



Gastroenteritis bacteriana en un área de Zaragoza (España)

E. Laín Miranda^a, S. Ruiz Aliende^a, C. Marne Trapero^b, M. J. Revillo Pinilla^b

^aMIR-Microbiología. Hospital Universitario Miguel Servet. Zaragoza. España • ^bServicio de Microbiología. Hospital Universitario Miguel Servet. Zaragoza. España

Publicado en Internet:
10-marzo-2015

Elena Laín Miranda:
melainm@salud.aragon.es

Resumen

Objetivo: las infecciones agudas del tracto gastrointestinal figuran entre las enfermedades infecciosas más frecuentes en atención primaria. La participación de los distintos microorganismos difiere de unas áreas geográficas a otras, con variaciones estacionales y según el grupo de población estudiada. El objetivo de este trabajo es estudiar retrospectivamente los coprocultivos y la investigación de toxina A/B de *Clostridium difficile* realizados de 2010 a 2012 en el Hospital Universitario Miguel Servet (Zaragoza, España) en pacientes pediátricos, que recibe las muestras de la población del área II de Zaragoza.

Materiales y métodos: se recibieron 24 058 heces para coprocultivo (46,6% de Pediatría) y 4132 para investigación de toxina (3,4% de Pediatría).

Resultados: el 9,6% de los coprocultivos fueron positivos para una o varias bacterias enteropatógenas (el 14,8% de las muestras de adultos y el 5,1% de las muestras pediátricas). El 5% de las determinaciones de toxina A/B de *C. difficile* fueron positivas (8,6% de las muestras pediátricas y 4,9% de las muestras de adultos).

Conclusiones: las bacterias más frecuentemente aisladas, tanto en niños como en adultos, fueron *Campylobacter* (el 49,9% de los positivos en niños y el 37,1% en adultos) y *Salmonella* (el 33,8% de los positivos en niños y el 32,9% en adultos). La especie más frecuente de *Campylobacter* fue *Campylobacter jejuni* y el serotipo de *Salmonella* más habitual fue *Salmonella enteritidis*.

Palabras clave:

- Gastroenteritis
- Diarrea
- Enteropatógeno

Bacterial gastroenteritis in an area of Zaragoza (Spain)

Abstract

Objective: acute gastrointestinal infections are one of the most frequent infectious diseases in primary health care. Implication of microorganisms is variable in different geographical areas, according to seasonal period and population studied. The aim is to study retrospectively the stool cultures and the *Clostridium difficile* toxin A/B performed from 2010 to 2012 in the Hospital Miguel Servet (Zaragoza, Spain) of paediatric patients from the area II of Zaragoza.

Materials and methods: 24058 faeces were received for culture (46.6% from children) and 4132 faeces for toxin investigation (3.4% from children).

Results: 9.6% of the stool cultures were positive for one or more enteropathogen bacteria (14.8% from adults and 5.1% from children). Five percent of the toxin investigations were positive (8.6% from children and 4.9% from adults).

Conclusions: the bacteria most frequently isolated in both adults and children were *Campylobacter* (49.9% of the positives in children and 37.1% in adults) and *Salmonella* (33.8% of the positives in children and 32.9% in adults). The most frequent serotype of *Salmonella* was *Salmonella enteritidis* and the most frequent species of *Campylobacter* was *Campylobacter jejuni*.

Key words:

- Gastroenteritis
- Diarrhoea
- Enteropathogen

Cómo citar este artículo: Laín Miranda E, Ruiz Aliende S, Marne Trapero C, Revillo Pinilla MJ. Gastroenteritis bacteriana en un área de Zaragoza (España). Rev Pediatr Aten Primaria. 2015;17:29-35.

INTRODUCCIÓN

Las infecciones del tracto gastrointestinal son, junto con las infecciones del tracto respiratorio y genitourinario, unas de las enfermedades infecciosas más frecuentes en Atención Primaria. Aunque muchas veces se trata de un proceso benigno en adultos sanos, un desequilibrio hidroelectrolítico puede provocar una deshidratación en niños, ancianos y en personas con factores de riesgo. A nivel mundial, las infecciones gastrointestinales siguen siendo una de las causas más importantes de morbilidad y mortalidad entre los lactantes¹.

La participación de los distintos microorganismos difiere de unas áreas geográficas a otras y también depende del grupo de población estudiada. La gastroenteritis de etiología bacteriana es la segunda en importancia tras la vírica, siendo la etiología parasitaria menos frecuente. En cuanto al predominio estacional, hay mayor incidencia de gastroenteritis víricas en otoño-invierno, mientras que las bacterianas afectan preferentemente en primavera-verano².

Los síntomas principales de las gastroenteritis son diarrea, fiebre, vómitos y dolor abdominal. Según el tipo de diarrea puede ser acuosa (secretora) o invasiva (disentería). La diarrea acuosa o secretora es la más frecuente y suele cursar con heces líquidas. En la diarrea invasiva o disentería las heces pueden contener sangre, moco y pus y puede cursar con fiebre, dolor abdominal y tenesmo. El diagnóstico definitivo solo se puede obtener mediante pruebas de laboratorio.

El objetivo del presente estudio es conocer los resultados de los coprocultivos y de la investigación de toxina A/B de *Clostridium difficile* realizados en la población pediátrica del Área II de Zaragoza (España).

MATERIALES Y MÉTODOS

Desde enero 2010 hasta diciembre 2012 se recibieron para coprocultivo en el Servicio de Microbiología del Hospital Universitario Miguel Servet de Zaragoza 24 058 muestras de heces, de las que el

46,6% correspondía a pacientes en edad pediátrica. La distribución por sexos fue similar. La mayor parte de las heces eran de pacientes de Atención Primaria (Tabla 1).

Las muestras de heces se recibieron en contenedor estéril sin medio de transporte y se sembraron directamente en los medios de cultivos habituales para aislamiento de los gérmenes más frecuentes causantes de diarrea, que incluían:

- Agar sangre para una visión general de la flora intestinal presente.
- Agar XLD (xiloxa, lisina, desoxicolato) para aislamiento de *Salmonella* y *Shigella*.
- Agar CIN agar (cefsulodina, irgasan, novobiocina) para aislamiento de *Yersinia* y *Aeromonas*.
- Agar CCD (carbón, cefoperazona, desoxicolato, anfotericina) para aislamiento de *Campylobacter*.
- En caso de heces líquidas se añadió una placa de agar MacConkey sorbitol (SMAC) para aislamiento de *Escherichia coli* enterohemorrágica O157.
- Además se sembraron en caldo tetracionato para enriquecimiento en *Salmonella*, con posterior resiembra a las 24 horas en agar Hektoen.

Las placas de agar sangre, XLD, SMAC y Hektoen se incubaron aeróbicamente a 35 °C durante 24 horas, la placa de CIN a 30 °C 24 horas y la placa de agar CCD se incubó a 42 °C en atmósfera microaerófila con lecturas a las 24 y 48 horas.

La identificación de los microorganismos se realizó por espectrometría de masas MALDI-TOF® Brucker Daltonik. En los casos de *Salmonella*, *Shigella* y *Yersinia* se completó la identificación con aglutina-

Tabla 1. Origen de 24 058 heces procesadas para coprocultivo

	Pediatría	Adultos	Total
Atención Primaria	6985 (62%)	5640 (44%)	12 703 (53%)
Consultas	1211 (11%)	2081 (16%)	3272 (14%)
Hospitalización	2948 (26%)	4548 (35%)	7482 (31%)
Urgencias	67 (1%)	578 (4%)	601 (2%)
Total	11 211 (47%)	12 847 (53%)	

ción mediante antisueros comerciales. Las cepas de *Salmonella* se enviaron al Centro Nacional de Microbiología para estudio epidemiológico de serotipado y fagotipado. El estudio de sensibilidad antibiótica se realizó por microdilución (MicroScan Walkaway®, Siemens) y en el caso de *Campylobacter* mediante difusión disco placa en agar sangre. Se recibieron 4132 heces para la investigación de *Clostridium difficile*, siendo el 3,41% de Pediatría. Se realizó la detección de la toxina A/B de *Clostridium difficile* mediante inmunoensayo en microplaca y se confirmó la positividad por citotoxicidad en cultivos tisulares.

RESULTADOS

De los 24 058 coprocultivos realizados, 9,6% fueron positivos para uno o varios enteropatógenos.

El 14,8% de las 11 211 muestras pediátricas y el 5,1% de las 12 847 muestras de adultos fueron positivas.

En la **Tabla 2** se desglosan los resultados microbiológicos obtenidos en Pediatría en comparación con los de adultos. Las bacterias más frecuentemente aisladas, tanto en niños como en adultos, fueron *Campylobacter* (el 49,9% de los positivos en niños y el 37,1% en adultos) y *Salmonella* (el 33,8% de los positivos en niños y el 32,9% en adultos). Dentro de la gran variabilidad antigénica de *Salmonella* predominó el serotipo *typhimurium*. Le sigue por orden de frecuencia *Aeromonas*. Dentro del género *Campylobacter* la especie más frecuentemente aislada fue *C. jejuni* (**Tabla 2**). De las 4132 determinaciones de toxina A/B de *C. difficile* fueron positivas el 5% (el 8,6% de las 128 muestras pediátricas y el 4,9% de las 4004 muestras de adultos) (**Tabla 2**).

Tabla 2. Distribución de agentes etiológicos bacterianos 2010-2012. Número de aislamientos

Microorganismo	Pediatría	Adultos	Total
<i>Campylobacter jejuni</i>	776	222	998
<i>Campylobacter coli</i>	35	17	52
<i>Campylobacter spp</i>	9	3	12
Total <i>Campylobacter</i>	820	242	1062
<i>Salmonella</i> serotipo enteritidis	136	69	205
<i>Salmonella</i> serotipo typhimurium	338	85	423
<i>Salmonella</i> grupo B	23	22	45
<i>Salmonella</i> grupo C1	33	24	57
<i>Salmonella</i> grupo C2	16	9	25
<i>Salmonella</i> serotipo typhi	1	-	1
<i>Salmonella</i> (otros serotipos)	17	6	23
Total <i>Salmonella</i>	564	215	779
<i>Aeromonas caviae</i>	184	113	297
<i>Aeromonas hydrophila</i>	10	14	24
<i>Aeromonas veronii</i>	17	36	53
<i>Aeromonas spp</i>	7	2	9
Total <i>Aeromonas</i>	218	165	383
<i>Yersinia enterocolitica</i>	51	14	65
<i>Shigella sonnei</i>	4	8	12
<i>Shigella flexneri</i>	-	6	6
<i>Shigella boydii</i>	-	1	1
Total <i>Shigella</i>	4	15	19
<i>Plesiomonas shigelloides</i>	-	1	1
<i>Vibrio parahemolyticus</i>	-	1	1
Toxina A/B <i>Clostridium difficile</i>	11	199	210

Los resultados de sensibilidad antibiótica de las principales bacterias enteropatógenas aisladas en coprocultivo se reflejan en la **Tabla 3**.

DISCUSIÓN

La investigación bacteriológica de procesos diarreicos representa una parte importante del trabajo de un laboratorio de Microbiología en coste, tanto por el número de placas utilizado como por el tiempo empleado. Sin embargo, es habitual obtener un bajo rendimiento en resultados de positividad con aislamiento e identificación del agente etiológico bacteriano. Las causas son múltiples. La falta de datos demográficos y clínicos del paciente y de orientación diagnóstica en la solicitud impide la elección de la técnica adecuada por la variedad de agentes infecciosos implicados (bacterias, virus, toxinas, parásitos). La edad, síntomas, tipo de diarrea, brote o caso aislado, viajes a países de riesgo y cualquier otro dato de interés facilita el diagnóstico microbiológico.

En el caso de bacterias enteropatógenas su labilidad es alta por los cambios de pH, temperatura y humedad sufridos por las heces, lo que hace que deba ser considerada una muestra que se debe tomar al inicio del cuadro diarreico, transportar y procesar con rapidez. El envío de muestras múltiples supone una sobrecarga para el laboratorio sin aportar una mejora sustancial del rendimiento, ya que la muestra óptima es la inicial. No se reco-

mienda el envío de muestras en proceso de mejora clínica por la alta probabilidad de obtener un resultado falsamente negativo. En nuestro laboratorio, el 28% de las heces recibidas eran inadecuadas por ser formes de consistencia sólida.

Las bacterias más frecuentemente aisladas en nuestro estudio no difieren del resto de la literatura médica revisada y fueron, tanto en niños como en adultos, *Campylobacter* y *Salmonella*^{2,3}. El aumento de especies exóticas como mascotas infantiles domiciliarias, sobre todo animales de sangre fría, hace que aparezcan esporádicamente serotipos de *Salmonella* inusuales en nuestro país⁴. Dentro del género *Campylobacter* la especie más frecuentemente aislada fue *C. jejuni*, datos acordes con estudios previos⁵. *Shigella* y *Yersinia* no representan un problema epidemiológico en salud pública por su baja frecuencia.

El papel patógeno de *Aeromonas* en cuadros diarreicos es controvertido, ya que no se ha podido reproducir en modelos animales, aunque *A. hydrophila* y *A. veroni* son especies potencialmente invasivas. Su aislamiento en heces puede responder a colonización transitoria. En países desarrollados la tasa de portador de *Aeromonas* está entre el 2 y el 10%⁷. El incremento estival de los aislamientos de *Aeromonas* sin una clara implicación patógena en el proceso diarreico puede deberse fundamentalmente a su mayor desarrollo en alimentos y medios acuáticos de recreo, por la elevación de la temperatura ambiental. En general son cuadros

Tabla 3. Sensibilidad antibiótica (% de aislamientos sensibles)

Microorganismo	Ampicilina	Amoxicilina clavulánico	Trimetoprima sultametoxazol	Ciprofloxacino	Eritromicina
<i>Salmonella grupo B</i>	38	80	80	97	
<i>Salmonella grupo C1</i>	52	95	73	98	
<i>Salmonella grupo C2</i>	75	94	100	89	
<i>Salmonella enteritidis</i>	75	97	99	99	
<i>Salmonella typhimurium</i>	11	69	92	99	
Total	33	80	92	99	
<i>Aeromonas spp</i>	1	12	75	98	
<i>Yersinia enterocolitica</i>	0	90	12	98	
<i>Shigella spp</i>	50	88	19	70	
<i>Campylobacter spp</i>				11	95

benignos autolimitados, asociados principalmente con el consumo previo de pescado o marisco. Su presencia puede estar subestimada en casos de diarrea subaguda (de dos semanas a dos meses) o crónica (más de dos meses). Aunque no hay datos concluyentes, su papel en la diarrea del viajero puede ser importante. Ocasionalmente puede presentarse como diarrea secretora acuosa. En casos extremos se ha asociado con síndrome hemolítico urémico⁷.

Recientemente ha cobrado especial relevancia la investigación de toxina de *C. difficile*. Aunque estaba reservada para pacientes hospitalizados, en casos especiales debe tenerse en cuenta en Atención Primaria, siempre según pautas de actuación consensuadas con el laboratorio. No se recomienda en edades inferiores a dos años por la dificultad de interpretación de los resultados, dado que es muy frecuente el estado de portador en esas edades⁶. Aunque el número total de determinaciones de toxina A/B de *C. difficile* no fue elevado, el 8,6% de las determinaciones pediátricas y el 4,9% de las de adultos fueron positivas. La implantación de protocolos revelará la incidencia real de este cuadro en Atención Primaria⁶.

El tratamiento principal de la enteritis infecciosa bacteriana es la rehidratación oral y, con la introducción precoz de la alimentación habitual, la diarrea remite en pocos días. La lactancia materna no debe interrumpirse^{8,9}. Solamente está justificado el ingreso hospitalario en caso de intolerancia oral o deshidratación. Los tratamientos sintomáticos y sobre todo los antibióticos no están recomendados de forma habitual en todos los casos. Se tendrá en cuenta el tipo de diarrea, la situación clínica y el patógeno implicado. En la gastroenteritis por *Shigella* y en las formas disintéricas por *Campylobacter* y *Salmonella*, el tratamiento precoz reduce los síntomas, el riesgo de bacteriemia y la contagiosidad, al acortar la duración de la eliminación fecal de la bacteria⁸. En general, en los casos de diarrea acuosa por *Salmonella* la mejoría con el tratamiento es solo aparente, ya que el cultivo se negativiza en etapas tempranas, pero posteriormente aumentan los cultivos positivos. Además podrían au-

mentar las recaídas, provocar reacciones adversas y aumentar las resistencias^{8,10}. Estaría indicado en neonatos y en pacientes inmunodeprimidos. No se recomienda por innecesaria la realización de coprocultivos de control en procesos autolimitados en pacientes inmunocompetentes¹¹.

Entre los antibióticos más utilizados para el tratamiento de las infecciones producidas por *Salmonella* figuran la amoxicilina-clavulánico, las fluoroquinolonas (en adultos o en niños de más edad cuando no existe otra alternativa) o trimetoprima-sulfametoxazol¹²⁻¹⁷. En los aislados de *Salmonella* estudiados, la tasa de resistencia global a la ampicilina fue del 77%. Los mayores porcentajes de resistencia se observaron entre los aislados del serotipo *typhimurium* (88%) en comparación con el serotipo *enteritidis* (25%). La resistencia a amoxicilina-clavulánico fue del 20%. Todos los serotipos presentaron una sensibilidad cercana al 100% a ciprofloxacina. Estos resultados de sensibilidad antibiótica son similares a otros estudios nacionales¹⁴⁻¹⁷.

A partir de la década de los noventa, la resistencia de *Campylobacter* a fluoroquinolonas se ha incrementado rápidamente en diferentes países, reconociéndose como un problema de salud pública. Este aumento coincide con la aprobación del uso de quinolonas fluoradas en aplicaciones veterinarias. En nuestro estudio se observó un 89% de aislados resistentes a ciprofloxacina y un 5% resistentes a eritromicina, cifras en sintonía con las referidas por otros autores. Si bien en la mayoría de los países desarrollados la tasa de resistencia a macrólidos en aislados clínicos de *Campylobacter* no es alarmante, se ha documentado una tendencia a un incremento, tanto en animales como en humanos¹⁸.

Las medidas más eficaces de prevención consisten sobre todo en la educación sanitaria, el cuidado de la higiene para evitar el contagio persona-persona y, en el caso de *Salmonella*, en el control de portadores. El portador crónico es el que presenta *Salmonella* en heces u orina durante más de un año¹⁰. La erradicación en un portador crónico solo estaría indicada en trabajadores sanitarios y de centros de

ancianos, en pacientes con virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) positivos, en manipuladores de alimentos y si se convive con inmunodeprimidos¹¹.

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran no presentar conflictos de intereses en relación con la preparación y publicación de este artículo.

BIBLIOGRAFÍA

1. Vila J, Álvarez-Martínez MJ, Buesa J, Castillo J. Diagnóstico microbiológico de las infecciones gastrointestinales. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2009;27:406-11.
2. Álvarez Martínez M, Buesa Gómez J, Castillo García J, Vila Estape J. Diagnóstico microbiológico de las infecciones gastrointestinales. Procedimientos en Microbiología Clínica. En: Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica [en línea] [consultado el 27/02/2015]. Disponible en www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia30.pdf
3. Fischer Walker CL, Sack D, Black RE. Etiology of diarrhea in older children, adolescents and adults: a systematic review. *PloS Negl Trop Dis*. 2010;4:e768.
4. Palomar Saiz S, Lopes Semedo G, Montejo Martínez MC, Cortés Rico O, María Tablado MA. Abordaje de una microepidemia de salmonelosis en el seno de una familia. *Rev Pediatr Aten Primaria*. 2011;20:e14.
5. Van Trieu T, De Pontual L. Conduite à tenir devant une diarrhée aiguë chez l'enfant. *Presse Med*. 2013;42:60-5.
6. Bouza E, Marín M, Peláez T, Group for Clostridium difficile infection of the Spanish Society for Chemotherapy. The situation and management of Clostridium difficile infection in Spain: an opinion document. *Rev Esp Quimioter*. 2013;26:261-86.
7. Janda MJ, Abbott SL. The genus *Aeromonas*: taxonomy, pathogenicity and infection. *Clin Microbiol Rev*. 2010;23:35-73.
8. Costa i Pagès J, Polanco Allué I, Gonzalo de Liria CR. Guía de Práctica Clínica. Gastroenteritis aguda en el niño. Sociedad Española de Gastroenterología, Hepatología y Nutrición Pediátrica [en línea] [consultado el 27/02/2015]. Disponible en www.guiasalud.es/GPC/GPC_464_Gastroenteritis.pdf
9. Gutiérrez Castellón P, Polanco Allue I, E. Salazar Lindo E. Manejo de la gastroenteritis aguda en menores de 5 años: un enfoque basado en la evidencia. Guía de práctica clínica Ibero-Latinoamericana. *An Pediatr (Barc)*. 2010;72:220.e1-220.e20.
10. Colaboración Cochrane. Antibióticos en infecciones intestinales por salmonela. *Rev Pediatr Aten Primaria*. 1999;1:453-6.
11. Pegues DA, Miller SI. Salmonella species, including Salmonella typhi. En: Mandell GL, Bennet JE, Dolin R (eds). *Mandell, Douglas and Bennett's principles and practice of infectious diseases*. 7.ª edición. Filadelfia (PA): Churchill Livingstone Elsevier; 2010. p. 2887-2903.
12. Mensa J, Gatell JM, García-Sánchez JE, Letang E, López-Suñé E, Marco F. Guía de terapéutica antimicrobiana. 23.ª edición. Barcelona: Antares; 2014.
13. Gendrel D, Cohen R. Diarrhées bactériennes et antibiotiques: les recommandations européennes. *Arch Pediatr*. 2008;15:593-6.
14. Delgado Ronda N, Muñoz Bellido JL, Ibáñez Pérez R, García García MI, Serrano Heranz R, Muñoz Criado S, et al. Resistencia a antimicrobianos en Salmonella no typhi en Castilla y León. *Rev Esp Quimioterap*. 2004; 1729-36.
15. Guerri Santos ML, Rotger R. Evolución de la resistencia a quinolonas y betalactámicos en distintos serogrupos de Salmonella durante la última década en un centro hospitalario de Madrid. *Rev Esp Quimioter*. 2004;17:37-43.
16. Onwuezobe IA, Oshun O, Odigwe CC. Antimicrobials for treating symptomatic non-typhoidal Salmonella

ABREVIATURAS

CCD: carbón, cefoperazona, desoxicolato, anfotericina • **CIN**: cefsulodina, irgasan, novobiocina • **SMAC**: agar *Macconkey* sorbitol • **VIH**: virus de la inmunodeficiencia humana • **XLD**: xiloxa, lisina, desoxicolato.

- infection. *Cochrane Database Syst Rev.* 2012 Nov 14;11:CD001167.
17. De Toro M, Seral C, Rojo-Bezares B, Torres C, Castillo J, Saénz Y, *et al.* Resistencia a antibióticos y factores de virulencia en aislados clínicos de *Salmonella* entérica. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2014;32:4-10.
 18. González-Abad MJ, Alonso-Sanz M. Incidencia y sensibilidad de *Campylobacter jejuni* en pacientes pediátricos: implicación en bacteriemia. *Rev Esp Quimioter.* 2013;26:92-6.



Bacterial gastroenteritis in a Zaragoza health care area (Spain)

E. Laín Miranda^a, S. Ruiz Aliende^a, C. Marne Trapero^b, M. J. Revillo Pinilla^b

^aMIR-Microbiología. Hospital Universitario Miguel Servet. Zaragoza. España • ^bServicio de Microbiología. Hospital Universitario Miguel Servet. Zaragoza. España

Published in Internet:
10-march-2015

Elena Laín Miranda:
melainm@salud.aragon.es

Abstract

Objective: acute gastrointestinal infections are one of the most frequent infectious diseases in primary health care. Implication of microorganisms is variable in different geographical areas, according to seasonal period and population studied. The aim is to study retrospectively the stool cultures and the *Clostridium difficile* toxin A/B performed from 2010 to 2012 in the Hospital Miguel Servet (Zaragoza, Spain) of paediatric patients from the area II of Zaragoza.

Materials and methods: 24058 faeces were received for culture (46.6% from children) and 4132 faeces for toxin investigation (3.4% from children).

Results: 9.6% of the stool cultures were positive for one or more enteropathogen bacteria (14.8% from adults and 5.1% from children). Five percent of the toxin investigations were positive (8.6% from children and 4.9% from adults).

Conclusions: The bacteria most frequently isolated in both adults and children were *Campylobacter* (49.9% of the positives in children and 37.1% in adults) and *Salmonella* (33.8% of the positives in children and 32.9% in adults). The most frequent serotype of *Salmonella* was *Salmonella enteritidis* and the most frequent species of *Campylobacter* was *Campylobacter jejuni*.

Key words:

- Gastroenteritis
- Diarrhoea
- Enteropathogen

Gastroenteritis bacteriana en un área de Zaragoza (España)

Resumen

Objetivo: las infecciones agudas del tracto gastrointestinal figuran entre las enfermedades infecciosas más frecuentes en atención primaria. La participación de los distintos microorganismos difiere de unas áreas geográficas a otras, con variaciones estacionales y según el grupo de población estudiada. El objetivo de este trabajo es estudiar retrospectivamente los coprocultivos y la investigación de toxina A/B de *Clostridium difficile* realizados de 2010 a 2012 en el Hospital Universitario Miguel Servet (Zaragoza, España) en pacientes pediátricos, que recibe las muestras de la población del área II de Zaragoza.

Materiales y métodos: se recibieron 24 058 heces para coprocultivo (46,6% de Pediatría) y 4132 para investigación de toxina (3,4% de Pediatría).

Resultados: el 9,6% de los coprocultivos fueron positivos para una o varias bacterias enteropatógenas (el 14,8% de las muestras de adultos y el 5,1% de las muestras pediátricas). El 5% de las determinaciones de toxina A/B de *C. difficile* fueron positivas (8,6% de las muestras pediátricas y 4,9% de las muestras de adultos).

Conclusiones: las bacterias más frecuentemente aisladas, tanto en niños como en adultos, fueron *Campylobacter* (el 49,9% de los positivos en niños y el 37,1% en adultos) y *Salmonella* (el 33,8% de los positivos en niños y el 32,9% en adultos). La especie más frecuente de *Campylobacter* fue *Campylobacter jejuni* y el serotipo de *Salmonella* más habitual fue *Salmonella enteritidis*.

Palabras clave:

- Gastroenteritis
- Diarrea
- Enteropatógeno

How to quote this article: Laín Miranda E, Ruiz Aliende S, Marne Trapero C, Revillo Pinilla MJ. Gastroenteritis bacteriana en un área de Zaragoza (España). Rev Pediatr Aten Primaria. 2015;17:29-35.

INTRODUCTION

Infections of the gastrointestinal tract, along with respiratory tract and genital and urinary tract infections, constitute some of the most frequent infectious diseases seen in Primary Care. While they are often a benign entity in healthy adults, a water-electrolyte imbalance can cause dehydration in children, the elderly and at-risk individuals. Gastrointestinal infections continue to be one of the leading causes of morbidity and mortality in infants worldwide.¹

The involvement of different microorganisms varies across geographical areas, and also depends on the segment of the population under study. Bacteria are the second leading causative agent of gastroenteritis, following viruses, while parasites are the least frequent aetiology. When it comes to seasonal predominance, there is a higher incidence of viral gastroenteritis during autumn and winter, while bacterial meningitis is most frequent in the spring and summer.²

The main symptoms of gastroenteritis are diarrhoea, fever, vomiting and abdominal pain. Gastroenteritis can be classified depending on the type of diarrhoea into secretory gastroenteritis (watery) or dysentery (invasive). Watery or secretory diarrhoea is more frequent and usually manifests with watery stools. In invasive diarrhoea or dysentery, the stools may contain blood, mucus or pus, and the diarrhoea may be accompanied by fever, abdominal pain and tenesmus. Laboratory tests are needed to reach a definitive diagnosis.

The aim of this study was to learn the results of stool cultures and of *Clostridium difficile* toxin A/B tests performed in the paediatric population of health care area II in Zaragoza (Spain).

MATERIALS AND METHODS

The Microbiology Department of the Hospital Universitario Miguel Servet of Zaragoza received 24 058 samples for stool culture from January 2010 through December 2012, of which 46.6% cor-

responded to patients in the paediatric age group. The distribution by sex was fairly even. Most of the stool samples were from Primary Care patients (Table 1).

The stool samples were received in a sterile container without transport medium and were seeded directly on the culture media generally used for the isolation of the most frequent causative agents of diarrhoea, including:

- Blood agar for a general overview of the current intestinal flora.
- XLD (xylose, lysine, deoxycholate) agar for isolation of *Salmonella* and *Shigella*.
- CIN (cefsulodin, irgasan, novobiocin) agar for isolation of *Yersinia* and *Aeromonas*.
- CCD (charcoal, cefoperazone, deoxycholate, amphotericin) agar for isolation of *Campylobacter*.
- For watery stools, a SMAC (sorbitol-McConkey) agar was added for isolation of enterohaemorrhagic *Escherichia coli* O157.
- The samples were also seeded in tetrathionate broth for selective enrichment of *Salmonella*, and reseeded on Hektoen enteric agar 24 hours later.

The blood agar, XLD, SMAC and Hektoen plates were incubated aerobically at 35 °C for 24 hours, the CIN plate aerobically at 30 °C for 24 hours, and the CCD plate at 42 °C in a microaerophilic atmosphere and read at 24 and 48 hours.

Microorganisms were identified by MALDI-TOF[®] mass spectrometry (Brucker Daltonik). The identification of *Salmonella*, *Shigella* and *Yersinia* isolates was completed by agglutination tests with commercial antisera. The *Salmonella* strains were sent

Table 1. Sources of the 24 058 stool samples submitted for culture

	Children	Adults	Total
Primary Care	6985 (62%)	5640 (44%)	12 703 (53%)
Outpatient Specialty Care	1211 (11%)	2081 (16%)	3272 (14%)
Inpatient Hospital Care	2948 (26%)	4548 (35%)	7482 (31%)
Emergency department	67 (1%)	578 (4%)	601 (2%)
Total	11 211 (47%)	12 847 (53%)	

to the Centro Nacional de Microbiología (National Centre of Microbiology) for epidemiological serotyping and phage-typing testing. Antibiotic susceptibility testing was performed by broth microdilution (MicroScan Walkaway[®], Siemens) and in the case of *Campylobacter* by the disk diffusion method on blood agar.

The department received 4132 stool samples for *Clostridium difficile* testing, 3.41% of which came from Paediatrics. *Clostridium difficile* toxin A/B detection was performed by means of microplate immunoassay, and positive results were confirmed by cell cytotoxicity assays.

RESULTS

Of the 24 058 stool cultures performed, 9.6% were positive for one or more enteropathogens. Positive

results were found in 14.8% of the 11 211 paediatric samples and 5.1% of the 12 847 samples from adult patients.

Table 2 details the microbiological results obtained in paediatric patients compared to adult patients. The bacteria isolated most frequently both in children and adults were *Campylobacter* (49.9% of positive tests in children and 37.1% in adults) and *Salmonella* (33.8% of positive tests in children and 32.9% in adults). The serotype that predominated in the broad antigenic spectrum of *Salmonella* corresponded to the *typhimurium* serovar. The second most frequent genus was *Aeromonas*. The most frequently isolated species in the *Campylobacter* genus was *C. jejuni* (**Table 2**). Of the 4132 samples tested for *C. difficile* toxins A/B, 5% tested positive (8.6% of the 128 paediatric samples and 4.9% of the 4004 adult samples) (**Table 2**).

Table 2. Distribution of bacterial aetiological agents 2010–2012. Number of isolations

Microorganism	Children	Adults	Total
<i>Campylobacter jejuni</i>	776	222	998
<i>Campylobacter coli</i>	35	17	52
<i>Campylobacter spp</i>	9	3	12
Total <i>Campylobacter</i>	820	242	1062
<i>Salmonella serovar enteritidis</i>	136	69	205
<i>Salmonella serovar typhimurium</i>	338	85	423
<i>Salmonella group B</i>	23	22	45
<i>Salmonella group C1</i>	33	24	57
<i>Salmonella group C2</i>	16	9	25
<i>Salmonella serovar typhi</i>	1	-	1
<i>Salmonella</i> (other serovars)	17	6	23
Total <i>Salmonella</i>	564	215	779
<i>Aeromonas caviae</i>	184	113	297
<i>Aeromonas hydrophila</i>	10	14	24
<i>Aeromonas veronii</i>	17	36	53
<i>Aeromonas spp</i>	7	2	9
Total <i>Aeromonas</i>	218	165	383
<i>Yersinia enterocolitica</i>	51	14	65
<i>Shigella sonnei</i>	4	8	12
<i>Shigella flexneri</i>	-	6	6
<i>Shigella boydii</i>	-	1	1
Total <i>Shigella</i>	4	15	19
<i>Plesiomonas shigelloides</i>	-	1	1
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	-	1	1
Toxin A/B <i>Clostridium difficile</i>	11	199	210

Table 3 shows the results of antibiotic susceptibility testing for the main enteropathogenic bacteria isolated from stool cultures.

DISCUSSION

The bacteriological study of diarrhoeic illnesses is a significant component of the work in a microbiology laboratory, both in terms of the cost of the materials used and the time invested. However, there is generally a low yield of positive results with isolation and identification of the bacterial aetiological agent. There are many reasons for this. The lack of demographic and clinical data for the patient and of an orientation for the diagnosis in the order form prevents the selection of appropriate methods due to the broad spectrum of agents that may be involved (bacteria, viruses, toxins, parasites). The age, symptoms, type of diarrhoea, whether the case is isolated or part of an outbreak, travel to endemic countries and any other data of interest can facilitate the microbiological diagnosis.

Enteropathogenic bacteria are very labile to stool changes in pH, temperature and humidity, so samples ought to be taken soon after the onset of diarrhoea and transported and processed in a timely manner. The submission of multiple samples increases the workload of the laboratory and does not substantially improve the yield, as initial samples are the best. Submission of samples from pa-

tients with clinical improvement is not recommended due to the high probability of obtaining a false-negative result. In our laboratory, 28% of the stools received were inadequate because they were formed stools with a solid consistency.

The bacteria most frequently isolated in our study in both children and adults were *Campylobacter* and *Salmonella*, which was consistent with the reviewed medical literature.^{2,3} The increase in exotic pet species in the homes of children, especially of cold-blooded animals, has resulted in the sporadic appearance of atypical *Salmonella* serotypes in our country.⁴ The *Campylobacter* species isolated most frequently was *C. jejuni*, consistent with previous studies.⁵ From an epidemiological standpoint, *Shigella* and *Yersinia* are not a public health concern due to their low incidence.

The pathogenic role of *Aeromonas* in cases of diarrhoea is controversial, as it has not been possible to reproduce it in animal models, although *A. hydrophila* and *A. veroni* are potentially invasive species. Their isolation from stools may reflect transient colonisation. In developed countries, the *Aeromonas* carriage rate ranges between 2% and 10%.⁷ Most of the summer increase in the isolation of *Aeromonas* without a clear pathogenic role in diarrhoeic illness is probably explained by the greater growth rate of this bacterium in foods and recreational water environments promoted by higher environmental temperatures. Usually, these are mild self-limited illnesses associated

Table 3. Antibiotic susceptibility (% susceptible isolates)

Microorganism	Ampicillin	Amoxicillin-clavulanic acid	Trimethoprim sulfamethoxazole	Ciprofloxacin	Erythromycin
<i>Salmonella group B</i>	38	80	80	97	
<i>Salmonella group C1</i>	52	95	73	98	
<i>Salmonella group C2</i>	75	94	100	89	
<i>Salmonella enteritidis</i>	75	97	99	99	
<i>Salmonella typhimurium</i>	11	69	92	99	
Total <i>Salmonella</i>	33	80	92	99	
<i>Aeromonas spp</i>	1	12	75	98	
<i>Yersinia enterocolitica</i>	0	90	12	98	
<i>Shigella spp</i>	50	88	19	70	
<i>Campylobacter spp</i>				11	95

with recent consumption of fish or shellfish. Its presence in cases of subacute diarrhoea (from two weeks to two months) or chronic diarrhoea (more than two months) may be underestimated. While the available data are not conclusive, *Aeromonas* may play an important role in traveller's diarrhoea. It may occasionally manifest as watery secretory diarrhoea, and in very severe cases it has been associated with haemolytic uraemic syndrome.⁷

Recently, testing for *C. difficile* toxins has gained relevance. It used to be performed only in hospitalised patients, but it must be considered in specific Primary Care cases, always adhering to the guidelines established with the laboratory. It is not recommended for ages less than 2 years due to the difficulty in interpreting the results, as carriage is very common in this age group.⁶ While the total number of *C. difficile* toxin A/B detections was not high, 8.6% of paediatric tests and 4.9% of adult tests were positive. The implementation of protocols will help establish the actual incidence of this disease in Primary Care.⁶

The primary treatment of bacterial infectious enteritis is oral rehydration with early introduction of usual foods, with the diarrhoea resolving within a few days. Breastfeeding should not be discontinued.^{8,9} Admission to the hospital is only warranted when the patient has poor oral tolerance or is dehydrated. Pharmacological treatment, and especially antibiotic therapy, is not recommended for the systematic treatment of all cases. The type of diarrhoea, clinical status, and involved pathogen must be taken into account. In gastroenteritis cases caused by *Shigella* and of dysentery caused by *Campylobacter* and *Salmonella*, early treatment reduces the symptoms, the risk of bacteraemia and the risk of transmission by shortening the duration of bacterial shedding in the stool.⁸ In cases of watery diarrhoea caused by *Salmonella*, signs of initial improvement with treatment may be deceptive, as cultures become negative in early stages but the rate of positive results increases at a later point. Treatment can lead to a higher relapse rate, cause adverse effects and increase bacterial

resistance.^{8,10} Treatment is indicated in newborns and immunocompromised patients. Follow-up stool cultures are not recommended in cases of self-limiting disease in immunocompetent patients.¹¹

Some of the antibiotics used most frequently in the treatment of *Salmonella* infections are amoxicillin-clavulanic acid, fluoroquinolones (in adults or in older children when there is no other choice) and trimethoprim-sulfamethoxazole.¹²⁻¹⁷ The overall rate of ampicillin resistance of the *Salmonella* isolates in this study was 77%. The higher rates of resistance were found in the isolates of serovar *typhimurium* (88%) compared to serovar *enteritidis* (25%). The rate of resistance to amoxicillin-clavulanic acid was 20%. The overall susceptibility to ciprofloxacin for all serotypes was approximately 100%. These antibiotic susceptibility results are similar to those found in other studies conducted in Spain.¹⁴⁻¹⁷

Campylobacter resistance to fluoroquinolones has increased sharply in various countries since the 1990s, and has been recognised as a public health problem. This increase has coincided with the approval of fluoroquinolones for veterinarian use. In our study, 89% of the isolates were resistant to ciprofloxacin and 5% to erythromycin, figures that are similar to those reported by other authors. While the rate of macrolide resistance in clinical isolates of *Campylobacter* is not alarming, an increase in this rate has been documented both in animals and in humans.¹⁸

The most effective prevention strategies are health education, strict hygiene measures to prevent person-to-person transmission, and in the case of *Salmonella*, treatment of carriers. Chronic carriage is defined as detection of *Salmonella* in stool or urine samples over a period of more than one year.¹⁰ Eradication of chronic carriage is only indicated in healthcare workers, nursing home staff, patients with human immunodeficiency virus (HIV) infection, food handlers and members of the household of an immunocompromised individual.¹¹

CONFLICTS OF INTEREST

Los autores declaran no presentar conflictos de intereses en relación con la preparación y publicación de este artículo.

CONFLICTS OF INTEREST

The authors have no conflicts of interest to declare in relation to the preparation and publication of this article.

REFERENCES

1. Vila J, Álvarez-Martínez MJ, Buesa J, Castillo J. Diagnóstico microbiológico de las infecciones gastrointestinales. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2009;27:406-11.
2. Álvarez Martínez M, Buesa Gómez J, Castillo García J, Vila Estape J. Diagnóstico microbiológico de las infecciones gastrointestinales. *Procedimientos en Microbiología Clínica*. En: Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica [en línea] [consultado el 27/02/2015]. Disponible en www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientosmicrobiologia30.pdf
3. Fischer Walker CL, Sack D, Black RE. Etiology of diarrhea in older children, adolescents and adults: a systematic review. *PloS Negl Trop Dis*. 2010;4:e768.
4. Palomar Saiz S, Lopes Semedo G, Montejo Martínez MC, Cortés Rico O, María Tablado MA. Abordaje de una microepidemia de salmonelosis en el seno de una familia. *Rev Pediatr Aten Primaria*. 2011;20:e14.
5. Van Trieu T, De Pontual L. Conduite à tenir devant une diarrhée aiguë chez l'enfant. *Presse Med*. 2013;42:60-5.
6. Bouza E, Marín M, Peláez T, Group for Clostridium difficile infection of the Spanish Society for Chemotherapy. The situation and management of Clostridium difficile infection in Spain: an opinion document. *Rev Esp Quimioter*. 2013;26:261-86.
7. Janda MJ, Abbott SL. The genus *Aeromonas*: taxonomy, pathogenicity and infection. *Clin Microbiol Rev*. 2010;23:35-73.
8. Costa i Pagès J, Polanco Allué I, Gonzalo de Liria CR. Guía de Práctica Clínica. Gastroenteritis aguda en el niño. Sociedad Española de Gastroenterología, Hepatología y Nutrición Pediátrica [en línea] [consultado el 27/02/2015]. Disponible en www.guiasalud.es/GPC/GPC_464_Gastroenteritis.pdf
9. Gutiérrez Castellón P, Polanco Allue I, E. Salazar Lindo E. Manejo de la gastroenteritis aguda en menores de 5 años: un enfoque basado en la evidencia. *Guía de práctica clínica Ibero-Latinoamericana*. An Pediatr (Barc). 2010;72:220.e1-220.e20.
10. Colaboración Cochrane. Antibióticos en infecciones intestinales por salmonela. *Rev Pediatr Aten Primaria*. 1999;1:453-6.
11. Pegues DA, Miller SI. *Salmonella species, including Salmonella typhi*. En: Mandell GL, Bennet JE, Dolin R (eds). *Mandell, Douglas and Bennett's principles and practice of infectious diseases*. 7.ª edición. Filadelfia (PA): Churchill Livingstone Elsevier; 2010. p. 2887-2903.
12. Mensa J, Gatell JM, García-Sánchez JE, Letang E, López-Suñé E, Marco F. *Guía de terapéutica antimicrobiana*. 23.ª edición. Barcelona: Antares; 2014.
13. Gendrel D, Cohen R. Diarrhées bactériennes et antibiotiques: les recommandations européennes. *Arch Pediatr*. 2008;15:593-6.
14. Delgado Ronda N, Muñoz Bellido JL, Ibáñez Pérez R, García García MI, Serrano Heranz R, Muñoz Criado S, et al. Resistencia a antimicrobianos en *Salmonella* no typhi en Castilla y León. *Rev Esp Quimioterap*. 2004; 17:29-36.
15. Guerri Santos ML, Rotger R. Evolución de la resistencia a quinolonas y betalactámicos en distintos serogrupos de *Salmonella* durante la última década en un centro hospitalario de Madrid. *Rev Esp Quimioter*. 2004;17:37-43.
16. Onwuezobe IA, Oshun O, Odigwe CC. Antimicrobials for treating symptomatic non-typhoidal *Salmonella*

- infection. *Cochrane Database Syst Rev.* 2012 Nov 14;11:CD001167.
17. De Toro M, Seral C, Rojo-Bezares B, Torres C, Castillo J, Saénz Y, *et al.* Resistencia a antibióticos y factores de virulencia en aislados clínicos de *Salmonella* entérica. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2014;32:4-10.
18. González-Abad MJ, Alonso-Sanz M. Incidencia y sensibilidad de *Campylobacter jejuni* en pacientes pediátricos: implicación en bacteriemia. *Rev Esp Quimioter.* 2013;26:92-6.