Diagnóstico mediante ELISA de un brote de infección gastrointestinal por Norovirus en una guardería infantil

JC. Sanz[a], M. Fernández[c], N. Herranz[c],
MJ. Calvente[b], E. Insua[b], A. Sánchez-Fauquier[c]
[a]*Laboratorio Regional de Salud Pública.*
[b]*Servicio de Salud Pública del Área 3.*
Instituto de Salud Pública de la Comunidad de Madrid.
[c]*Centro Nacional de Microbiología, Instituto de Salud Carlos III.*
Madrid.

Rev Pediatr Aten Primaria. 2005;7:49-52
Juan Carlos Sanz, juan.sanz@madrid.org

Resumen

La incidencia de brotes de gastroenteritis por Norovirus en niños ha sido infravalorada. Esto se ha debido principalmente a la dificultad para disponer de procedimientos diagnósticos adecuados (microscopía electrónica y reacción en cadena de polimerasa de trascripción inversa [RT-PCR]). Los nuevos métodos de enzimoinmunoensayo (ELISA), capaces de detectar antígenos virales en heces, constituyen una alternativa diagnóstica prometedora. El objetivo de este estudio es describir la aplicación de una técnica de ELISA en la investigación de un brote de gastroenteritis por Norovirus en una guardería. En septiembre de 2003 se notificaron varios casos de gastroenteritis entre niños que acudían a una guardería. El brote afectó a 15 de los 64 niños expuestos. La sintomatología fue vómitos (100%), dolor abdominal (66%), náuseas (40%) y diarrea (40%). La duración del cuadro fue de 3 días (mediana 2 días). Tres pacientes requirieron ingreso hospitalario y todos se recuperaron con tratamiento sintomático. Se estudiaron 3 muestras de heces de 3 pacientes. La presencia de Salmonella sp, Shigella sp y Campylobacter sp se descartó por coprocultivo. La investigación de Norovirus, Rotavirus, Adenovirus y Astrovirus se realizó mediante ELISA específicos (IDEIA NLV, IDEIA Rotavirus, IDEIA Adenovirus e IDEIA Astrovirus; Dako Ltd, Ely UK). En las 3 muestras procesadas se obtuvieron resultados positivos por ELISA para Norovirus y negativos para el resto de los patógenos. La confirmación de resultados para Norovirus se llevó a cabo mediante RT-PCR. La aplicación generalizada de técnicas de ELISA permitirá ayudar a definir en nuestro entorno el papel de los Norovirus como agentes responsables de brotes de gastroenteritis aguda en niños.

Palabras clave: *Test de ELISA, Norovirus, Brotes de enfermedades.*

Abstract

The incidence of gastrointestinal outbreaks caused by Norovirus in children has been underestimated. This fact is mainly due to the difficulty in the availability of adequate diagnostic

procedures (electronic microscopy and Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction [RT-PCR]). The new Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) methods for the detection of viral antigens in stools represent a promising diagnostic alternative. The objective of this study was to describe the application of an ELISA technique in the investigation of an outbreak by Norovirus in a day care center. In September 2003 several cases of gastroenteritis in children attending a day care center were communicated. The outbreak affected to 15 out of 64 exposed children. The symptomatology was vomits (100%), abdominal pain (66%), nauseas (40%) and diarrhoea (40%). The duration of the symptoms was 3 days (median 2 days). Three patients required hospitalisation and all of them improved with symptomatic treatment. Three faecal samples of three patients were studied. The presence of Salmonella sp, Shigella sp and Campylobacter sp was discarded by coproculture. The investigation of Norovirus, Rotavirus, Adenovirus and Astrovirus was carried out by specific ELISAs (IDEIA NLV, IDEIA Rotavirus, IDEIA Adenovirus e IDEIA Astrovirus; Dako Ltd, Ely UK). In the three processed samples were obtained positive results for Norovirus. These results were confirmed by using RT-PCR. The results for all other pathogens were negative. The wide application of similar ELISA techniques will allow defining the role of Norovirus as agents of gastrointestinal outbreaks among children in our environment.

Key words: *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay, Norovirus, Disease outbreaks.*

La familia *Caliciviridae* incluye cuatro géneros: *Norovirus* (previamente Norwalk-like), *Sapovirus* (Sapporo-like), *Lagovirus* y *Vesivirus*. Únicamente los dos primeros se relacionan con infección gastrointestinal en humanos[1,2]. El género *Norovirus*, que se divide en genogrupos (dos humanos y uno animal) y varios genotipos, constituye una causa común de brotes de gastroenteritis en países desarrollados[3]. Sin embargo, sólo una minoría de estos brotes llegan a confirmarse[3]. La levedad de esta infección y la dificultad para disponer de procedimientos diagnósticos (microscopía electrónica y reacción en cadena de la polimerasa de trascripción inversa [RT-PCR]) hacen que esta enfermedad se infravalore. Los nuevos métodos de enzimoinmunoensayo (ELISA), capaces de detectar antígenos virales en heces, constituyen una alternativa diagnóstica prometedora[4]. El objetivo de este estudio es describir la aplicación de una técnica de ELISA en la investigación de un brote de gastroenteritis por *Norovirus* en una guardería infantil. En septiembre de 2003 se notificaron varios casos de gastroenteritis, aparecidos en pocas horas, entre niños que acudían a una guardería. El brote afectó a 15 de 64 niños expuestos (tasa de ataque global 23%). La sintomatología fue vómitos (100%), dolor abdominal (66%), náuseas (40%) y diarrea (40%). Ningún enfermo presentó fiebre. La duración del cuadro fue de 3 días (mediana 2 días). Tres pacientes requirieron ingreso

hospitalario (tasa de hospitalización del 20%) y todos se recuperaron con tratamiento sintomático. Este brote ofreció la oportunidad de evaluar una nueva técnica de ELISA (IDEIA NLV; Dako Ltd, Ely UK) que permite detectar (y clasificar como genogrupo I o II) miembros del género *Norovirus*. Se estudiaron 3 muestras de heces de 3 pacientes (todos de edades comprendidas entre 0 y 3 años). La presencia de *Salmonella sp, Shigella sp* y *Campylobacter sp* se descartó por coprocultivo. Otros virus entéricos (*Rotavirus, Adenovirus* y *Astrovirus*) se investigaron mediante ELISA específicos (IDEIA *Rotavirus*, IDEIA *Adenovirus* e IDEIA *Astrovirus*; Dako Ltd, Ely UK). En las 3 muestras procesadas se obtuvieron resultados positivos por ELISA para *Norovirus* (genogrupo II) y negativos para el resto de los virus. La confirmación de resultados se llevó a cabo mediante RT-PCR[5].

Los *Norovirus*, constituyen la causa más importante de diarrea no bacteriana[6]. Estas infecciones son frecuentes entre personas ancianas[6], en las que la tasa de morbimortalidad es más elevada. No obstante, pueden afectar también a niños. En nuestro medio la mayoría de los estudios de gastroenteritis víricas en niños se han centrado en *Rotavirus, Astrovirus* y *Adenovirus*[7], y aunque existen algunos datos sobre incidencia de *Norovirus* en casos esporádicos[5], apenas se dispone de información sobre brotes infantiles. Las técnicas moleculares basadas en RT-PCR constituyen los métodos de referencia para la confirmación de estos procesos[8]. Sin embargo, estos métodos suelen quedar fuera del alcance de la mayoría de los laboratorios de microbiología clínica. El empleo de técnicas más sencillas y comercialmente disponibles facilitará la detección de este tipo de infecciones. La técnica aquí evaluada permitió el diagnóstico de este brote. Su utilidad se vio respaldada por los resultados confirmatorios obtenidos por RT-PCR. El agente etiológico del brote corresponde a un *Norovirus* del genogrupo II. Este genogrupo ha sido el predominante en España durante los últimos años[5,9]. Esta nueva técnica de ELISA se ha mostrado muy específica[10]. En este estudio algunos de los pacientes fueron hospitalizados; no obstante, en la mayoría de las ocasiones los enfermos infectados por *Norovirus* requieren únicamente asistencia ambulatoria. En este contexto, la aplicación generalizada de técnicas similares de ELISA permitirá ayudar a definir en nuestro entorno el papel de los *Norovirus* como agentes responsables de brotes de gastroenteritis aguda en niños.

Bibliografía

1. Atmar RL, Estes MK. Diagnosis of noncultivatable gastroenteritis viruses, the human caliciviruses. Clin Microbiol Rev. 2001;14:15-37.

2. Chiba S, Nakata S, Numata-Kinoshita K, Honma S. Sapporo virus: history and recent findings. J Infect Dis. 2000;181(Suppl 2):S303-S308.

3. Lopman BA, Reacher MH, Van Duijnhoven Y, Hanon FX, Brown D, Koopmans M. Viral gastroenteritis outbreaks in Europe, 1995-2000. Emerg Infect Dis. 2003;9:90-96.

4. Vipond IB, Pelosi E, Williams J, et al. A diagnostic EIA for detection of the prevalent SRSV strain in United Kingdom outbreaks of gastroenteritis. J Med Virol. 2000;61:132-137.

5. Román E, Negredo A, Dalton RM, Wilhelmi I, Sánchez-Fauquier A. Molecular detection of human calicivirus among Spanish children with acute gastroenteritis. J Clin Microbiol. 2002;40: 3857-3859.

6. Hedlund KO, Rubilar-Abreu E, Svensson L. Epidemiology of calicivirus infections in Sweden, 1994-1998. J Infect Dis. 2000;181(Suppl 2):S275-S280.

7. Román E, Wilhelmi I, Colomina J, et al. Acute viral gastroenteritis: proportion and clinical relevance of multiple infections in Spanish children. J Med Microbiol. 2003;52(Pt 5):435-440.

8. Norwalk-like viruses. Public health consequences and outbreak management. MMWR Recomm Rep. 2001;50(RR-9):1-17.

9. Buesa J, Collado B, López-Andújar P, et al. Molecular epidemiology of caliciviruses causing outbreaks and sporadic cases of acute gastroenteritis in Spain. J Clin Microbiol. 2002;40:2854-2859.

10. Richards AF, Lopman B, Gunn A, Curry A, Ellis D, Cotterill H, et al. Evaluation of a commercial ELISA for detecting Norwalk-like virus antigen in faeces. J Clin Virol. 2003;26:109-115.