

# ASPECTE PRIVIND SEVERITATEA ENTEROCOLITEI ROTAVIRALE LA COPILUL PREȘCOLAR – ANCHETĂ CASE-CONTROL PE CAZURI SPITALIZATE

## *Severity of rotavirus enterocolitis in preschool children – case-control analysis on hospitalized cases*

Dr. Nicolae Ion-Nedelcu, Dr. Maria Nica, Dr. Ștefan Lazăr,  
Prof. Dr. Petre Calistru, Prof. Dr. Emanoil Ceaușu

*Spitalul Clinic de Boli Infecțioase și Tropicale „Dr. Victor Babeș”, București*

### REZUMAT

**Obiectiv:** identificarea și validarea de caracteristici specifice gastroenteritei acute rotavirus-pozitivă necesare pentru evaluarea impactului vaccinării antirotavirale.

**Metode:** studiu case-control 1:1 pe cazuri de gastroenterită acută spitalizate.

**Rezultate:** criteriile de înrolare au permis alcătuirea a 202 seturi case-control. După screeningul, prin analiză univariată, a 10 caracteristici ale cazurilor, regresia logistică necondițională a identificat 4 dintre acestea ca fiind independent asociate semnificativ ( $p < 0,05$ ) cu gastroenterita acută rotavirus-pozitivă spitalizată: deshidratarea (Odds Ratio: 4,93; Interval de Confidență 95%: 2,14-11,35), hipoglicemia (OR: 2,65; IC95: 1,18-5,98), spitalizarea > 6 zile (OR: 4,24; IC95: 2,01-8,96) și respectiv recăderea (OR: 2,92; IC95: 1,35-6,34)

**Discuții:** caracteristicile validate în acest studiu ca fiind înalt specifice gastroenteritei acute rotavirus pozitive vor permite evaluarea comprehensivă a impactului vaccinării în condiții de teren fără a fi nevoie de utilizarea laboratorului pentru a demonstra diminuarea prevalenței etiologiei rotavirale.

**Cuvinte cheie:** enterită rotavirală, severitate clinică, studiu case-control

### ABSTRACT

**Objective:** the aim of the study was to identify and validate specific characteristics of acute gastroenteritis (AGE) rotavirus-positive needed for the assessment of rotavirus vaccination's impact.

**Methods:** matched 1:1 case-control study upon hospitalized AGE cases.

**Results:** enrolment criteria allowed assembling of 202 case-control sets. After the screening of 10 characteristics, the unconditional logistic regression identified 4 of them as being independently and significantly associated ( $p < 0,05$ ) with AGE rotavirus-positive: dehydration [Odds Ratio (OR): 4.93; Confidence Interval 95% (CI95): 2.14-11.25], hypoglycemia (OR: 2.65; CI95: 1.18-5.98), hospitalization longer then 6 days (OR: 4.24; CI95: 2.01-8.96) and relapse (OR: 2.92; CI95: 1.35-6.34)

**Discussions:** the characteristics validated through this study as being highly specific for AGE rotavirus-positive will permit a comprehensive assessment of the rotavirus vaccination's impact on field condition, excluding the need for laboratory tests to demonstrate decreasing of the prevalence of rotavirus etiology.

**Key words:** rotavirus enteritis; clinical severity; case-control study

### INTRODUCERE

Peste tot în lume diareea este una dintre cele mai frecvente boli ale copilului (1), în țările în curs de

dezvoltare fiind a treia cauză de deces la copil (2). La nivel global rotavirusurile sunt cauza principală a gastroenteritei acute (GEA) (3) și reprezintă cea mai frecventă cauză de diaree severă la copilul în

Adresă de corespondență:

Dr. Nicolae Ion-Nedelcu, Spitalul Clinic de Boli Infecțioase și Tropicale „Dr. Victor Babeș”, București

vârsta de < 5 ani. Se consideră că infecția rotavirală îi afectează virtual pe toți copiii până la vârsta de 5 ani (4). În fiecare an, aproximativ 600.000 de copii decedază din cauza bolii rotavirale, mai ales în țările în curs de dezvoltare (5).

În țările dezvoltate infecția rotavirală este un motiv majoritar de spitalizare la copilul cu GEA (6-8) și implică costuri substanțiale (9). Există un consens larg privind faptul că reducerea prin intervenții decisive a frecvenței GEA rotavirus-positivă spitalizată ar avea un beneficiu major prin reducerea cheltuielilor legate de această afecțiune dobândită în comunitate, dar și în spital (7,10,11).

Pe piața internațională există două vaccinuri vii atenuate orale împotriva infecției rotavirale: Rotarix™ (GlaxoSmithkline Biologicals, Rixensart, Belgia) (12) și respectiv RotaTek™ (Merk & Co. Inc., West Point, PA, SUA) (13). Ambele produse, considerate sigure și eficiente în prevenirea GEA rotavirală, sunt recomandate de către Organizația Mondială a Sănătății (OMS) pentru a fi introduse în vaccinarea de rutină a copiilor (14,15). Suplimentar, OMS a elaborat un protocol de monitorizare (16) a impactului vaccinării antirotavirale. În studiul de față s-a încercat depistarea de indicatori indirecti care prin analiza de tip înainte-după intervenție să confere evidențe credibile privind efectul vaccinării antirotavirale în eventualitatea introducerii acesteia în schema națională de vaccinare a copilului din România.

## METODE

*Loc* – studiul a fost condus în Spitalul Clinic de Boli Infecțioase și Tropicale „Dr. V. Babeș” din București (SVB), clinică universitară cu 450 de paturi, clasificată 2M.

*Laborator* – Diagnosticul de laborator al GEA s-a efectuat cu kitul comercial „Vikia® Rota-Adeno” (bioMerieux) care conține teste rapide, bazate pe tehnica imunocromatografică (ITC), destinate dublei detectări de rotavirus și adenovirus, în același eșantion de materii fecale (17-19). Este un test calitativ bazat pe asocierea anticorpilor monoclonali specifici rotavirusului, respectiv adenovirusului prin reacții imunologice care au loc pe suprafața stripului, în urma fenomenului de migrare. Pe membrana de migrare cromatografică a stripului există 3 regiuni: „R” – Ac monoclonali anti-rotavirus; regiunea „A” – impregnată cu Ac monoclonali anti-adenovirus; regiunea „C” – control – anticorpi policlonali anti-IgG. Suprafața stripului este impregnată cu un conjugat, care conține: (a) anticorpi monoclonali antirotavirus cuplați cu particule/

microsfere de polistiren colorate în albastru și (b) anticorpi monoclonali antiadenovirus cuplați cu particule de polistiren colorate în roșu. Adăugarea probei de materii fecale în godeul special al casei stripului determină migrarea componentelor antigenelor virale, prin capilaritate, de-a lungul membranei cromatografice, timp de 10-15 minute. În cazul în care eșantionul supus testării conține rotavirus sau/și adenovirus, antigenele virale formează complexe imune cu anticorpii și determină apariția pe strip de benzi colorate, în roșu pentru rotavirus și respectiv în albastru pentru adenovirus. Absența oricărei benzi (albastră sau roșie) semnifică faptul că proba este negativă pentru rotavirus sau adenovirus. Dacă testul este efectuat corect, ca un control intern de calitate, apare banda de control „C”.

S-au respectat următoarele recomandări: (a) prelevarea probelor de materii fecale să se efectueze în faza precoce a bolii diareice, la debutul simptomatologiei, știindu-se faptul că excreția maximă de virus are loc în primele 3-5 zile de la debut, (b) cantitatea de produs să fie de minimum 1-2 ml sau 1-2 g și respectiv maximum 50 g, transvazată în coprorecoltoare curate, fără mediu de conservare și transport și (c) prelucrarea materiilor fecale să se facă în maximum 6 ore de la recoltă sau să se refrigereze la 2°-8°C; refrigerate, eșantioanele se pot prelucra în maximum 72 ore (17). Testul are valoarea predictivă pozitivă similară tehnicii imunenzimatică (20).

*Cazurile* – din baza electronică de date a spitalului au fost incluși în studiu pacienții externți în anul 2010, la care diagnosticul principal de externare a fost de enterocolită cu rotavirus (CIM-10: A08), aveau vârsta de sub 5 ani la data admiterii în spital și erau domiciliați în municipiul București.

*Martorii* – baza de sondaj pentru martori a constituit-o lista electronică în format tabelar MS Excel® a înregistrărilor privind pacienții externți din SVB în anul 2010 cu diagnosticul principal de enterocolită acută de cauză probabil infecțioasă (CIM-10: A09), în vârstă de sub 5 ani și cu rezidență în municipiul București. Pacienții care au corespuns acestor criterii au fost sortați în ordinea alfabetică a numelui de familie, vârstei în ani la data internării în spital, sexului și respectiv a lunii calendaristice a internării în spital.

*Design* – designul case-control 1:1 al studiului a implicat alcătuirea de seturi caz-martor; fiecărui pacient-caz i s-a juxtapus un pacient-martor identificat prin selecție aleatorie simplă din baza de sondaj și având aceleași caracteristici cu cazul (sex, vârstă în ani la debut și lună calendaristică a datei îmbolnăvirii). Fiecărui set caz-martor i s-a alocat un cod unic, după care membrii setului au fost

introduși într-o bază de date Epi Info (Epi Info versiune 3.5.3, CDC, Atlanta, GA, SUA) unde, alături de codul unic, au fost incluse următoarele informații: codurile CIM-10 ale tuturor diagnosticilor declarate la externare, durata spitalizării mai mare de 6 zile (Da/Nu), existența (Da/Nu) a unui sejur în ATI și respectiv existența (Da/Nu) a unei recăderi.

**Definiții și convenții** – recăderea a fost definită ca înregistrarea în interval de 30 de zile a două spitalizări ale aceluiași pacient, fiecare spitalizare având o durată minimă de 2 zile și același cod CIM-10.

**Prelucrarea statistică** – prin interogarea bazei de date au fost comparate perechile discordante în analiza univariată; prin regresie logistică condițională au fost identificate caracteristicile asociate independent și semnificativ cu enterocolita rotavirus pozitivă. Semnificația ratelor a fost asociată cu valori  $p < 0,05$ .

## REZULTATE

Analiza univariată a 10 caracteristici ale pacienților înrolați (Tabelul 1) a identificat 5 condiții asociate semnificativ ( $p < 0,05$ ) cu GEA rotavirus pozitivă: hipoglicemia, hepatocitoliza, spitalizarea mai îndelungată de 6 zile, recăderea și deshidratarea.

Regresia logistică condițională (Tabelul 2) a identificat următoarele caracteristici ca fiind asociate semnificativ ( $p < 0,05$ ) și independent cu GEA rotavirus pozitivă: deshidratarea [Odds ratio (OR): 4,93; Interval de confidență 95% (IC<sub>95%</sub>): 2,14-11,35], hipoglicemia (OR: 2,65; IC<sub>95%</sub>: 1,18-5,98), spitalizarea > 6 zile (OR: 4,24; 2,01-8,96) și recăderea (OR: 2,92; IC<sub>95%</sub>: 1,35-6,34).

**TABELUL 2.** Regresie logistică condițională pentru identificarea caracteristicilor de severitate clinică a enterocolitei rotvirale – anchetă case-control 1:1

| Caracteristici severitate clinică | Odds Ratio ajustată | Interval confidență 95% | Valoare p     |
|-----------------------------------|---------------------|-------------------------|---------------|
| Cu deshidratare (Da/Nu)           | <b>4,93</b>         | <b>2,14 – 11,35</b>     | <b>0,0002</b> |
| Cu hepatocitoliză (Da/Nu)         | 4,89                | 0,95 – 25,08            | 0,0567        |
| Cu hipoglicemie (Da/Nu)           | <b>2,65</b>         | <b>1,18 – 5,98</b>      | <b>0,0181</b> |
| Spitalizat > 6 zile (Da/Nu)       | <b>4,24</b>         | <b>2,01 – 8,96</b>      | <b>0,0001</b> |
| Respitalizat (recădere) (Da/Nu)   | <b>2,92</b>         | <b>1,35 – 6,34</b>      | <b>0,0065</b> |

## DISCUȚII

Studiul nostru a identificat câteva caracteristici de severitate ale GEA rotavirus pozitivă la copilul preșcolar. Observațiile noastre sunt consistent validate după cum urmează: (a) pe plan intern au fost reconfirmate observațiile noastre precedente (21) privind faptul că spitalizarea prelungită este caracteristica GEA rotavirus pozitive și (b) pe plan extern observațiile noastre sunt validate de Giaquinto și colaboratorii (9), care au arătat ca GEA rotavirus pozitivă este mult mai severă decât GEA rotavirus-negativă, simptome precum deshidratarea, voma, letargia și febra fiind întâlnite statistic semnificativ mai frecvent în prima condiție decât în ultima. De asemenea, alți autori au raportat o mai mare severitate clinică a GEA rotavirus-positivă decât GEA rotavirus-negativă (22-25).

Caracteristicile de severitate a GEA rotavirus pozitivă identificate de noi au valoare ca instrumente obiective de măsurare a impactului vaccinării anti-rotvirale, în eventualitatea introducerii acestora în arsenalul de măsuri antiepidemice din România.

**TABELUL 1.** Analiza univariată a factorilor de risc asociați enterocolitei rotavirus pozitive

| Factori de risc         | # seturi cu expunerea (+) arătată la factor de risc |                        | Match Odds ratio | Interval confidență 95 % | Valoare p     |
|-------------------------|---|------------------------|------------------|--------------------------|---------------|
|                         | Caz (+)<br>Control (-)                              | Caz (-)<br>Control (+) |                  |                          |               |
| Din colectivitate copii | 12  | 15                     | 0,80             | 0,37-1,72                | 0,3506        |
| Cu sejur în ATI         | 15  | 7                      | 2,14             | 0,89-5,62                | 0,0669        |
| Cu hipoglicemie         | 26  | 10                     | <b>2,60</b>      | <b>1,28-5,64</b>         | <b>0,0057</b> |
| Cu IACRS*               | 30  | 39                     | 0,77             | 0,47-1,24                | 0,1678        |
| Cu anemie               | 26  | 22                     | 1,18             | 0,67-2,11                | 0,3327        |
| Cu hepatocitoliză       | 10  | 2                      | <b>5,00</b>      | <b>1,22-33,54</b>        | <b>0,0193</b> |
| Cu MPC**                | 7   | 4                      | 1,75             | 0,51-6,82                | 0,2744        |
| Spitalizat > 6 zile     | 44  | 10                     | <b>4,40</b>      | <b>2,28-9,20</b>         | <b>0,0000</b> |
| Respitalizat (recădere) | 37  | 11                     | <b>3,36</b>      | <b>1,75-6,88</b>         | <b>0,0001</b> |
| Cu deshidratare         | 44  | 8                      | <b>5,50</b>      | <b>2,69-12,50</b>        | <b>0,0000</b> |

\*IACRS: infecție acută de căi respiratorii superioare;

\*\*MPC: malnutriție protein-calorică

Măsurarea eficienței vaccinării este programatic crucială din două motive – pe de-o parte pentru demonstrarea justetei deciziei de a selecta vaccinarea drept mijloc decisiv de control și, pe de altă parte, pentru motivarea sustenabilității, a continuării programului de vaccinare pentru generațiile viitoare.

În eventualitatea introducerii controlului infecției rotavirale prin vaccinare sistematică și de masă, lipsa unor programe naționale de supraveghere a GEA rotavirus pozitivă, situație tipică celor 23 de țări din partea de est a zonei Europene a OMS, deci inclusiv România (26), are ca implicație absența datelor specifice (confirmarea cu laboratorul a etiologiei) necesare pentru demonstrează inechivocă a diminuării prevalenței AGE rotavirus pozitivă la vaccinați, prin metoda clasică recomandată de OMS (27). Alternativa este utilizarea caracteristicilor de severitate clinică a GEA rotavirus pozitivă pentru a demonstra indirect diminuarea impactului bolii rotavirale, consecutiv vaccinării; spre exemplu, în cazul monitorizării evenimentului spitalizare la pacienții cu enterocolită acută, diferența între prevalența acestui eveniment la vaccinați față de cei nevaccinați ar trebui să reflecte impactul vaccinării antirotavirale. Ca exemplu, în SUA, în primul studiu la nivel național al impactului vaccinării cu

3 doze de vaccin antirotaviral pentavalent s-a raportat o eficiență a vaccinării de 100% (87%-100%) față de spitalizarea în cazul GEA rotavirus pozitive și respectiv de 59% (46%-69%) față de GEA de natură probabil infecțioasă (28).

În final postulăm că operarea cu mai multe caracteristici de severitate proprii GEA rotavirus pozitivă în evaluarea impactului vaccinării va augmenta credibilitatea rezultatului evaluării. În lucrarea de față s-a reușit validarea mai multor caracteristici de severitate ale GEA rotavirus pozitivă, elemente de bază ale strategiei de evaluare a impactului vaccinării antirotavirale, în eventualitatea introducerii acesteia, în controlul bolii rotavirale din România.

## LIMITE

Pentru măsurarea severității am utilizat ca reper durata spitalizării care depășea percentilă 75 a seriei și nu am utilizat scorul de 20 de puncte din tabela tradițională Vesikari (24), utilizat în măsurarea severității sindromului diareic, în studiile de prelicențiere a vaccinurilor rotavirale.

## BIBLIOGRAFIE

1. Kosek M., Bern C., Guerrant R.L. – The global burden of diarrhoeal disease, as estimated from studies published between 1992 and 2000. *Bull World Health Org* 2003; 81: 197-204
2. Black R.E., Morris S.S., Bryce J. – Where and why are 10 million children dying every year? *Lancet* 2003; 361: 2226-34.
3. Parashar U.D., Hummelman E.G., Bresee J.S., Miller M.A., Glass D.I. – Global illness and deaths caused by rotavirus disease in children. *Emerg Infect Dis* 2003; 9: 565 – 72.
4. Velazquez F.R., Matson D.O., Calva J.J., et al. – Rotavirus infections in infants as protection against subsequent infections. *N Engl J Med* 1996; 335: 1022-8.
5. Parashar U.D., Gibson C.J., Bresse J.S., Glass R.I. – Rotavirus and severe childhood diarrhea. *Emerg Infect Dis* 2006; 12: 304-6.
6. Koopmans M., Brown D. – Seasonality and diversity of group A rotaviruses in Europe. *Acta Paediatr Suppl* 1999; 174: S59 – S64.
7. Pediatric Rotavirus European Committee (PROTECT) – The paediatric burden of rotavirus disease in Europe. *Epidemiol Infect* 2006; 134: 908 – 916
8. Van Damme P., Giaquinto C., Huet F., et al. – Multicenter prospective study of the burden of rotavirus acute gastroenteritis in Europe, 2004-2005: the REVEAL study. *J Infect Dis* 2007; 195: S4 – S16
9. Giaquinto C., Van Damme P., Huet F., Gothefors L., Van der Wielen M. – Cost of community-acquired pediatric rotavirus gastroenteritis in 7 European countries: the REVEAL Study. *J Infect Dis* 2007; 195 (Suppl 1): S36-44.
10. Fisher T.K., Brese J.S., Glass R.J. – Rotavirus vaccines and the prevention of hospital-acquired diarrhea in children. *Vaccine* 2004; 22 (Suppl 1): S49 – S54
11. Gleizes O., Desselberger U., Tatochenko V., et al. – Nosocomial rotavirus infection in European countries: a review of the epidemiology, severity and economic burden of hospital-acquired rotavirus disease. *Pediatr Infect Dis J* 2006; 25: S12 – S21.
12. O’Ryan M. – Rotarix (RIX4414): an oral human rotavirus vaccine. *Expert Rev Vaccine* 2007; 6: 11 – 19
13. Keating G.M. – Rotavirus vaccine (RotaTeq). *Pediatr Drugs* 2006; 8: 197 – 202.
14. World Health Organization – Rotavirus vaccines. WHO position paper. *Weekly Epidemiol Rec* 2007; 82: 285-296
15. World Health Organization. Rotavirus vaccines: an update. *Weekly Epidemiol Rec* 2009; 84: 533-540
16. World Health Organization – Generic protocol for monitoring impact of rotavirus vaccination on gastroenteritis disease burden and viral strains. WHO/IVB/08.06 accesibil la: [www.who.int/vaccines-documents/](http://www.who.int/vaccines-documents/)
17. „VIKIA Rota-Adeno”, bioMerieux, protocol de lucru, manualul producătorului.
18. Wilhelmi I., Roman E., Sanchez-Fauruier A. – Viruses causing gastroenteritis. *Clin Microbiol Infect* 2003; 9: 247-262.
19. Wadell G. – (1990). Adenoviruses. In Principles and Practice of Clinical Virology. Eds A. J. Zuckermann et al, *John Willey and Sons Ltd.*, pp. 267 – 287.
20. Wilhelmi I., Colomina J., Martin-Rodrigo D., Roman E., Sanchez-Fauguier A. – New immunochromatographic method for rapid detection of rotavirus in stool samples compared with standard enzyme immunoassay and latex agglutination techniques *Eur J Clin Microbiol Dis* 2001; 20: 741-743.

21. **Ulmeanu C., Nistor I., Craciun M.D., Ion-Nedelcu N.** – Frecvența și severitatea gastroenteritei acute rotvirale spitalizate în București, România. Rezultatele unui studiu case-control. *Bacteriol Virusol Parazitol Epidemiol.* 2009; 54: 41-46.
22. **Rodriguez W.J., Kim H.W., Arrobio J.O., et al.** – Clinical features of acute gastroenteritis associated with human reovirus-like agent in infants and young children. *J Pediatr* 1977; 97: 188 – 93.
23. **Maki M.** – A prospective clinical study of rotavirus diarrhea in young children. *Acta Pediatr Scand* 1981; 70: 107 – 13
24. **Ruuska T., Vesikari T.** – Rotavirus disease in Finnish children: use of numerical scores for clinical severity of diarrhoeal episodes. *Scand J Infect Dis* 1990; 22: 259-67
25. **Kurugol Z., Geylani S., Karaka Y., et al.** – Rotavirus gastroenteritis among children under five years of age in Izmir, Turkey. *Turk J Pediatr* 2003; 45: 290 – 4
26. **Williams C.J., Gray J.J., Pebody R.G., Lobanov A.** – Survey of rotavirus surveillance, laboratory capacity and disease burden in the eastern part of the WHO European region. *Eurosurveillance* 2008; 13: 1-7.
27. **Orenstein W.A., Bernier T.J., Dondero T.J., et al.** – Field evaluation of vaccine efficacy. *Bull World Hlth Org* 1985; 63: 1055 – 1068.
28. **Wang F.T., Mast T.C., Glass R.J., Louglin J., Seeger J.D.** – Effectiveness of the pentavalent rotavirus vaccine in preventing gastroenteritis in the United States. *Pediatrics* 2010; 125: e208-13.