

50° Aniversario de Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana

Genotipificación de Rotavirus en niños menores de cinco años en la región sur del Ecuador

Genotyping of Rotavirus in children under five years of age in the Southern region of Ecuador

Genotipagem de Rotavírus em crianças menores de cinco anos na região sul do Equador

- Rosa Janneth Simaluiza-Masabanda^{1a}, Gabriela Cevallos-Solórzano^{1b}, Lurys Bourdett-Stanziola^{2c}, Paulina Arévalo-Jaramillo^{1a}, Jeimmy Ruiz-Ramón^{1a}, Diana Villacis-Villa^{3a}, Paula C. Torres-Bailón^{4a}, Heriberto Fernández Jaramillo^{5d}

¹ Magíster, Bioquímico Farmacéutico.

² Ph.D., Magíster en Enfermedades Tropicales.

³ Bioquímico Farmacéutico.

⁴ Doctora en Bioquímica y Farmacia.

⁵ Ph.D., Licenciado en Tecnología Médica.

^a Universidad Técnica Particular de Loja, Departamento Ciencias de la Salud, Ecuador.

^b Universidad Técnica Particular de Loja, Departamento de Ciencias Biológicas, Ecuador.

^c Dirección Nacional de Análisis y Control de Alimentos Importados, DINACAI. Autoridad Panameña de Seguridad de Alimentos, AUPSA, Panamá.

^d Instituto de Microbiología Clínica, Universidad Austral de Chile, Chile.

Resumen

Fueron estudiadas, para la búsqueda de rotavirus, 341 muestras fecales obtenidas de sendos niños menores de cinco años con diarrea aguda, atendidos en dos centros de salud de la ciudad de Loja - Ecuador. De ellas, 56 (16%) fueron positivas para rotavirus, siendo genotipificadas 33 muestras para la determinación de genotipos G y P. Los genotipos más frecuentes fueron G4 (42%), P[6] (36%) y la combinación mixta G4+9P[6] (21%). Este es el primer estudio de carácter molecular en rotavirus realizado en el sur de Ecuador y los datos obtenidos ratifican la variabilidad de cepas de rotavirus circulantes en este país.

Palabras clave: rotavirus * genotipos * Ecuador

Summary

A total of 341 fecal samples obtained from children under five years of age with acute diarrhea disease, attending two nursing homes in Loja city, Ecuador were studied for rotavirus diagnosis. Out of them, 56 (16%) were rotavirus positive and 33 samples were genotyped for the determination of genotypes G and P. The most frequent genotypes were G4 (42%), P [6] (36%) and +9 mixed combination G4 P [6] (21%). This is the first molecular study on rotavirus carried out in Southern Ecuador and the obtained data confirms the variability of the rotavirus circulating strains in Ecuador.

Key words: rotavirus * genotypes * Ecuador



Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana

Incorporada al Chemical Abstract Service.

Código bibliográfico: ABCLDL.

ISSN 0325-2957

ISSN 1851-6114 en línea

ISSN 1852-396X (CD-ROM)

Resumo

Foram estudadas, para a pesquisa de rotavírus, 341 amostras fecais obtidas de igual número de crianças menores de cinco anos, com diarreia aguda, atendidos em dois centros de saúde da cidade de Loja - Equador. Delas, 56 (16%) foram positivas para rotavírus, sendo genotipadas 33 amostras para a determinação de genótipos G e P. Os genótipos mais frequentes foram G4 (42%), P[6] (36%) e a combinação mista G4+9P[6] (21%). Este é o primeiro estudo de caráter molecular em rotavírus realizado no sul do Equador. Os dados obtidos ratificam a variabilidade de cepas de rotavírus circulantes neste país.

Palavras-chave: rotavírus * genótipos * Equador

Introducción

La Enfermedad Diarreica Aguda (EDA) es un serio problema de salud pública a nivel mundial y una causa importante de morbi-mortalidad infantil que tiene a Rotavirus del grupo A como uno de sus agentes etiológicos principales, que es responsable de aproximadamente 453.000 muertes anuales en niños menores de cinco años (1).

Rotavirus pertenece a la familia *Reoviridae* y su genoma está constituido por 11 segmentos de ARN bicatenario, el cual codifica 6 proteínas estructurales (VP1-VP4, VP6, VP7) y 6 no estructurales (NSP1-NSP6) (2). Su caracterización se basa en la identificación de VP7 y VP4, las que desempeñan un papel clave en la inmunidad del huésped. Actualmente se han reportado para humanos 12 tipos de VP7 o genotipos G y 15 tipos VP4 o genotipos P (3), cuyas combinaciones más comunes a nivel mundial son G1P[8], G3P[8], G4P[8], G9P[8], G2P[4] y G9P[6], siendo habitual encontrar cepas inusuales e infecciones mixtas en América del Sur (4).

En la región sur de Ecuador los estudios epidemiológicos y moleculares relacionados a infecciones por RV son muy escasos. Por lo anterior, el objetivo de este trabajo fue caracterizar los genotipos y patrones electroforéticos de RV circulantes en niños menores de cinco años con diagnóstico de EDA residentes en la ciudad de Loja - Ecuador (3°59' Lat S; 79°12' Long O).

Materiales y Métodos

Fueron estudiadas, para la búsqueda de rotavirus, 341 muestras fecales obtenidas de niños menores de cinco años con diarreia aguda. Las muestras fueron recolectadas en el Hospital Regional Isidro Ayora (HRIA) y la Clínica Municipal "Julia Esther Gonzáles Delgado" (CMJEGD) durante un período de cuatro meses, contando con la aprobación del Comité de Ética de la Universidad Técnica Particular de Loja y con el consentimiento informado de los padres de los pacientes.

El tamizaje de las muestras positivas para RV se realizó utilizando el *test* Spin-Rotavirus (SPINREACT, Girona, España) y la detección de genotipos G y P fue reali-

zada utilizando la prueba de reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa (RT-PCR) descrita por Bourdett-Stanziola *et al.* para estudios de RV en laboratorios de Centroamérica (5). Adicionalmente se aplicó la técnica de electroforesis en gel de poliacrilamida para establecer los patrones electroforéticos en las muestras positivas para RV (6).

Resultados

La utilización del *test* Spin-Rotavirus permitió establecer que de los 341 casos estudiados, 56 (16,4%) fueron positivos para rotavirus, de los cuales solamente 2 (3,6%) recibieron vacuna previa según la encuesta realizada. Al considerar el rango etario, 31 (55,4%) correspondieron a niños menores de 18 meses y 25 (44,6%) a mayores de 18 meses. De ellos, 33 (58,9%) fueron seleccionados al azar para genotipificar y determinar los patrones electroforéticos. En la genotipificación para G predominaron los genotipos G4 (42%), G(mix) [G1+4, G1+4+9 o G4+9] (39%) y G9 (12%) siendo el de menor frecuencia el genotipo G1 (3%). Y para P se encontraron 2 genotipos: P[6] (36%) y P[4] (6%), siempre combinados con genotipos G (Tabla I). El patrón electroforético largo se evidenció en el 97% de las muestras y el patrón electroforético corto en el 3% (Fig. 1).

Discusión y Conclusiones

La frecuencia de RV encontrada (16%) fue más baja que la reportada en otros países latinoamericanos como Guatemala (52,3%), Paraguay (43,1%), Bolivia (40,4%), Panamá (31%), Costa Rica (53%) o Chile (22%) (5) (7) (8).

En estudios realizados en Ecuador, entre los años 2003 y 2012, la frecuencia de RV fluctuó entre el 7,7% y el 43% (3) (9-13) destacándose que en la región sur de Ecuador se registró una prevalencia del 22% (14). El menor porcentaje (16%) reportado en este estudio puede ser considerado una disminución atribuible a la implementación en el Ecuador del programa universal de inclusión de vacunas de la Organización Mundial de

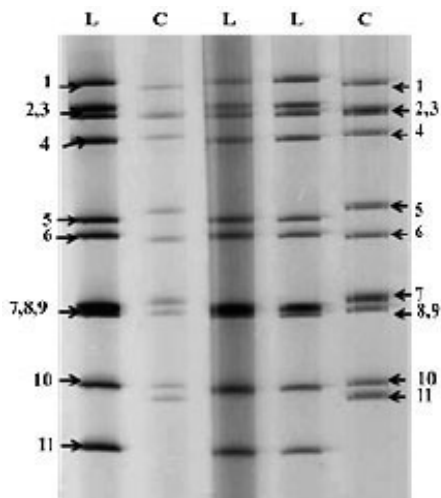
Tabla I. Genotipos G y P encontrados en niños menores de cinco años en Loja - Ecuador.

Genotipos	P [4]	P [6]	P [nt] ^{***}	Total
G1			3% (1/33)	3 % (1/33)
G4	6% (2/33)	6% (2/33)	30% (10/33)	42% (14/33)
G9		3% (1/33)	9% (3/33)	12% (4/33)
G(mix) [*]		27% (9/33)	12% (4/33)	39% (13/33)
G(nt) ^{**}			3% (1/33)	3% (1/33)
Total	6% (2/33)	36% (12/33)	57% (19/33)	99% (33/33)

* Genotipos Mixtos: G1+4, G1+4+9 o G4+9;

** Genotipos G no tipificables;

*** Genotipos P no tipificables.



L: electroferotipo largo; C: electroferotipo corto

Figura 1. Electroferotipos de rotavirus en niños menores de cinco años en Loja - Ecuador.

la Salud desde el año 2007, con la aplicación de la vacuna monovalente Rotarix[®] (Glaxo SmithKline) (7).

Con respecto a la mayor circulación del genotipo G4, similares resultados se reportan para Uruguay, Nicaragua, Costa Rica, Chile y otras regiones de Ecuador (11) (8), aunque difiere a lo informado por Naranjo *et al.* en el año 2008 para 10 provincias (Azúay, Cotopaxi, Chimborazo, Imbabura, Pichincha, Guayas, Manabí, Esmeraldas, Napo y Pastaza) de nuestro país (13).

Con relación al genotipo P[6], se ha observado que en Ecuador existe una tendencia al aumento de la prevalencia de este genotipo (11) (13), fenómeno que

debe ser monitoreado en el futuro para establecer el comportamiento epidemiológico de este genotipo.

El genotipo G1 fue uno de los genotipos de menor frecuencia (3%) aunque éste se presenta con mayor frecuencia en otros países en vías de desarrollo como Burkina Faso por ejemplo (23%) (15).

El genotipo G9 también presentó una baja incidencia en este estudio (9%), lo que difiere con lo reportado en otros países, incluido también el Ecuador, donde su frecuencia ha presentado picos altos en distintos períodos de tiempo y lugar (6), lo que estaría relacionado con la inmunización conferida por las vacunas utilizadas por los programas de salud pública del Ecuador (7).

En cuanto a las combinaciones mixtas, el genotipo G4+9P[6] presentó la mayor frecuencia (21%) en este estudio. Este genotipo fue reportado previamente en Ecuador por Hasing *et al.* (11). Otras combinaciones mixtas que se presentaron con menor frecuencia en este estudio fueron G1+4P[6] 3%, G1+4+9P[6] 3%, G4+9P[nt] (12%), sin haber encontrado reportes de estos genotipos en otras regiones de Ecuador.

Es importante indicar que no se encontraron genotipos para G10, P[8], P[9] y P[10], aunque se usaron los *primers* específicos para estos genotipos. A pesar de no haber encontrado la combinación P[8]G9 en este estudio, este genotipo resulta ser el de mayor incidencia registrado en Ecuador (10) (13).

En cuanto a los patrones electroforéticos obtenidos por PAGE, en este estudio el patrón electroforético largo fue encontrado en el 97% de los casos y el patrón electroforético corto, en un 3%. En América del Sur ya se había reportado previamente el predominio del patrón electroforético largo 80% por sobre el patrón electroforético corto 18% (16).

Los resultados obtenidos permiten concluir que RV continúa siendo un agente causal de EDA en niños menores de cinco años en la región sur de Ecuador, aunque se estima que su prevalencia ha ido disminuyendo con la implementación del programa de inmunización del Ministerio de Salud Pública de Ecuador. Este es el primer estudio de carácter molecular en rotavirus realizado en el sur de Ecuador y la presencia de los genotipos G4, P[6] y G4+9P[6] vienen a ratificar la variabilidad de cepas de rotavirus circulantes en este país.

AGRADECIMIENTOS

A la Red CYTED 206RT0289 por auspiciar la capacitación de la primera autora en las técnicas moleculares empleadas. A los directivos y personal del HRIA y CMJEGD, por las facilidades prestadas. A la Dra. Natalia Bailón, Dr. Juan Pablo Suárez, Bq. Andrea González y Bq. Doris Macas, por su cooperación en esta investigación.

Financiamiento: Departamento de Ciencias de la Salud, Universidad Técnica Particular de Loja.

CORRESPONDENCIA

ROSA JANNETH SIMALUIZA-MASABANDA
 Universidad Técnica Particular de Loja,
 Departamento Ciencias de la Salud,
 San Cayetano Alto s/n.
 LOJA, Ecuador
E-mail: rjsimaluiza1@utpl.edu.ec

Referencias bibliográficas

1. Cevallos-Solórzano G, Torres-Bailón P. Identificación del patrón electroforético de rotavirus en niños menores de cinco años en el Hospital Regional «Isidro Ayora» de la ciudad de Loja, durante el período julio - octubre 2005. [dissertation]. Loja (Ecuador): Universidad Técnica Particular de Loja; 2005.
2. Hasing ME, Trueba G, Baquero MI, Ponce K, Cevallos W, Solberg OD, *et al.* Rapid changes in rotaviral genotypes in Ecuador. *J Med Virol* 2009; 81: 2109-13.
3. Tate JE, Burton AH, Boschi-Pinto C, Steele AD, Duque J, Parashar UD, *et al.* 2008 estimate of worldwide rotavirus-associated mortality in children younger than 5 years before the introduction of universal rotavirus vaccination programmes: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect Dis* 2012; 12: 136-41.
4. Kane EM, Turcios RM, Arvay ML, García S, Bresee JS, Glass RI. The epidemiology of rotavirus diarrhea in Latin America anticipating rotavirus vaccine. *Rev Panam Salud Pública* 2004; 16: 371-7.
5. González R, Rivero L. Diversidad genotípica de rotavirus grupo A: correlación entre el tipo G3 y severidad de la infección. Valencia, Venezuela. *Invest Clin* 2013; 54: 34-56.
6. Nordgren J, Nitiema LW, Sharma S, Ouermi D, Traore A, Simporé J, *et al.* Emergence of unusual G6P[6] Rotaviruses in children, Burkina Faso, 2009-2010. *Emerg Infect Dis* 2012; 18: 589-97.
7. Todd D, McNulty MS, Allan GM. The use of polyacrylamide gel electrophoresis of virus RNA in the study of rotavirus infections. En: McNulty MS, McFerran JB, editors. *Recent Advances in Virus Diagnosis*. Brussels-Luxemburg: Martinus Nijhofs Publishers; 1984. p. 125-35.
8. Bhavnani D, Goldstick JE, Cevallos W, Trueba G, Eisenberg JNS. Synergistic effects between rotavirus and coinfecting pathogens on diarrheal disease: evidence from a community-based study in northwestern Ecuador. *Am J Epidemiol* 2012; 176: 387-95.
9. Mattion NM, Cohen J, Aponte C, Estes MK. Characterization of an oligomerization domain and RNA-binding properties on rotavirus nonstructural protein NS34. *Virology* 1992; 190: 68-83.
10. De Oliveira LH, Danovaro-Holliday MC, Cuauhtemoc RM, Andrus JK. Rotavirus vaccine introduction in the Americas: progress and lessons learned. *Expert Rev Vaccines* 2008; 7: 345-53.
11. Bányai K, Esona MD, Kerin TK, Hull JJ, Mijatovic S, Vascónes N *et al.* Molecular characterization of a rare, human-porcine reassortant rotavirus strain, G11P[6], from Ecuador. *Arch Virol* 2009; 154: 1823-9.
12. Endara P, Trueba G, Solberg OD, Bates SJ, Ponce K, Cevallos W, *et al.* Symptomatic and subclinical infection with rotavirus P[8]G9, rural Ecuador. *Emerg Infect Dis* 2007; 13: 574-80.
13. Lopman B, Vicuña Y, Salazar F, Broncano N, Esona MD, Sandoval C, *et al.* Household transmission of rotavirus in a community with rotavirus vaccination in Quinde, Ecuador. *PLoS One* 2013; 8: e67763.
14. Bourdett-Stanziola L, Jiménez C, Ortega-Barria E. Diversity of human rotavirus G and P genotypes in Panama, Costa Rica, and the Dominican Republic. *Am J Trop Med Hyg* 2008; 79: 921-4.
15. Naranjo A, Cedeño C, Teran E, Castello A, Cacero RT. Prevalence of VP4 and VP7 genotypes of human rotavirus in Ecuadorian children with acute diarrhea. *J Med Virol* 2008; 80: 1106-11.
16. Urbina D, Rodríguez JG, Arzuza O, Parra E, Young G, Castro R, *et al.* G and P genotypes of rotavirus circulating among children with diarrhea in the Colombian northern coast. *Int Microbiol* 2004; 7: 113-20.

Recibido: 17 de diciembre de 2015

Aceptado: 24 de junio de 2016