

ORIGINAL

Gastroenteritis agudas y virus entéricos: impacto de la detección de norovirus



Oihana Martínez Azcona^{a,*}, Lorena Vázquez Gómez^a, Paula Buyo Sánchez^a, Raquel Díaz Soto^a y Luz María Moldes Suárez^b

^a Servicio de Pediatría, Complejo Hospitalario Universitario de A Coruña (CHUAC), Sergas, A Coruña, España

^b Servicio de Microbiología, Complejo Hospitalario Universitario de A Coruña (CHUAC), Sergas, A Coruña, España

Recibido el 14 de junio de 2016; aceptado el 10 de agosto de 2016

Disponible en Internet el 27 de octubre de 2016

PALABRAS CLAVE

Gastroenteritis;
Virus;
Norovirus;
Rotavirus;
Adenovirus;
Coinfección

Resumen

Introducción: El norovirus es el segundo agente causal de las gastroenteritis agudas víricas en niños después del rotavirus. Su prevalencia está subestimada debido a que no se realiza habitualmente un diagnóstico específico. El estudio de los diagnósticos microbiológicos, realizados antes y después de la fecha de implantación de un test de detección de un microorganismo concreto, permite estimar el porcentaje de casos no diagnosticados con anterioridad (por la no implantación) y los que se dejarían de diagnosticar en caso de su supresión. En este artículo estudiamos la epidemiología de las gastroenteritis agudas por virus antes y después de la implantación del test CerTest Norovirus GI+GII.

Material y métodos: Estudio observacional de cohortes retrospectivo realizado en pacientes menores de 15 años con gastroenteritis aguda desde enero de 2013 hasta abril de 2015. Se dividió la muestra en 2 grupos; en el primero la búsqueda se limitó a adenovirus y rotavirus y en el segundo la determinación de norovirus se incorporó al diagnóstico sistemático. Se incluyó a 604 pacientes, 313 en el primer grupo y 291 en el segundo.

Resultados: Las características demográficas fueron similares en ambos grupos. Se identificaron 58/313 (18,5%) virus entéricos en el primer grupo y 97/291 (33,3%) en el segundo. Del segundo grupo 31 muestras fueron positivas para norovirus, siendo 12 (4,1%) positivas exclusivamente para norovirus. No se encontraron diferencias significativas en las características clínicas de los virus intestinales.

Conclusiones: Se observó un aumento real del 4,1% en el porcentaje de casos con agente etiológico identificado al implementar la técnica diagnóstica CerTest Norovirus GI+GII. El rotavirus sigue siendo la causa más frecuente de gastroenteritis aguda en nuestro medio, seguido de cerca por el norovirus.

© 2016 Asociación Española de Pediatría. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Todos los derechos reservados.

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: oihana.martinez.azcona@sergas.es (O. Martínez Azcona).

KEYWORDS

Gastroenteritis;
Viruses;
Norovirus;
Rotavirus;
Adenovirus;
Co-infection

Acute gastroenteritis and enteric viruses: Impact on the detection of norovirus**Abstract**

Introduction: Norovirus is the second cause of acute viral gastroenteritis in infants after rotavirus. However, its prevalence is underestimated because a specific diagnosis is not usually performed. The comparative study of microbiological diagnostics, performed before and after the implementation date of a test for detecting a particular microorganism, allows the estimation of the percentage of cases not properly diagnosed earlier (for non-implementation of the test) and those that would be left to diagnose if the test is removed. In this paper we study the epidemiology of acute gastroenteritis virus before and after the implantation of the Norovirus GI+GII CerTest.

Material and methods: An observational retrospective cohort study was conducted on patients under 15 years old with acute gastroenteritis, from January 2013 to April 2015. The sample was divided into two groups. In the first group, the search was limited to adenovirus and rotavirus, and in the second one, the determination of norovirus became part of the systematic diagnosis. The study included 604 patients, 313 in the first group and 291 in the second one.

Results: Demographic characteristics were similar in both groups. In the first group, 58/313 (18.5%) enteric viruses were identified and in the second group, 97/291 (33.3%). In the second group, 31 positive cases for norovirus were identified, but only 12 (4.1%) of them were positive exclusively for this virus. No significant differences were found in clinical features of intestinal viruses.

Conclusions: An actual increase of 4.1% was observed in the cases with an identified aetiological agent after implementing the Norovirus GI+GII CerTest diagnostic technique. The most common cause of acute gastroenteritis is rotavirus, closely followed by norovirus.

© 2016 Asociación Española de Pediatría. Published by Elsevier España, S.L.U. All rights reserved.

Introducción

Las infecciones gastrointestinales son la segunda enfermedad infecciosa más común en la población pediátrica, a pesar de las mejoras en las infraestructuras de salud pública en las últimas décadas¹.

La OMS define la gastroenteritis aguda (GEA) como la disminución en la consistencia de las deposiciones o un aumento en el número de las mismas (3 o más en 24 h), con o sin fiebre o vómitos de menos de 2 semanas de duración. En el lactante la disminución de la consistencia respecto a las heces previas es más indicativo de diarrea². Constituye la segunda causa más importante de mortalidad en niños menores de 5 años³. La incidencia en Europa en niños sanos es aproximadamente de 0,5-2 episodios/año en menores de 3 años². En países subdesarrollados esta cifra asciende a 6 episodios al año⁴. Asimismo, conlleva una gran carga asistencial⁵.

En cuanto a las gastroenteritis víricas, existen 4 agentes etiológicos principales: rotavirus, adenovirus, norovirus y astrovirus⁶. El rotavirus es la principal causa de GEA en la infancia, siendo causa de más de medio millón de muertes anuales y más de 2 millones de hospitalizaciones en todo el mundo^{2,7}. Sin embargo, en los países con alta cobertura vacunal para el rotavirus el norovirus se está convirtiendo en la primera causa de gastroenteritis^{2,8,9}.

El norovirus es un agente etiológico emergente cuya prevalencia está subestimada debido a que no se realiza habitualmente un diagnóstico específico. El estudio de los diagnósticos microbiológicos, realizados antes y después de

la fecha de implantación de un test de detección de un microorganismo concreto, permite estimar el porcentaje de casos no diagnosticados apropiadamente con anterioridad (por la no implantación) y los que se dejarían de diagnosticar en caso de su supresión, reduciéndose con ello el porcentaje de gastroenteritis agudas idiopáticas. Esto es particularmente relevante en el caso del norovirus ya que, en la actualidad, se está desarrollando una vacuna para el mismo¹⁰.

En este artículo estudiamos la epidemiología de las gastroenteritis agudas por virus antes y después de la implantación del test CerTest Norovirus GI+GII, lo que permitirá hacer las comparaciones mencionadas.

Material y métodos

Estudio observacional de cohortes retrospectivo realizado en un hospital de tercer nivel y los centros de salud del área sanitaria asociada, en pacientes menores de 15 años con GEA. El periodo de reclutamiento se extendió desde enero de 2013 hasta abril de 2015.

El método de detección de virus sufrió cambios a lo largo del tiempo analizado debido a la aparición de nuevas técnicas y reactivos en el mercado. Se dividió la muestra en 2 grupos. En el primero, la búsqueda se limitó a adenovirus y rotavirus. En el segundo grupo (a partir de abril de 2014, salvo para muestras en las que el reactivo fue insuficiente), la determinación de norovirus se incorporó al diagnóstico sistemático. La detección de rotavirus y

adenovirus se realizó mediante el CerTest *Rotavirus-Adenovirus* (CerTest BIOTEC)¹¹ y la técnica utilizada para la detección de norovirus fue el CerTest *Norovirus GI+GII* combo card (CerTest BIOTEC).

La recogida de datos se realizó mediante la revisión de las historias clínicas digitales de los pacientes que consultaron por GEA en los centros de atención primaria y el servicio de urgencias, así como los pacientes ingresados en planta de hospitalización, a los que se les recogió muestra de heces para estudio de virus intestinales (adenovirus, rotavirus y/o norovirus). Se excluyeron aquellos pacientes a los que se les solicitó muestra de heces por otros motivos de consulta diferentes a GEA (dolor abdominal, rectorragia, sospecha de alergia a las proteínas de leche de vaca, etc.). Tampoco se incluyeron las muestras de control recogidas tras la resolución del cuadro, ni aquellos a los que se les solicitó estudio fecal sin constar en la historia clínica la sintomatología presentada.

Se estudiaron 604 muestras, el tamaño mínimo necesario para detectar como significativas diferencias de magnitud de un 10% en la detección de virus gastrointestinales, suponiendo un 20% en muestras detectadas con 2 técnicas y un 30% de positivos detectados con las 3 técnicas, con un nivel de confianza del 95% y una potencia del 80% sería de 586 muestras (293 por grupo).

Se realizó un análisis descriptivo de todas las variables incluidas en el estudio, expresando las variables cuantitativas como media \pm desviación típica, mediana y rango; las variables cualitativas como valor absoluto, porcentaje e intervalo de confianza del 95%. Se estudió la asociación de variables cualitativas con el test Chi-cuadrado o el test de Fisher. Se realizó la comparación de medias con el test de U de Mann-Whitney o Kruskal-Wallis según fuesen 2 o más grupos, tras comprobar la normalidad con el test de Kolmogórov-Smirnov. El análisis estadístico se realizó con el programa SPSS 19.0. Se consideraron estadísticamente significativos los valores de p menores a 0,05. El protocolo de estudio fue aprobado por el comité ético de investigación clínica de referencia.

Resultados

Se incluyeron 604 muestras de pacientes que se dividieron en 2 grupos. En el primero de ellos se realizó la técnica diagnóstica para rotavirus y adenovirus, incluyéndose 313 (51,8%, IC 95%: 47,7-55,8%) muestras, mientras que en el segundo grupo (291 muestras (48,2%, IC 95%: 44,1-52,2) se llevó a cabo la técnica para detección de rotavirus, adenovirus y norovirus, siendo ambos grupos comparables tal y como se resume en la [tabla 1](#) (tabla de comparación de ambos grupos).

En relación con las muestras pertenecientes al primer grupo, 50 fueron positivas para rotavirus (16,0, IC 95%: 11,8-20,2) y 8 positivas para adenovirus (2,6%, IC 95%: 0,6-4,4). De estas muestras positivas para adenovirus o rotavirus, 3 (1,0%, IC del 95%, 0,2-2,8) fueron positivas para ambos virus. Respecto al segundo grupo en 33 muestras se detectó rotavirus (11,3%, IC 95%: 7,5-15,1); en 33 adenovirus (11,3%, IC 95%: 7,5-15,1) y en 31 norovirus (10,7%, IC 95%: 7,0-14,4). De todos estos casos positivos 19 (2,7%, IC 95%: 0,7-4,8) fueron positivos para más de un virus. En total se identificaron 58/313 (18,5%, IC 95%: 14,1-23,0) virus entéricos en el primer grupo y 97/291 (33,3%, IC 95%: 27,7-38,9) en el segundo. En la [tabla 2](#) se describen las características de las muestras positivas para cada uno de los virus (rotavirus, adenovirus y norovirus), recogen los datos de los casos positivos solo para dicho virus.

Se objetivó un predominio de GEA con positividad para virus en heces en los primeros meses del año (entre enero y abril) con un repunte en otoño (octubre y noviembre). En la [figura 1](#) se recogen las variaciones a lo largo del año según los diferentes virus.

En relación con las muestras con positividad para norovirus, 8 de ellas (25,8%, IC 95%: 8,8-42,8) fueron además positivas para adenovirus, 3 (9,7%, IC 95%: 2,0-25,7) para rotavirus y 8 (25,8%, IC 95%: 8,8-42,8) para los 3 virus. Solo 12 muestras (4,1% del total de pacientes estudiados en el segundo periodo, IC 95%: 1,7-6,6) fueron positivas exclusivamente para norovirus. Respecto al genotipo de dicho germen, en 24 casos (77,4%, IC 95%: 61,1-93,8) fue el

Tabla 1 Características demográficas de ambos grupos

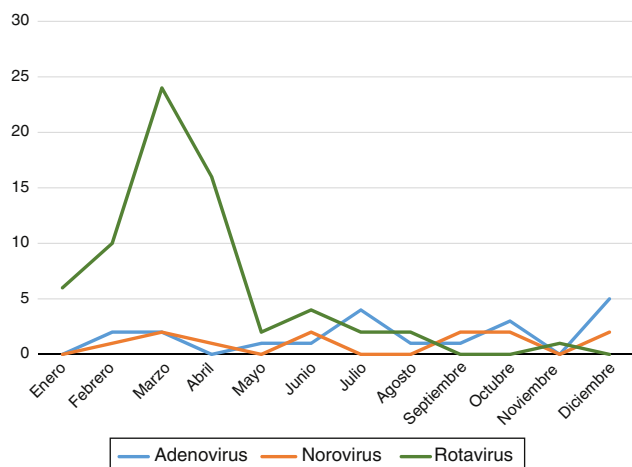
Variable	Identificación A + R (51,8) n = 313	Identificación A + R + N (48,2) n = 291	Total n = 604	Valor de p
Edad				
Media \pm DE	31,8 \pm 36,2	31,2 \pm 40,2	31,5 \pm 38,2	0,322
Mediana (RIQ)	18,7 (0,3-161,5)	16,3 (0,6-203,1)	17,1 (0,3-203)	
Varón, n (%)	191 (61)	174 (59,8)	365 (60)	0,758
Cultivo bacteriano positivo	76/303 (25,1%)	58/282 (20,6%)	134/585 (22,9%)	0,194
Vacunados	45 (14,4%)	59 (20,3%)	104 (17,2)	0,057
Ingresados por GEA	25 (8%)	18% (6,2%)	43 (7,1%)	0,251
Procedencia de la muestra				
Urgencias	45 (14,4%)	45 (15,5%)	90 (14,9%)	0,97
Primaria	187 (59,7%)	192 (66,0%)	379 (62,7%)	
Ingresados	81 (25,9%)	54 (18,6%)	135 (22,0%)	

A: adenovirus; DE: desviación estándar; GEA: gastroenteritis aguda; N: norovirus; R: rotavirus; RIQ: rango intercuartílico.

Tabla 2 Características clínicas de los virus intestinales

Variable	Rotavirus n = 67 (67,7%)	Adenovirus n = 20 (20,2%)	Norovirus n = 12 (12,1%)	Valor de p
<i>Edad (meses)</i>				
Media ± DE	25,1 ± 31,7	20,1 ± 35,9	14,7 ± 31,7	0,223
Mediana (RIQ)	13,3 (0,62-165,8)	9,1 (0,79-158,7)	7,19 (1,2-57,5)	
Estancia media ingresados por GEA (días)	28 ± 17	4 ± 22	4 ± 20,5	0,785
<i>Clínica</i>				
Vómitos	38 (56,7%)	8 (40%)	4 (33,3)	0,189
Fiebre	25 (37,3)	8 (40%)	5 (41,7)	0,947
Ingreso por GEA	18 (26,9%)	1 (5%)	2 (16,7%)	0,322
Cultivo bacteriano positivo	6 (9,0%)	0 (0,0%)	1 (9,1%)	0,380

DE: desviación estándar; GEA: gastroenteritis aguda; RIQ: rango intercuartílico.

**Figura 1** Variaciones a lo largo del año según el tipo de virus.

genotipo 1, sin detectarse ningún genotipo 2 exclusivo. En 4 muestras (12,9%, IC 95%: 3,6-29,8) la técnica resultó positiva para los genotipos 1 y 2.

Discusión

Las gastroenteritis agudas son una de las causas más importantes de mortalidad en niños menores de 5 años³, siendo actualmente la etiología vírica la más importante. El porcentaje de gastroenteritis agudas idiopáticas sigue siendo muy elevado, y solo la identificación del agente etiológico permite reducirlo. En este artículo determinamos el porcentaje de gastroenteritis agudas que la introducción de la técnica *CerTest Norovirus GI+GII* en el diagnóstico microbiológico de las GEA permitió identificar al norovirus como tal agente causante.

Los datos mostraron un aumento real del 4,1% en el porcentaje de muestras con diagnóstico microbiológico en el segundo grupo, que corresponden a los 12 casos positivos exclusivamente para norovirus.

En nuestro medio el rotavirus continúa siendo la causa más frecuente de GEA^{2,7}. Sin embargo, el norovirus adquiere cada vez más importancia, siendo el segundo agente etiológico más frecuente². Los datos del norovirus de nuestro estudio fueron similares a los de otros autores^{6,12,13}, tal y

Tabla 3 Porcentajes de norovirus obtenidos por otros autores, referidos a otras localizaciones

Porcentaje de norovirus	Región bibliográfica	Referencia
10,6	A Coruña	Martínez Azcona O, et al.
8,6	Asturias	Boga et al. ¹⁴
8,2	Albacete	Junquera et al. ¹⁵
8,3	París	Lorrot et al. ⁶
10,4	China	Sai et al. ¹⁶
16,1	Paquistán	Alam et al. ¹⁷
33,3	Cataluña	Torner ¹⁸
36,5	Brasil	Monteiro et al. ¹⁹
12	Revisión USA	Patel et al. ²⁰

como se describe en la [tabla 3](#). Solamente en 2 casos se observaron porcentajes de norovirus más elevados^{18,19}. Patel et al.²⁰ realizaron una revisión sistemática de los estudios publicados con anterioridad a 2008, en la que las infecciones debidas a norovirus alcanzaron el 12% de los casos severos, datos concordantes con los aquí presentados.

Respecto a la distribución de genotipos de norovirus, el predominante fue el GI, siendo responsable del 77,4% del total de las muestras positivas. No se detectaron cepas pertenecientes al GII, pero sí infección mixta en un 12,9%. Estos resultados contrastan con los publicados por Lorrot et al.⁶ quienes observaron un predominio claro del genogrupo II, especialmente del genotipo GGII.4, siendo el segundo en importancia el genotipo GGII.b. Buesa et al.²¹ describieron el GGII.4 como el genotipo de norovirus más prevalente en casos esporádicos de gastroenteritis en la edad pediátrica. En esa misma línea se enmarcaron los resultados de Kirkwood et al.²² y de Boga et al.¹⁴. Sai et al.¹⁶ también concluyeron que el genotipo más abundante fue el GII.4, además de GII.3, GII.4 y GII.6. Toda esta diversidad genómica de los norovirus se revisó en el artículo publicado por Hoehne y Schreier²³.

La distribución de los casos positivos para norovirus fue similar a lo largo del año. Sin embargo, el relativamente bajo número de casos (= 12) exclusivamente positivos para norovirus, impidió un análisis estadístico fiable. Lorrot et al.⁶ observaron estacionalidad para el norovirus, con un máximo principal en enero y otro menor en septiembre, lo cual fue concomitante con la del rotavirus, mucho más acusada. En

cambio, Sai et al.¹⁶ describieron la máxima incidencia de norovirus en el periodo septiembre-noviembre y la incidencia máxima del rotavirus como desplazada hacia la época más fría de noviembre-enero.

En nuestro estudio se encontró un papel importante del norovirus como agente coinfectante, con predominio de coinfección entre norovirus y adenovirus (25,8%) y entre los 3 virus estudiados (rotavirus, adenovirus y norovirus) en otro 25,8% de los casos. Asimismo, en un 9,7% se detectó positividad para rotavirus y norovirus. Estos datos coincidieron con publicaciones previas¹¹, aunque en nuestro estudio el porcentaje resultó más elevado (61,3%). En la bibliografía revisada Li et al.²⁴ describen una asociación positiva por un lado entre rotavirus y adenovirus, y por otro entre norovirus GII y Salmonella.

En conclusión, se observó un aumento en el porcentaje de casos con agente etiológico identificado tras implementar la técnica diagnóstica CerTest Norovirus GI+GII.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Agradecimientos

María Teresa Seoane Pillado, técnico estadístico de la Unidad de Epidemiología Clínica y Bioestadística del Complejo Hospitalario Universitario de A Coruña.

Amparo Otero Fernández, administrativa de ensayos clínicos de la Unidad de Investigación Clínica y Ensayos Clínicos de A Coruña.

José Vázquez Tato, profesor de química en la Universidad de Santiago de Compostela.

Bibliografía

- Ahmed SM, Hall AJ, Robinson AE, Verhoef L, Premkumar P, Parashar UD, et al. Global prevalence of norovirus in cases of gastroenteritis: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect Dis*. 2014;14:725–30.
- Guarino A, Ashkenazi S, Gendrel D, Lo Vecchio A, Shamir R, Szajewska H. European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition/European Society for Pediatric Infectious Diseases. Evidence-based guidelines for the management of acute gastroenteritis in children in Europe: Update 2014. *JPGN*. 2014;59:132–52.
- Boschi-Pinto C, Velebit L, Shibuya K. Estimating child mortality due to diarrhoea in developing countries. *Bull World Health Org*. 2008;86:710.
- Kosek M, Bern C, Guerrant RL. The global burden of diarrhoeal disease, as estimated from studies published between 1992 and 2000. *Bull World Health Org*. 2003;81:197–204.
- King CK, Glass R, Bresee JS, Duggan C. Managing acute gastroenteritis among children: Oral rehydration, maintenance, and nutritional therapy. *MMWR Recomm Rep*. 2003;52(RR-16):1–16.
- Lorrot M, Bon F, El Hajje MJ, Aho S, Wolfer M, Giraudon H, et al. Epidemiology and clinical features of gastroenteritis in hospitalised children: Prospective survey during a 2-year period in a Parisian hospital, France. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2011;30:361–8.
- Parashar UD, Hummelman EG, Bresee JS, Miller MA, Glass RI. Global illness and deaths caused by rotavirus disease in children. *Emerg Infect Dis*. 2003;9:565–72.
- Payne DC, Vinjé J, Szilagyi PG, Edwards KM, Staat MA, Weinberg GA, et al. Norovirus and medically attended gastroenteritis in U.S. children. *N Engl J Med*. 2013;368:1121–30.
- Hemming M, Räsänen S, Huhti L, Paloniemi M, Salminen M, Vesikari T. Major reduction of rotavirus, but not norovirus, gastroenteritis in children seen in hospital after the introduction of RotaTeq vaccine into the National Immunization Programme in Finland. *Eur J Pediatr*. 2013;172:739–46.
- Baehner F, Bogaerts H, Goodwin R. Vaccines against norovirus: State of the art trials in children and adults. *Clin Microbiol Infect*. 2016, pii: S1198-743X(16)00015-X. doi: 10.1016/j.cmi.2015.12.023. [Epub ahead of print].
- Pai CH, Shahrabadi MS, Ince B. Rapid diagnosis of rotavirus gastroenteritis by a commercial latex agglutination test. *Journal Clin Microbiol*. 1985;22:846–50.
- Chhabra P, Payne DC, Szilagyi PG, Edwards KM, Staat MA, Shirley SH, et al. Etiology of viral gastroenteritis in children < 5 years of age in the United States, 2008–2009. *JID*. 2013;208: 790–800.
- Dalton RM, Roman ER, Negrodo AA, Wilhelmi ID, Glass RI, Sánchez-Fauquier A. Astrovirus acute gastroenteritis among children in Madrid, Spain. *Pediatr Infect Dis J*. 2002;21:1038–41.
- Boga JA, Melón S, Nicieza I, de Diego I, Villar M, Parra F, et al. Etiology of sporadic cases of pediatric acute gastroenteritis in Asturias, Spain, and genotyping and characterization of norovirus strains involved. *J Clin Microbiol*. 2004;42:2668–74.
- Junquera CG, de Baranda CS, Mialdea OG, Serrano EB, Sanchez-Fauquier A. Prevalence and clinical characteristics of norovirus gastroenteritis among hospitalized children in Spain. *Pediatr Infect Dis J*. 2009;28:604–7.
- Sai L, Sun J, Shao L, Chen S, Liu H, Ma L. Epidemiology and clinical features of rotavirus and norovirus infection among children in Jinan, China. *Virol J*. 2013;85:737–44.
- Alam A, Qureshi SA, Vinjé J, Zaidi A. Genetic Characterization of Norovirus Strains in Hospitalized Children From Pakistan. *J Med Virol*. 2016;88:216–23.
- Torner N. Estudio clínico-epidemiológico de los brotes de gastroenteritis víricas en Cataluña. *Rev Esp Salud Pública*. 2009;83:659–67.
- Monteiro JA, da Costa A, Nascimento TC, Cruz G, de Souza D, Cordeiro M, et al. Norovirus infection in children admitted to hospital for acute gastroenteritis in Belém, Pará, Northern Brazil. *J Med Virol*. 2013;85:737–44.
- Patel M, Widdowson MA, Glass RI, Akazawa K, Vinjé J, Parashar UD. Systematic literature review of role of noroviruses in sporadic gastroenteritis. *Emerg Infect Dis*. 2008;14:1224–31.
- Buesa J, Collado B, López-Andújar P, Abu-Mallouh R, Rodríguez J, García A, et al. Molecular epidemiology of caliciviruses causing outbreaks and sporadic cases of acute gastroenteritis in Spain. *Journal Med Microbiol*. 2002;40:2854–9.
- Kirkwood CD, Clark R, Bogdanovic-Sakran N, Bishop RF. A 5-year study of the prevalence and genetic diversity of human caliciviruses associated with sporadic cases of acute gastroenteritis in young children admitted to hospital in Melbourne, Australia (1998–2002). *J Med Virol*. 2005;77:96–101.
- Hoehne M, Schreier E. Detection of norovirus genogroup I and II by multiplex real-time RT-PCR using a 3'-minor groove binder-DNA probe. *BMC Infect Dis*. 2006;6:69.
- Li LL, Liu N, Humphries EM, Yu JM, Li S, Lindsay BR, et al. Aetiology of diarrhoeal disease and evaluation of viral-bacterial coinfection in children under 5 years old in China: A matched case-control study. *Clinical Microbiology and Infection*. 2016;22:381e9–16.