas, ANLIS, Dr. Carlos G. Malbran, MSA, Buenos Aires, ² Instituto de Virología Dr. Luis C. Verna, Facultad de Bioquímica, Química y Farmacia, Cátedra de Virología, Universidad Nacional de Tucumán, ³ Servicio de Hidratación Oral, Hospital de Niño Jesús, San Miguel de Tucumán, ⁴ Laboratorio de Virología, Hospital de Niños Sor María Ludovica, La Plata, ⁵ Instituto de Virología J.M. Vanella, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, ⁶ Laboratorio de Bacteriología, Hospital Infantil Municipal, Córdoba, ⁷ Sección Virología, Hospital Central, Mendoza, ⁸ Centro de Tecnología en Salud Pública, Rosario, ⁹ Hospital de Niños Víctor J. Vilela, Rosario, ¹⁰ Instituto Nacional de Epidemiología Dr. Juan H. Jara, Mar del Plata, ¹¹ Servicio de Pediatría, Hospital Interzonal Especializado Materno Infantil, Mar del Plata, ¹² Laboratorio de Virología, Hospital de Niños Ricardo Gutiérrez, Buenos Aires, ¹³ Dirección de Epidemiología, Ministerio de Salud y Acción Social de la Nación, Buenos Aires, Argentina

* Correspondencia: Fax: 4302-5064, e-mail: jgomez@cvtci.com.ar.

RESUMEN

Rotavirus es el principal agente productor de diarrea infantil y se ha estimado que provoca en Argentina 21.000 hospitalizaciones, 85.000 atenciones ambulatorias, y un costo mayor a los 27 millones de dólares anuales. Ante la inminente aprobación de una vacuna contra este patógeno se organizó un Sistema de Vigilancia Epidemiológica en base a una Red de laboratorios. Se presentan los resultados obtenidos luego del primer año de funcionamiento de esta Red. Se encontró que el 9,0% de la internación pediátrica es debido a diarrea aguda, y rotavirus se halló en el 42,1% de los casos estudiados. Se estimó que rotavirus provoca el 3,8% de las internaciones pediátricas. La internación por diarrea y la internación asociada a diarrea por rotavirus fue mayor en el primer año de vida (62% y 71,3% respectivamente). En el semestre de diciembre a mayo el número de internaciones por diarrea fue significativamente mayor que en el semestre restante. Se detectó un pico de diarreas por rotavirus entre abril y junio en las distintas Unidades centinelas. Estos resultados señalan a los rotavirus como el principal agente etiológico de la gastroenteritis infantil aguda en nuestro país y avalan la necesidad de incorporar su diagnóstico en todos los hospitales pediátricos. Los costos adicionales serán ampliamente superados por los beneficios relacionados con el mejor manejo de las camas hospitalarias, los recursos del laboratorio, y el paciente internado por diarrea, el uso correcto de antibióticos, y el control de la diseminación intrahospitalaria de rotavirus.

Palabras claves: Rotavirus, diarrea infantil aguda, vigilancia epidemiológica, red de laboratorios

SUMMARY

Rotavirus laboratory network: results after a one year experience. Rotavirus is the most common cause of severe diarrhea in children and it has been estimated that in Argentina Rotavirus is responsible for 21,000 hospitalizations, 85,000 medical attentions and an annual medical cost of US\$ 27 millions. Given that a Rotavirus vaccine is about to be approved, a laboratory network based surveillance system was organized. Herein, we present the results after one year of study. Severe diarrhea was responsible for 9% of pediatric hospitalizations and rotavirus was detected in 42.1% of the diarrhea cases. We estimated that Rotavirus causes 3.8% of pediatric hospitalizations. The number of diarrhea and Rotavirus diarrhea hospitalizations was greater during the first year of life (62% and 71.3%, respectively). The number of diarrhea hospitalizations during the December-May semester was significantly higher than the rest of the year. A Rotavirus diarrhea peak was detected

between April and June. These results indicate that Rotavirus is the most important etiological agent of severe diarrhea in Argentine children and show the importance of performing Rotavirus diagnosis in every pediatric hospital. The additional costs will be compensated by many benefits such as better use of antibiotics, improved nosocomial spread control, better handling of hospital beds and of laboratory resources and of the hospitalized patient.

Key words: Rotavirus, severe diarrhea in children, epidemiologic surveillance, laboratory network.

INTRODUCCIÓN

Los rotavirus son el principal agente productor de diarreas de la infancia (11, 23). Se ha estimado que provoca mundialmente más de 870.000 muertes por año y que todo niño tiene al menos un episodio de diarrea por rotavirus en los primeros años de vida (7). Sólo la primoinfección produce un cuadro clínico de importancia; posteriores reinfecciones presentan un cuadro clínico menor o asintomático (3, 4, 30, 31). Esta es una de las evidencias más importantes sobre la potencial capacidad protectora de la inmunidad natural contra este virus. Se lo considera un virus "igualitario" dado que afecta similarmente a poblaciones de alto como de bajo nivel socioeconómico, sugiriendo que la solución al problema no está en el mejoramiento de las condiciones higiénico sanitarias de una región (15). En cambio, se cree que una vacuna segura y efectiva que provea inmunidad específica temprana a los individuos en riesgo puede ser una medida de control adecuada de esta enfermedad (14, 29). De todas formas, dado que los casos más graves se observan mayormente en poblaciones de escasos recursos, o con dificultades de acceso a los sistemas de salud, ésta sería la población más beneficiada por una vacuna.

Estos hechos, llevaron a investigadores del Instituto Nacional de la Salud de los EE.UU. (National Institutes of Health, NIH) a desarrollar una vacuna de rotavirus. Para ello se basaron en la idea original de Edward Jenner utilizando virus heterólogo (de distinto huésped), y en la propiedad que tienen los rotavirus de producir cepas reasociadas en forma natural (5, 13). De esta forma han obtenido 3 cepas reasociadas con la estructura básica del rotavirus de mono RRV (no patógeno para el hombre), presentando los serotipos G1, G2, y G4 humanos. Estas 3 cepas reasociadas más el virus RRV original (de serotipo G3, similar al humano) componen la vacuna presentada por el Laboratorio Wyeth Ayerst Research

para su aprobación ante la *Food and Drug Administration* (FDA) de los EE.UU. (26). En los últimos 10 años se han desarrollado diversos ensayos clínicos que demuestran que la vacuna es segura y efectiva (12).

Ante la futura aprobación de esta vacuna se analizó la información existente sobre la epidemiología de los rotavirus en nuestro país (21). Este análisis permitió hacer una evaluación inicial donde se describen coincidencias y discrepancias entre los distintos estudios. Algunos estudios muestran una epidemiología estacional, mientras otros no; ciertos trabajos describen que el virus tiene su mayor impacto durante el primer año de vida mientras en otros se lo observa con igual prevalencia durante los primeros 4 años de vida; ciertos estudios sólo encontraron algunos serotipos mientras que un trabajo encontró los 4 serotipos principales (1, 2, 6, 8-10, 16-20, 22, 24, 25, 27, 28). Para determinar si estas diferencias se originaron en los distintos protocolos utilizados o en variaciones epidemiológicas que presenta la diarrea por rotavirus en las distintas áreas estudiadas, y para conocer en mayor detalle la epidemiología de los rotavirus en nuestro país, se organizó un Programa de Vigilancia Epidemiológica con el apoyo de la Dirección de Epidemiología del Ministerio de Salud y Acción Social. El objetivo general del mismo fue obtener información epidemiológica sobre los rotavirus. En particular, determinar la frecuencia mensual (estacionalidad), y el impacto anual de la diarrea por rotavirus en distintos lugares del país, su frecuencia por grupo etario, y las características antigénicas de las cepas locales. Esta información posibilitaría a las autoridades del Ministerio de Salud, tomar las medidas necesarias para lograr el adecuado control de esta patología. Entre ellas, poder realizar una evaluación activa de la utilidad de esta vacuna según nuestra propia realidad y en base a información epidemiológica proveniente de distintas áreas del país.

El presente trabajo presenta los resultados obtenidos luego del primer año de funcionamiento de este Programa de Vigilancia Epidemiológica de Diarreas por Rotavirus en nuestro país.

MATERIALES Y MÉTODOS

Organización de la Red

El Programa de Vigilancia iniciado en octubre de 1996 está formado por una red de laboratorios, un laboratorio de referencia y un protocolo de trabajo unificado; posee también un sistema de control de calidad, y un boletín mensual donde se presentan los resultados parciales del mismo. Los equipos de diagnóstico de rotavirus utilizados en 6 de los Laboratorios de la Red han sido provistos por la Dirección de Epidemiología del Ministerio de Salud y Acción Social de la Nación.

La Red de Laboratorios contó durante el primer año con 7 Unidades Centinelas (UC) seleccionadas por su trayectoria previa en el tema y por estar ubicadas en las ciudades de mayor densidad demográfica del país. Estas UCs están localizadas en las ciudades de Buenos Aires, La Plata, Mar del Plata, Córdoba, Tucumán, Rosario, y Mendoza. Cada UC cuenta con un Laboratorio de Virología (LV) y una Unidad Hospitalaria (UH) donde se hace efectivo el Programa de Vigilancia. En algunos casos como la UC Buenos Aires, y la UC La Plata, el LV se encuentra en la misma institución que la UH. En los demás casos se utilizan los servicios del LV de otro hospital o de una universidad cercana. Cada UC está integrada por un "investigador responsable" encargado del funcionamiento general de la UC, del diagnóstico etiológico, y de la comunicación con el Laboratorio de Referencia, y un "profesional médico" responsable de la identificación de casos, llenado de la ficha del paciente, toma de muestra, y recolección de la información referida a internaciones en la UH.

La UC de Córdoba está integrada por el Hospital Infantil Municipal y el Instituto de Virología J.M. Vanella de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad Nacional de Córdoba; la UC de Mendoza por el Departamento de Infectología del Hospital Notti y la Sección Virología del Hospital Central de Mendoza; la UC de Tucumán por el Servicio de Hidratación Oral del Hospital del Niño

Jesús y el Instituto de Virología Dr. Luis C. Verna de la Facultad de Bioquímica, Química y Farmacia, de la Universidad Nacional de Tucumán; la UC de La Plata por las Salas 14 y 16 del Hospital de Niños Sor María Ludovica y el Laboratorio de Virología del mismo Hospital; la UC de Mar del Plata por el Servicio de Pediatría del Hospital Interzonal Especializado Materno Infantil y el Laboratorio de Virología del Instituto Nacional de Epidemiología Dr. Juan H. Jara; la UC de Buenos Aires por la Unidad 5 (Sala de Diarreas) del Hospital de Niños Ricardo Gutiérrez y el Laboratorio de Virología del mismo Hospital; y la UC de Rosario por el Hospital de Niños Víctor J. Vilela y el Centro de Tecnología en Salud Pública.

Protocolo de trabajo

Los objetivos específicos del Programa son determinar la frecuencia mensual (estacionalidad) y el impacto anual de la diarrea por rotavirus en distintos lugares del país; evaluar el impacto de la diarrea por rotavirus por grupo etario; y tipificar las cepas de rotavirus humano prevalentes por área geográfica y por año.

El estudio se realizó en pacientes hospitalizados por diarrea para obtener información epidemiológica de los casos más graves de esta enfermedad, los que son el objetivo específico al que está dirigida la vacuna de rotavirus. Para ello el investigador responsable de cada UC seleccionó la Unidad Hospitalaria donde se llevaría adelante el Programa y un profesional médico de la misma. El investigador responsable y el profesional médico en conjunto eligieron qué servicios del hospital formarían parte de la Unidad Hospitalaria. Se estudiaron todos los casos de internación por diarrea aguda (menos de 5 días de evolución) en niños menores de 3 años que asistieran a los servicios previamente identificados, que conforman la Unidad Hospitalaria. No se incorporaron al estudio los niños derivados de otros servicios hospitalarios, para evitar la inclusión de casos de diarrea intrahospitalaria.

Se completó una ficha individual para cada paciente que entró en protocolo, y se tomó una muestra de heces en las primeras 24 h de internación. Ambas fueron enviadas al LV donde se realizó el diagnóstico etiológico. Las muestras positivas y dudosas fueron conservadas congela-

das a -20°C hasta su envío al Laboratorio de Referencia. Además, el médico responsable obtuvo mensualmente la información referida al número de internaciones totales y por diarrea en la Unidad Hospitalaria. El investigador responsable de la UC envió mensualmente una planilla al Laboratorio de Referencia conteniendo esta información, junto con los datos del número de casos estudiados y los resultados obtenidos en los estudios etiológicos.

Desde el Laboratorio de Gastroenteritis Virales del Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas (Laboratorio de Referencia) se realizó la coordinación general del Programa. Allí se recibieron las planillas mensuales con la información que surge de las UCs, y se preparó un boletín mensual del Programa que se distribuyó a los investigadores responsables y a los profesionales médicos de cada UC, a la Dirección del Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas (INEI) y de la Administración Nacional de Laboratorios e Institutos de Salud (ANLIS), y a la Dirección de Epidemiología del Ministerio de Salud y Acción Social. El Laboratorio de Referencia también fue responsable del control de calidad de los procedimientos de diagnóstico utilizados en las UC y de la optimización de las técnicas de biología molecular necesarias para realizar la caracterización genética y antigénica de las cepas aisladas.

Diagnostico de Rotavirus

Se tomó una muestra fresca de materia fecal a cada paciente durante las primeras 24 h de internación, la que fue colocada en un recipiente limpio sin conservadores. Se recomendó tomar al menos 1 g de heces y no utilizar hisopados. Estas fueron rápidamente enviadas al LV junto con la planilla de dicho paciente. Allí la muestra fue conservada a 4°C hasta su análisis para evitar el proceso de congelamiento/descongelamiento que destruye las proteínas externas virales. El investigador responsable organizó la frecuencia de la determinación de acuerdo a las conveniencias del servicio. Para el diagnóstico etiológico se utilizaron equipos de enzimo-inmunoensayo (ELISA) tipo sandwich en fase sólida, para la detección cualitativa del antígeno de grupo (VP6) de rotavirus humanos (Grupo A) en muestras de materia fecal. Los equipos aceptados por el pro-

toloco son aquéllos que permiten la lectura espectrofotométrica y dan claras indicaciones para el cálculo del límite de corte (*cutoff*) que diferencia muestras positivas de muestras negativas. Las UCs de Mendoza, Mar del Plata, Tucumán, La Plata, Buenos Aires, y Córdoba utilizaron reactivos marca Kallestadt suministrados por la Dirección de Epidemiología del Ministerio de Salud y Acción Social, mientras que la UC Rosario utilizó equipos propios marca Abbott. Todos ellos siguieron las indicaciones incluidas en los equipos. Luego de la determinación, las muestras positivas y dudosas fueron conservadas a -20°C hasta su envío al Laboratorio de Referencia para su serotipificación y/o confirmación.

Control de calidad

El Laboratorio de Referencia desarrolló un Sistema de Control de Calidad del diagnóstico etiológico. Para ello preparó y envió a cada UC 3 muestras incógnitas: la muestra "A" (positivo bajo) conteniendo 5×10^5 UFP de rotavirus de simio SA11 crecido en células MA104, la muestra "B" (positivo alto) conteniendo 1×10^8 UFP de la misma cepa de rotavirus, la muestra "C" (negativa) conteniendo sólo un lisado de células MA-104 no infectadas. Estas muestras fueron fraccionadas de a 1 ml y liofilizadas previo a su envío a las UCs. Cada UC procesó estas muestras e informó el resultado final obtenido, adjuntando también los valores de absorbancia de cada muestra al Laboratorio de Referencia. En base a esta información se calcularon "Scores" para cada UC y muestra, en base a la siguiente fórmula:

Score: absorbancia de muestra X - media de las absorbancias de la muestra X / desvío estándar de las absorbancias de la muestra X

Un score ≥ 2 fue tomado como indicativo de un error de procedimiento en la UC. Para determinar si el error observado fue de tipo aleatorio o sistemático se solicitó también los valores habituales de absorbancia de los controles positivos y negativos del equipo a todas las UCs. Esto permitió analizar comparativamente las lecturas obtenidas por las UCs. También se utilizó un estándar de color en base a una solución de dicromato de potasio ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$; PM: 294,22) 1,6

mM (puro y diluido 1/10) para controlar el correcto funcionamiento de los espectrofotómetros, y así evitar lo que puede ser una importante fuente de error sistemático. Los "Scores" obtenidos por cada UC fueron informados en forma anónima en los boletines mensuales, de forma que cada UCs conociera sus propios resultados en comparación con el resto de las UCs.

Por último, se realizaron visitas a las Unidades Centinela, para asegurar el correcto funcionamiento de las mismas y ayudar a resolver problemas operativos particulares de cada una de ellas.

Bases de datos, análisis y difusión de la información

La información recibida mensualmente desde las UCs fue archivada en una planilla de cálculos realizada en Excel 5. La información recolectada en las fichas de cada paciente fue archivada en una base de datos desarrollada en FileMaker 3.0. Esta información es compartida con la Dirección de Epidemiología del Ministerio de Salud y Acción Social de la Nación, analizada y en base a ella se edita el boletín mensual utilizando el programa Page Maker 6.5. Los Boletines son distribuidos mensualmente por fax a las Unidades Centinela, y también a la Dirección del INEI, del ANLIS y a la Dirección de Epidemiología del Ministerio de Salud y Acción Social.

Los resultados obtenidos fueron analizados estadísticamente utilizando el programa "InStat 2.00" para Macintosh.

RESULTADOS

Control de calidad de la Red de Laboratorios

Los resultados del procesamiento de las 3 muestras incógnita y el score promedio obtenido por cada UC se muestran en el Cuadro 1. Estos scores variaron entre 0,40 a 1,59. Aunque todas las UCs informaron sus resultados con un 100% de aciertos, el análisis por scores permitió identificar dos problemas (Figura 1): el primero en la UC1 donde la muestra B (muestra positivo alto) dio un score de 2, y el otro en la UC 7 donde la muestra C (muestra negativa) dio un score mayor a 2.

El análisis de los valores de absorbancia del control positivo (positivo alto) y negativo del equi-

Cuadro 1. Resultados de las muestras incógnitas en cada Unidad Centinela

	Resultados de las muestras incógnitas (Resultado/Absorbancia)			Score promedio
	A	B	C	
UC1	P / 0,316	P / 0,861	N / 0,036	0,84
UC2	P / 0,351	P / 1,552	N / 0,002	0,40
UC3	P / 0,206	P / 1,647	N / 0,019	0,46
UC4	P / 0,484	P / 2,000	N / 0,036	0,55
UC5	P / 0,135	P / 1,422	N / 0,008	0,89
UC6	P / 0,550	P / 2,000	N / 0,013	0,79
UC7	P / 0,607	P / 2,068	N / 0,118	1,59
LdR	P / 0,379	P / 1,699	N / 0,011	0,21

LdR: Los resultados del Laboratorio de Referencia (LdR), son los informados a la Dirección de Epidemiología del Ministerio de Salud y Acción Social en el control de calidad realizado a los equipos de diagnóstico previo a su distribución a la Red de Laboratorios. P: Positivo N: Negativo

po de diagnóstico reportados por las UCs, permitió determinar que la UC 7 presentaba lecturas elevadas no sólo en la muestra incógnita negativa sino también en el control negativo del equipo. No se pudo identificar la naturaleza del problema ocurrido en esta UC. La Figura 2 muestra la evolución de los valores obtenidos en el control negativo del equipo y su normalización desde el momento en que se le informó a la UC los resultados del control de calidad y se la instruyó para que revisara su sistema de trabajo.

Al realizar el mismo tipo de análisis se observó que la UC1 presentaba lecturas bajas de la muestra incógnita positiva alta y del control positivo del equipo, en comparación con los resultados informados por las demás UCs. A pesar de ello las lecturas seguían siendo francamente positivas. Luego de no encontrar errores en el procedimiento empleado, se comprobó que el espectrofotómetro del laboratorio brindaba lecturas disminuidas de los positivos altos, al realizar el control del espectrofotómetro con el estándar de color. Al identificarse el origen de este error de tipo sistemático, se cambió el espectrofotómetro utilizado para la lectura de la reacción lo que resolvió el problema. Como muestra la Figura 3, desde ese momento la UC1 presentó resultados adecuados tanto en el control positivo del equipo, como en el estándar de color.

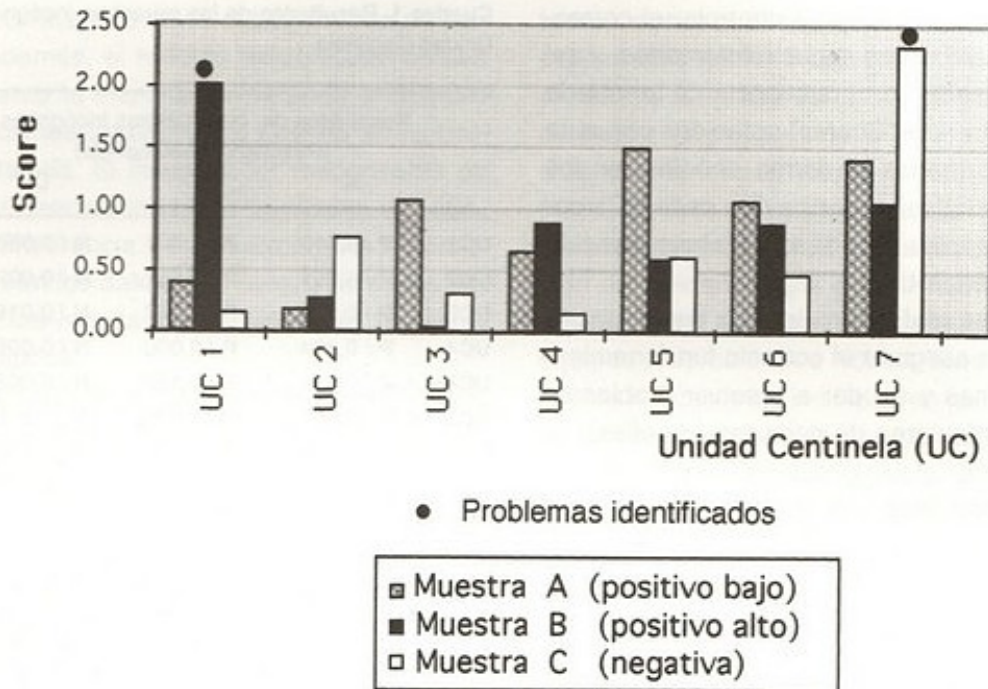


Figura 1. Scores de cada Unidad Centinela

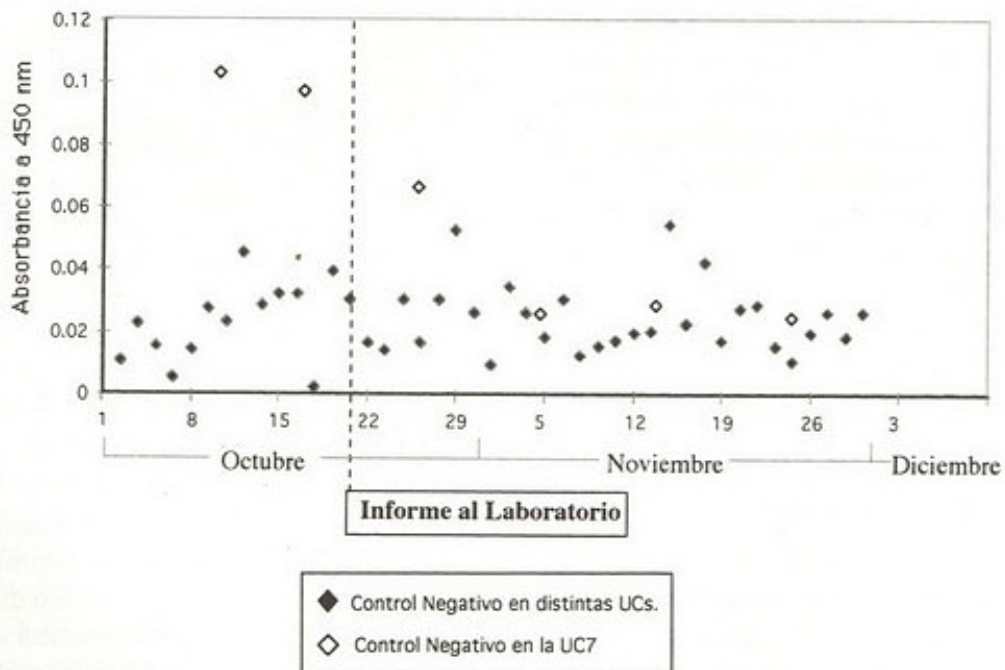


Figura 2. Absorbancia del control negativo del equipo de diagnóstico de Rotavirus en la Unidad Centinela 7 (UC7) y otras UCs.

Finalmente, se realizó un ranking anónimo para motivar la competencia entre las UCs, utilizando el promedio de los scores obtenidos por la UC para cada muestra.

Internación por diarrea e internación por diarrea asociada a Rotavirus

En el primer año de estudio se han reportado 10.226 internaciones por todo motivo en las 7

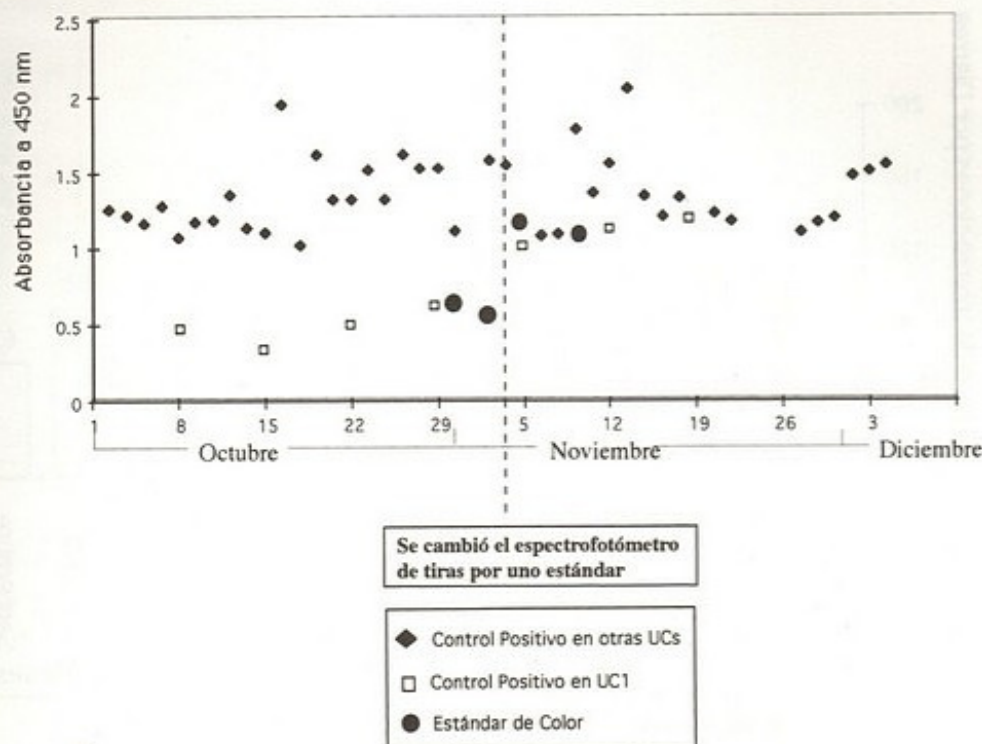


Figura 3. Absorbancia del control positivo del equipo de diagnóstico de Rotavirus en la Unidad Centinela 1 (UC1) y otras UCs.

Cuadro 2. Internaciones por diarrea y diarreas asociadas a Rotavirus en cada Unidad Centinela

Unidad Centinela	Hospitalizaciones por diarrea/Totales (%)	Hospitalizaciones por diarrea Rotavirus + /Totales (%)
Tucumán	762 / 1390 (54,8)	140 / 244 (57,4)
Rosario	164 / 770 (21,3)	20 / 75 (26,7)
La Plata	108 / 1100 (9,8)	44 / 103 (42,7)
Mendoza	69 / 837 (8,2)	10 / 69 (14,5)
Cordoba	195 / 2846 (6,9)	38 / 108 (35,2)
Buenos Aires	24 / 357 (6,7)	6 / 14 (42,9)
Total	1322 / 7300 (18,1)	258 / 613 (42,1)

UCs. Dado que de los 141 casos de diarrea observados en la UC de Mar del Plata, sólo se logró realizar estudios etiológicos a 13 de ellos (9,2%), no se incluyó en el análisis la información referida a esta UC. El Cuadro 2 muestra los resultados obtenidos en las 6 UCs restantes. En total se analizaron 7300 internaciones de las cuales 1322 fueron por diarrea (media del porcenta-

je de internaciones por diarrea: 18,1%). Dado que las condiciones de internación por diarrea no fueron protocolizadas y cada UC se manejó con criterios independientes, un mejor marcador de medida central de este muestreo es la mediana. La mediana del porcentaje de internaciones por diarrea para las 6 UCs fue de 9,0%. Se observa que la UC Tucumán (formada por una Sala de Hidra-

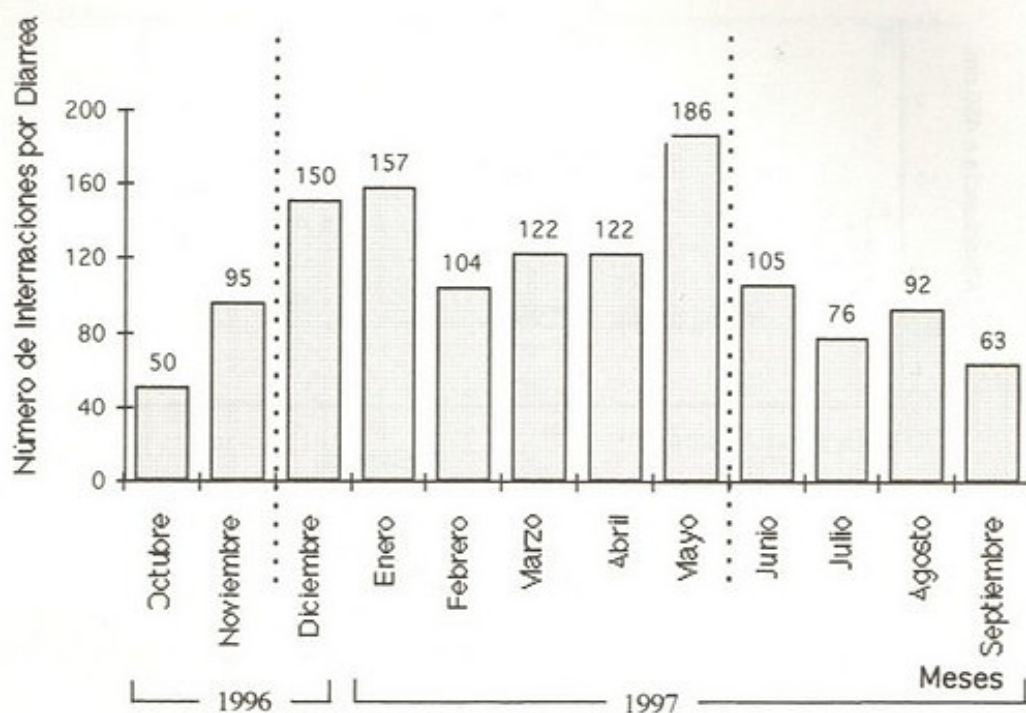


Figura 4. Estacionalidad de la internación por diarrea

tación Oral de 15 camas) informó 762 internaciones por diarrea de las 1390 internaciones totales (54,8%). Las UCs de Rosario, La Plata, Mendoza, Córdoba y Buenos Aires formadas todas ellas por salas de internación de hospitales pediátricos, informaron en total 5900 internaciones de las cuales 560 fueron por diarrea. De ellas, la UC de Rosario presentó un porcentaje de internación por diarrea (21,3%) significativamente superior a las demás UCs (Test de Chi cuadrado; $p < 0,001$). Las UCs de La Plata, Mendoza, Córdoba y Buenos Aires presentaron porcentaje de internación por diarrea entre 6,7-9,8% sin diferencias significativas.

El Cuadro 2 también muestra que de los 613 casos de diarrea estudiados en todas las UCs, se determinó rotavirus en 258 (42,1%). El porcentaje máximo de identificación de rotavirus se observó en la UC de Tucumán (57,4%), seguido por Buenos Aires (42,9%), La Plata (42,7%), Córdoba (35,2%), Rosario (26,7%) y Mendoza (14,5%).

Estacionalidad de la diarrea por Rotavirus

La Figura 4 muestra el número mensual de internaciones por diarrea observadas en las UCs. Se comprobó una mayor frecuencia de internaciones por diarrea entre los meses de diciembre-

mayo, donde se observó el 63,6% de los casos. Por ello se dividió el año en dos semestres: diciembre-mayo y junio-noviembre. El análisis estadístico demostró valores de internación por diarrea significativamente mayores en el semestre diciembre-mayo con un promedio de 140,2 casos/mes (intervalo de confianza del 95%:109-171), en comparación con el semestre junio-noviembre con 80,2 casos/mes (intervalo de confianza del 95%:58-102); test t de dos colas para comparación de medias en muestreos no pareados, $p:0,0024$.

Por otra parte, la Figura 5 muestra que los rotavirus fueron identificados durante todo el año, presentando valores basales cercanos al 20% de las diarreas. Además, se observó un pico del 60% en el porcentaje de identificación de rotavirus en los meses de otoño e invierno. Este tipo de comportamiento estacional se observó en todas las UCs. Las UCs de Rosario, Córdoba y Tucumán, presentaron el pico máximo en el mes de mayo mientras que las UCs de La Plata, Mendoza y Buenos Aires lo presentaron en el mes de abril. En vista a estas observaciones, se dividió el año en cuatro trimestres y se analizó el promedio mensual de identificación de rotavirus en cada uno de ellos. El trimestre abril-junio presentó un pro-

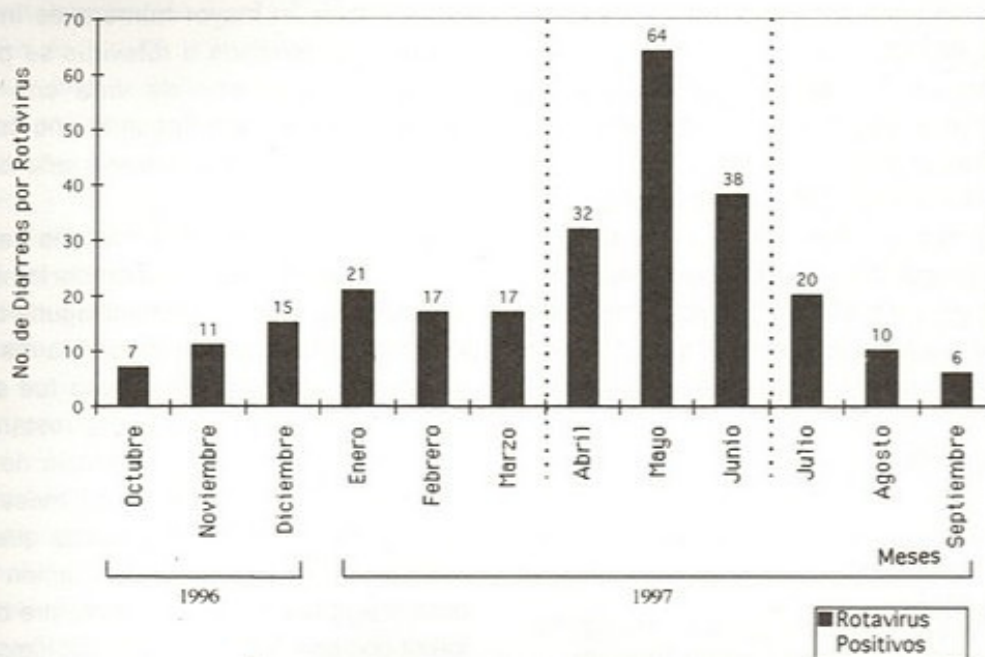


Figura 5. Estacionalidad de la diarrea por Rotavirus

Cuadro 3. Internaciones por diarrea y diarreas asociadas a Rotavirus en cada grupo etario

Grupo etario	Hospitalizaciones por diarrea/Totales (%)	Hospitalizaciones por diarrea Rotavirus + /Totales (%)
0-5 meses	272 / 1626 (16,7)	76 / 196 (38,8)
6-11 meses	424 / 1282 (33,1)	108 / 252 (42,9)
12-23 meses	316 / 1004 (31,5)	52 / 114 (45,6)
24-35 meses	115 / 542 (21,2)	22 / 51 (43,1)
Total	1127 / 4454 (25,3)	258 / 613 (42,1)

medio de identificación mensual (45 casos) significativamente mayor (test de análisis de varianza ANOVA para comparación de medias en muestreos no pareados; $p: 0,0079$) que el observado en los trimestres de octubre-diciembre (11 casos), enero-marzo (18 casos), y julio-septiembre (12 casos).

Diarreas totales y diarrea asociada a Rotavirus por grupo etario

El Cuadro 3 muestra la frecuencia de internación por diarrea de toda etiología y por diarrea asocia-

da a rotavirus según el grupo etario. Dado que la UC Córdoba no informó el número de internaciones totales e internaciones por diarrea según grupo etario, el Cuadro 3 no incluye los datos de dicha unidad. La frecuencia de internación por diarrea de toda etiología con respecto al total de internaciones, fue significativamente mayor en el grupo de 6-23 meses (740/2286; 32,4%) que en los grupos etarios de 0-5 meses (16,7%), y 24-35 meses (21,2%)(test de Chi cuadrado; $p < 0,0001$). En cambio la distribución por grupo etario de la internación por diarrea de toda etiología fue 62% (696/1127) el primer año de vida, 28% (316/

1127) el segundo año, y 10% (115/1127) durante el tercer año de vida.

La internación por diarrea asociada a los rotavirus no presentó variaciones estadísticamente significativas entre los distintos grupos etarios estudiados. Durante los primeros 3 años de vida presentó una frecuencia media anual del 42%. Si bien el virus presentó un porcentaje de identificación similar para los distintos grupos de edad estudiados, el impacto de la internación por rotavirus al primer (0-11 meses), segundo (12-23 meses) y tercer (24-35 meses) año de edad no fue el mismo. De los 258 casos de diarrea por rotavirus analizados, el 71,3% (184 casos) ocurrió durante el primer año de vida, el 20,2% (52 casos) durante el segundo año y el 8,5% (22 casos) durante el tercer año de vida.

DISCUSIÓN

Los resultados parciales presentados muestran el impacto que tiene la internación asociada a diarrea en las principales ciudades del país. La gastroenteritis infantil aguda es causante del 9,0% (mediana de valores observados) de las internaciones en las salas de clínica pediátrica, con un rango entre 6,7% y 21,3% entre las distintas UCs. Se han analizado 613 casos de gastroenteritis aguda en las 6 UCs, y se halló rotavirus en 258 lo que representa un 42,1% de los casos (intervalo de confianza, 95%:38-46%). Estos resultados presentan evidencia que señala a los rotavirus humanos como el principal agente etiológico de gastroenteritis infantil aguda en nuestro país. Dado que todas las UCs han trabajado siguiendo un mismo protocolo, las diferencias observadas adquieren más relevancia pues es poco probable que puedan explicarse en base a diferencias en los sistemas de trabajo o en los métodos de diagnóstico utilizados. Según esta información, hemos estimado que los rotavirus humanos provocan el 3,8% de las internaciones pediátricas.

También hemos comprobado que el primer año de vida presenta la mayor cantidad de internaciones por diarrea (62%; 696/1127), seguido por el segundo año (28%; 316/1127), y por último el tercer año de vida. (10%; 115/1127). A pesar de que los rotavirus fueron identificados en el 42,1% de los casos sin diferencias significativas en cada

grupo etario, el mayor número de internaciones por diarrea asociada a rotavirus se presentó durante el primer año de vida con 184 casos (71,3%), seguido del segundo año con 52 casos (20,2%), y por último el tercer año de vida con 22 casos (8,5%).

Además, los datos presentados describen dos períodos del año con un comportamiento epidemiológico de la diarrea infantil aguda bien diferente. En el semestre de diciembre a mayo el número de internaciones por diarrea fue significativamente mayor que el semestre restante. Por otra parte, se demuestra la existencia de un pico de diarreas por rotavirus entre los meses de abril a junio. De esta forma, planteamos que la estacionalidad que presenta la internación por diarrea infantil aguda en el primer semestre del año, presenta dos componentes epidemiológicos distintos. Un componente conformado por el pico de diarreas, probablemente bacterianas, en los meses de verano y el segundo componente debido a un pico posterior asociado a diarrea por rotavirus en los meses de otoño. Si bien ambos picos parecen presentar valores similares, las diarreas de origen bacteriano presentan una etiología múltiple. Esto coloca a los rotavirus como el principal agente etiológico asociado a hospitalización por diarrea infantil en nuestro país.

Esta situación no es original ya que los rotavirus son considerados como el principal agente etiológico de diarrea infantil en todo el mundo (7, 23). En nuestro medio esta evidencia adquiere una relevancia particular dada la subestimación existente del impacto que provoca la enfermedad por rotavirus en nuestro Sistema de Salud. Son excepcionales los hospitales pediátricos que realizan diagnóstico de esta patología. Los resultados de este estudio y nuestra anterior estimación de que los rotavirus causan 21.000 hospitalizaciones, 84.500 atenciones ambulatorias, y un costo mayor a los 27 millones de dólares anuales (21), contrastan con la casi nula utilización del diagnóstico virológico en los hospitales pediátricos. En ellos, es frecuente la realización de innumerables coprocultivos sin resultados satisfactorios. Es deseable que tanto el pediatra como las Instituciones de Salud reconozcan la importancia de este patógeno, e incorporen su diagnóstico.

La inminente aprobación por la *Food and Drug Administration* de los EE.UU. de la vacuna anti-rotavirus permitirá reducir entre 80-100% las internaciones por esta enfermedad (26). Si bien la incidencia de esta enfermedad es similar en todo el mundo y no está influenciada por las características sanitarias de la población, los casos más graves se observan entre las personas de menores recursos, menor educación o con dificultades de acceso al sistema de salud; este sería el segmento social con mayores posibilidades de beneficio potencial asociado a la aplicación de esta vacuna. La falta de concientización de la comunidad médica y sanitaria sobre la importancia de este patógeno conspira contra esta posibilidad. La implementación generalizada del diagnóstico de rotavirus en la rutina asistencial de los hospitales pediátricos permitirá el reconocimiento de una enfermedad que en breve podrá ser prevenida y una mejor asignación de los recursos. Los costos adicionales que provocará su introducción serán ampliamente superados por los beneficios. Entre estos últimos se puede mencionar el mejor manejo de las camas y el laboratorio hospitalario, del paciente internado por diarrea, del uso indebido de antibióticos, y de la diseminación intrahospitalaria de este virus. El apoyo brindado por la Dirección de Epidemiología del Ministerio de Salud y Acción Social de la Nación, el Instituto de Enfermedades Infecciosas, la Administración Nacional de Laboratorios e Institutos de Salud y las Instituciones Hospitalarias y Académicas participantes puede convertirse en el estímulo inicial necesario para motorizar el cambio propuesto.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a todo el personal profesional y técnico de las Unidades Centinelas participantes. Entre ellos el Dr. M. Tregnagui y el Dr. Usher del Hospital Infantil Municipal de Córdoba, la Dra. L. Martínez y M. Giordano de la Universidad Nacional de Córdoba, el Dr. H. Abate del Hospital de Pediatría Notti de Mendoza, la Dra. N. Martínez del Hospital Central de Mendoza, el Dr. J. A. Komaid, y la Dra. S. López de Caillou de la Universidad Nacional de Tucumán, la Dra. I. Padró y el Dr. Tabora del Centro de Tecnología en Salud Pública de Rosario, el Dr. Fernández

Pascua del Instituto Nacional de Epidemiología de Mar del Plata. El presente estudio se realizó parcialmente con un subsidio de la Fundación Alberto J. Roemmers a J. G.

REFERENCIAS

1. Aramayo I, Galanternik L, Botto L, Elldid ME, Gomez JA, Grinstein S (1987) Agentes patógenos entéricos aislados en niños con diarrea aguda asistidos en el Hospital de Niños «Ricardo Gutierrez». Arch. Arg. Pediatr. 85: 191-189.
2. Basnec SN, Giordano MO, Bennun FR, Nates SV, Vergara M, Depetris AR (1991) Detection of two atypical rotaviruses in the province of Misiones, Argentina. Acta Virol. 35: 408-412.
3. Bernstein DI, Sander DS, Smith VE, Schiff GM, Ward RL (1991) Protection from rotavirus reinfection: 2-year prospective study. J. Infect. Dis. 164: 277-283.
4. Bhan MK, Lew JF, Sazawal S, Das BK, Gentsch JR, Glass RI (1993) Protection conferred by neonatal rotavirus infection against subsequent rotavirus diarrhea. J. Infect. Dis. 168: 282-287.
5. Bishop RF (1993) Development of candidate rotavirus vaccines. Vaccine 11: 247-254.
6. Castagnaro NCR, Komaid JA, Caillou MSL, Zamora AM, Naval MSM, Suarez AM (1994) Variación temporal de electroferotipos y serotipos de rotavirus humanos en el noroeste argentino. Acta Bioquim. Clin. Latinoam. 28: 385-391.
7. de Zoysa I, Feachem RG (1985) Interventions for the control of diarrhoeal diseases among young children: rotavirus and cholera immunization. Bull. World Health Organ. 63: 569-583.
8. Espul C, Cuello H, Navarta LM, Mamani N, O'Ryan M (1993) Characterization of antigenic types of circulating rotaviruses in Mendoza, Argentina based on typing of the external VP7 capsid protein. Acta Gastroenterol. Latinoam. 23: 211-216.
9. Giordano MO, Basnec SN, Nates SV, Bennun F, Depetris AR (1991) Rapid techniques for diagnostic and epidemiological studies of rotavirus infection. J. Virol. Meth. 35: 59-63.
10. Giordano MO, Depetris AR, Nates SV (1995) Estudio retrospectivo de la circulación de electroferotipos de Rotavirus humano en la ciudad de Córdoba, Argentina, 1979-1989. Rev. Arg. Microbiol. 27: 1-10.
11. Glass RI, Lew JF, Gangarosa RE (1991) Estimates of the morbidity and mortality from diarrheal diseases in American children. J. Pediatr. 118: 27-33.
12. Glass RI, Bresee JS, Parashar U, Miller M, Gentsch JR (1997) Rotavirus vaccines at the threshold [news]. Nature Med. 3: 1324-1325.
13. Glass RI, Gentsch J, Smith JC (1994) Rotavirus vaccines: success by reassortment? Science 265: 1389-1391.
14. Glass RI, Gentsch JR, Ivanoff B (1996) New lessons for rotavirus vaccines [comment]. Science 272: 46-48.

15. Glass RI, Lang DR, Ivanoff BN, Compans RW (1996) Introduction: Rotavirus- from basic research to a vaccine. *J. Infect. Dis.* 174: S1-S2.
16. Gomez J, Bercovich A, Alvarez A, Garrido D, Grinstein S (1990) Seroepidemiology of human rotaviruses in a community of the Avellaneda district, Province of Buenos Aires. *Rev. Arg. Microbiol.* 22: 182-191.
17. Gomez J, Estes MK, Matson DO, Bellinzoni R, Alvarez A, Grinstein S (1990) Serotyping of human rotaviruses in Argentina by ELISA with monoclonal antibodies. *Arch. Virol.* 112: 249-259.
18. Gomez JA, Bercovich J, Biscotti E, Siniawski S, Sternberg L, Montesi A (1987) Diarrea por Rotavirus: Estudio prospectivo de 49 familias del partido de Avellaneda, provincia de Bs. As. *Arch. Arg. Pediatr.* 85: 139-149.
19. Gomez JA, Bercovich JA, Grinstein S (1985) Comparison of enzyme immunoassay, counterimmunoelectrophoresis and polyacrylamide gel electrophoresis for the diagnosis of rotaviruses. *Rev. Arg. Microbiol.* 17: 111-114.
20. Gomez JA, Biscotti EL, Bercovich JA, Grinstein S (1986) Epidemiology of human rotaviruses in Argentina as determined by RNA genome electrophoresis. *Intervirology* 26: 174-180.
21. Gomez JA, Nates S, De Castagnaro NR, Espul C, Borsa A, Glass RI (1998) Anticipating rotavirus vaccines: review of epidemiologic studies of rotavirus diarrhea in Argentina. *Rev. Panam. Salud Publica* 3: 69-78.
22. Grinstein S, Gomez JA, Bercovich JA, Biscotti EL (1989) Epidemiology of rotavirus infection and gastroenteritis in prospectively monitored Argentine families with young children. *Am. J. Epidemiol.* 130: 300-308.
23. Ho MS, Glass RI, Pinsky PF (1988) Rotavirus as a cause of diarrheal morbidity and mortality in the United States. *J. Infect. Dis.* 158: 1112-1116.
24. Komaid JA, Caillou SL, Suarez AM, Castagnaro N (1990) Electroferotipos del ARN de rotavirus durante cuatro años de estudio de gastroenteritis en Tucumán. *Rev. Arg. Microbiol.* 22: 123-129.
25. Komaid JA, de Caillou MS, Suárez AM, Zamora AM, de Castagnaro NR (1991) Detection of non-A rotavirus in Tucumán. *Rev. Arg. Microbiol.* 23: 172-174.
26. OMS (1997) Vaccine Research and Development- Rotavirus vaccines for developing countries. *Weekly Epidemiological Record* 72: 33-40.
27. Plaza A, Grinstein S, Muchnik G, Valvano M, Gomez JA (1982) Estudio clínico y epidemiológico de la diarrea por Rotavirus en la infancia. *Arch. Arg. Pediatr.* 80: 289-308.
28. Sorrentino A, Schodeller E, Bellinzoni R, Muchnik G, La Torre JL (1986) Detection of an atypical rotavirus associated with diarrhoea in Chaco Argentina. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 80: 120-122.
29. Unicomb LE, Kilgore PE, Faruque SG, Hamadani JD, Fuchs GJ, Albert MJ, Glass RI (1997) Anticipating rotavirus vaccines: hospital-based surveillance for rotavirus diarrhea and estimates of disease burden in Bangladesh. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 16: 947-951.
30. Velazquez FR, Matson DO, Calva JJ, Guerrero L, Morrow AL, Carter-Campbell S, Glass RI, Estes MK, Pickering LK, Ruiz-Palacios GM (1996) Rotavirus infections in infants as protection against subsequent infections. *N. Engl. J. Med.* 335: 1022-1028.
31. Ward RL, Bernstein DI (1994) Protection against rotavirus disease after natural rotavirus infection. US Rotavirus Vaccine Efficacy Group. *J. Infect. Dis.* 169: 900-904.