

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA**



**FRECUENCIA DE INFECCION POR ASTROVIRUS EN NIÑOS CON
DIARREA QUE ASISTEN AL HOSPITAL PEDIATRICO JUAN PABLO II**

EVELYN PATRICIA DE MATA MEDRANO

Química Bióloga

Guatemala, noviembre de 2012

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA**



**FRECUENCIA DE INFECCION POR ASTROVIRUS EN NIÑOS CON
DIARREA QUE ASISTEN AL HOSPITAL PEDIATRICO JUAN PABLO II**

Informe de Tesis

Presentado por

EVELYN PATRICIA DE MATA MEDRANO

Para optar al título de

Química Bióloga

Guatemala, noviembre de 2012

JUNTA DIRECTIVA

Oscar Cóbar Pinto, Ph.D.	Decano
Lic. Pablo Ernesto Oliva Soto, M.A.	Secretario
Licda. Liliana Vides de Urizar	Vocal I
Dr. Sergio Alejandro Melgar Valladares	Vocal II
Lic. Luis Antonio Gálvez Sanchinelli	Vocal III
Br. Fausto René Beber García	Vocal IV
Br. Carlos Francisco Porras López	Vocal V

DEDICATORIA

A Dios a quien todo le debo, por haberme dado la sabiduría para vencer todos los obstáculos y así poder llegar a esta etapa final de mi carrera que tanto anhelaba.

A mis padres a quienes amo inmensamente, por todo su sacrificio para que yo lograra culminar esta fase y hoy les digo misión cumplida.

A mis hijos y esposo, por haberme apoyado en todo momento y aceptar los sacrificios que toda mi carrera les presentó y decirles valió la pena nuestro esfuerzo.

A mis hermanas y hermano, por sus muestras de cariño y por haberme alentado a ser cada día mejor.

AGRADECIMIENTOS

A la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, por haber sido mi centro de formación profesional.

A mis asesores: Licda. Denny Guarán y Licda. Mildred Alquijay

A mis revisores: Licda. María del Carmen Bran y Lic. Martín Gil

Muchas gracias a todos, por todo su tiempo y dedicación en este trabajo de tesis.

A el Hospital Infantil Juan Pablo II, por su colaboración en la realización de este trabajo de tesis.

ÍNDICE

I	Resumen	1
II	Introducción	3
III	Antecedentes	5
	A. Aspectos generales	5
	A. Perspectiva histórica	5
	B. Características biológicas de los astrovirus	6
	1. Hospedadores naturales	6
	2. Morfología, estructura y replicación	6
	3. Taxonomía, clasificación y patogénesis	7
	4. Serotipos	8
	1. Astrovirus humanos	8
	2. Astrovirus animales	9
	C. Aspectos clínicos de la infección	9
	1. Características clínicas de las infecciones en humanos	9
	2. Epidemiología	10
	3. Infecciones en inmunosuprimidos	12
	4. Infecciones nosocomiales	13
	5. Seroprevalencia	14
	6. Respuesta inmunitaria	14
	D. Diagnóstico	15
	A. Microscopía electrónica (ME)	15
	B. Inmunolectromicroscopía (IEM)	16
	C. Inmunoensayo (EIA)	16
	D. Inmunofluorescencia (IF)	17
	E. Ensayos moleculares	17
	E. Tratamiento y prevención	17
	F. Perspectivas de futuro para una vacuna	18
	G. Estudios realizados en Guatemala	19
IV	Justificación	20
V	Objetivos	21
	A. General	21
	B. Específicos	21
VI	Hipótesis	22
VII	Materiales y métodos	23
	• Diseño de estudio	23
	• Equipo	24
	• Materiales	24
	• Reactivos	24
	• Metodología	24
	A. Recolección de muestras	24
	B. Procesamiento de muestras	25
	C. Análisis estadístico	26
VIII	Resultados	27
IX	Discusión	30
X	Conclusiones	32

XI	Recomendaciones	33
XII	Referencias	34
XIII	Anexo I	41
	Anexo II	43
	Anexo III	44

I. RESUMEN

La infección por astrovirus ha sido considerada una causa importante de gastroenteritis viral en los niños. La incidencia de este virus se observa mayormente en países en vías de desarrollo, como lo es Guatemala.

Los objetivos de este estudio fueron determinar la frecuencia de positividad del antígeno de astrovirus en heces diarreicas de pacientes pediátricos de 0 a 5 años que acudieron al laboratorio clínico del Hospital Infantil Juan Pablo II, así como relacionar esta frecuencia con distintas variables (edad, el género), y detectar infecciones mixtas en los casos positivos de astrovirus.

El estudio realizado fue de tipo descriptivo, transversal. El muestreo se realizó durante los meses de junio a agosto del año 2011. El número de muestra analizado por conveniencia fue de 100 pacientes con diarrea que acudieron a dicha institución. A estos pacientes se les tomó el consentimiento informado de participación a la madre o acudiente, se les realizó una ficha clínica y a la materia fecal del niño se le realizó las pruebas para determinar la presencia de astrovirus, rotavirus y adenovirus.

Los resultados indican que la frecuencia de positividad de astrovirus empleando la técnica de inmunocromatografía fue de 13%, de los cuales el género femenino fue el más vulnerable a la infección 15% y un 10% fueron hombres, siendo el rango de edad más afectado el de niños menores de un año y el comprendido de 1 a 2 años; por lo que se puede inferir que las mujeres son más afectadas que los hombres.

De las 100 muestras incluidas en el estudio 9% fueron positivas para astrovirus y rotavirus, dato que indica que existe coinfección en una parte de la población estudiada.

En vista de el número de muestras positivas hallado en este estudio se recomienda que en los laboratorios clínicos se incluya en las pruebas diagnósticas de rutina la determinación del antígeno de astrovirus en aquellos pacientes que presenten diarrea.

II. INTRODUCCIÓN

Astrovirus es un virus ARN de cadena sencilla, sin envoltura perteneciente a la familia Astroviridae, de pequeño tamaño (28 a 34 nm). Fueron descritos por primera vez en 1975 por Appleton y Higgins en heces de niños con diarrea y han sido descritos como causantes de diarreas de etiología viral en el mundo. (1-5).

Dentro de las características epidemiológicas importantes están el que afecta principalmente niños menores de 4 a 5 años, tiene amplia distribución mundial y pueden presentarse solos o coinfectando con otros virus. (1-2).

La transmisión puede ser fecal-oral y así mismo por contagio de una persona infectada a otra persona sana, su replicación ocurre en la superficie epitelial del intestino delgado causando atrofia de las vellosidades intestinales. Después de infectarse con astrovirus, la mayoría de las personas muestran síntomas como deposiciones líquidas, vómitos, distensión abdominal y deshidratación (3-5).

La infección por astrovirus acciona una respuesta inmune que puede ser reconocida por métodos de detección antigénica como Elisa, aglutinación por látex, inmunocromatografía sobre todo en los grupos catalogados de alto riesgo, tales como pacientes hospitalizados, guarderías, las personas que trabajan en las instituciones de salud, en especial laboratorio clínico (6-13).

Durante mucho tiempo han sido escasos los datos sobre la epidemiología de las infecciones por astrovirus, debido a los pocos métodos diagnósticos disponibles para su identificación.

Debido a que en Guatemala, no existen estudios recientes que aporten datos a cerca de la frecuencia de la infección por astrovirus y su relación con el sexo y edad de la población; el presente estudio tuvo como objetivo determinar la frecuencia de positividad de antígeno de astrovirus en heces de pacientes pediátricos que acudieron a los diferentes servicios del Hospital Infantil Juan

Pablo II en el año 2011 y su relación con distintas variables como edad y género; así mismo se estableció la frecuencia de la infección por astrovirus con rotavirus y adenovirus; aportando así datos epidemiológicos.

III. ANTECEDENTES

A. Aspectos generales

1. Perspectiva histórica

Astrovirus es un virus descubierto recientemente, pertenece a la familia Astroviridae y se clasifica en el género Mamastrovirus (14-19).

Los estudios que permitieron la identificación del virus astrovirus, se originaron en el año 1975 cuando Madeley y Cosgrove, demostraron mediante microscopía electrónica la presencia de virus icosaédricos pequeños (28 nm), redondos con aspecto de estrellas de cinco o seis puntas en las heces diarreicas de niños hospitalizados y en recién nacidos con brotes de gastroenteritis en guarderías (20-25).

Snodgrass y Gray en 1977 realizaron la detección y transcripción de partículas de astrovirus de 30nm en heces diarreicas de corderos. Lee y Kurtz en 1981 aislaron por primera vez una cepa de astrovirus humano en cultivo celular y realizaron su propagación en células embrionarias de riñón humanas (26-30).

En 1987 un grupo de científicos guatemaltecos encontraron una asociación negativa de astrovirus con el aumento de peso; contribuyendo así a una alta morbilidad en los niños que viven en malas condiciones teniendo un efecto perjudicial sobre su estado nutricional (5).

En 1990 se relaciona la infección de astrovirus con gastroenteritis en niños como en brotes en adultos, en 1993 se obtiene la secuenciación completa del genoma (9,29,31).

Oishi y sus colegas en 1994 examinó las muestras de heces de 38 pacientes identificando Astrovirus en 10 de las muestras fecales. En el mismo año Utagawa y sus colegas identificaron a astrovirus como el agente etiológico de gastroenteritis en tres brotes separados (31-34).

Roger Schnagl, Kate Belfrage y colegas en un estudio realizado en 1995 hasta 1998 de muestras de heces de lactantes y niños ingresados en el Hospital Alice Springs en Australia encontraron Astrovirus por la transcripción reversa-PCR en 33 de 495 muestras de heces estudiadas (35,36).

B. Características biológicas de los astrovirus

1. Hospedadores naturales

Los astrovirus se han asociado etiológicamente con enfermedades en diversas especies animales que incluyen tanto mamíferos como aves. Se les ha asociado con diarreas leves en terneros (37), corderos (38), cerdos (39), gatos (40), y perros (41). En la mayoría de estos casos, los astrovirus han sido aislados junto con otros virus también presentes en las heces de animales enfermos y se ha demostrado que eran ellos los causantes de la enfermedad (42). El reservorio del astrovirus es el ser humano (43-46).

2. Morfología, estructura y replicación

Los astrovirus forman un grupo de virus pequeños, no envueltos, de simetría icosaédrica y con un genoma compuesto por una cadena de ARN de polaridad positiva. La morfología observada por microscopía electrónica permite distinguir un relieve en forma de estrella con 5 ó 6 puntas (32).

Por lo general, se considera que los astrovirus tienen un diámetro de 28 nm, aunque el tamaño de las partículas puede variar según el origen del virus y el método de preparación de la muestra. Además, la apariencia típica con forma de estrella tampoco se observa en todas las partículas víricas de una preparación, sino que está presente tan sólo en un 10% de los viriones. El análisis detallado de la ultraestructura de los astrovirus, definió para estos virus un diámetro de 41 nm y la presencia de una capa de espículas bien definidas en su superficie (31).

Para analizar la estructura de cultivos celulares del virus de astrovirus humanos se ha utilizado recientemente la crioelectromicroscopía. La reconstrucción de las imágenes mostró unas partículas con una superficie

de la cápside ligeramente estructurada y un diámetro de 330 Å. De la superficie se extienden treinta espículas diméricas que sobresalen unos 50 Å, centradas sobre el eje de simetría (47).

La replicación de los astrovirus es en el citoplasma de la célula hospedera; su propagación se lleva a cabo en líneas celulares con ayuda de tripsina (47).

El esquema de replicación, transcripción y traducción que se postula para astrovirus presentan una organización genómica y una estrategia de síntesis de las proteínas estructurales a partir de un ARN subgenómico de polaridad positiva. Brevemente, tras la entrada del virus en la célula hospedadora, tiene lugar la síntesis de las proteínas no estructurales a partir del genoma. Estas proteínas transcriben la cadena negativa completa, la cual a su vez sirve de molde para la síntesis tanto de nuevas moléculas genómicas como de moléculas de ARN subgenómico de polaridad positiva. Finalmente, tiene lugar la síntesis de las proteínas estructurales a gran escala al traducirse el ARN subgenómico. De este modo, la presencia de proteínas de la cápside es indicativa de que la replicación del genoma ya ha tenido lugar (44).

3. Taxonomía, clasificación y patogénesis

La familia *Astroviridae* fue establecida definitivamente dentro del *subphylum* de virus ARN de cadena positiva en 1995, tras la confirmación de una serie de características de su biología molecular (47).

En 1991, se obtuvo la secuencia del genoma completo de astrovirus y se corroboró su organización genómica característica, así como la presencia de una señal de "*mutación del marco de lectura ribosomal*" (RFS) y la falta de un dominio helicasa (48). En 1994 se identificó el motivo de su ARN polimerasa ARN dependiente (49,50) y ya en 1995, basándose en todas estas observaciones, el "Comité Internacional sobre la Taxonomía de los Virus" (ICTV) clasificó a los astrovirus como una nueva familia llamada *Astroviridae* (31).

En resumen, las características que distinguen a los astrovirus de otros virus de ARN de cadena positiva son:

- Su organización genómica con las proteínas no estructurales en el extremo 5', codificadas en dos pautas de lectura diferentes pero traducidas como una poliproteína gracias a una señal RFS, y con las proteínas estructurales en el extremo 3' (33).
- La utilización de un ARN subgenómico para la síntesis de grandes cantidades de proteínas estructurales del virión (33).
- La falta de un dominio helicasa típico de virus ARN de cadena positiva con genomas superiores a las 6 Kb (33).

El Comité Internacional (ICTV) propuso actualmente la clasificación de la familia Astroviridae en dos géneros. El género Mamastrovirus incluiría los astrovirus de mamíferos y el género Avastrovirus de las aves (33).

La patogenia de la enfermedad inducida por astrovirus no se ha establecido todavía, aunque se sugiere que la replicación del virus ocurre en el tejido intestinal. Los estudios en adultos voluntarios no aclararon tampoco los mecanismos patogénicos y son los realizados en animales los que aportan gran parte del conocimiento. En ellos se observa una atrofia de las vellosidades intestinales e infiltrados inflamatorios en la lámina propia, dando lugar, al igual que los rotavirus, a la disminución de la actividad de las disacaridasas y producción de diarrea osmótica. En humanos existen pocos datos sobre el mecanismo de entrada del virus en las células susceptibles del huésped, aunque el más probable parece ser el de endocitosis (38).

4. Serotipos

a. Astrovirus humanos

Hasta la fecha, se han descrito 8 serotipos de astrovirus humanos. Los anticuerpos policlonales de referencia específicos para cada serotipo presentan una elevada especificidad en técnicas de inmunofluorescencia

(IF) e inmunoelectromicroscopía (IEM), así como también en ensayos de neutralización (28).

b. Astrovirus animales

La variabilidad serotípica en astrovirus animales no ha sido estudiada con tanta profundidad. Actualmente, tan sólo se han identificado varios serotipos en los astrovirus bovinos y en los astrovirus de pavo (48-52). Para todas las demás especies, solamente se ha descrito un único serotipo. En ningún caso se ha detectado reactividad cruzada entre anticuerpos provenientes de especies distintas (48).

C. Aspectos clínicos de la infección

1. Características clínicas de las infecciones en humanos

Las gastroenteritis causadas por infecciones por astrovirus en humanos ocurren en todo el mundo y afectan mayoritariamente a niños menores de 5 años. Su incidencia también es importante en gente mayor y pacientes inmunosuprimidos. En adultos sanos también se han detectado casos de gastroenteritis por astrovirus, pero la infección suele ser mucho más leve o incluso asintomática (18,53).

En general, la gastroenteritis aguda se caracteriza por un cuadro de diarrea precedido en ocasiones de náuseas y vómitos, acompañado de dolor abdominal como retortijones, ruidos abdominales aumentados y febrícula o hasta fiebre alta que dura de 2 a 7 días y que aparece tras un período de incubación de 1 a 3 días. Los síntomas de la gastroenteritis causada por astrovirus en humanos no permiten distinguirla de las gastroenteritis causadas por otros virus como rotavirus o calicivirus, aunque en general se considera que la infección por astrovirus es un poco más leve y en ocasiones suele desencadenar problemas graves de deshidratación. Entre los factores que contribuyen a la elevada frecuencia de infecciones del aparato gastrointestinal destacan la mayor exposición a los agentes causantes de gastroenteritis por falta de medidas de higiene y la rápida transmisión que ocurre entre los individuos cuando éstos conviven

juntos, como puede ser el caso de guarderías, familias o residencias de ancianos (53). Los individuos con deficiencias en el sistema inmunitario también muestran un riesgo superior a infecciones gastrointestinales (54).

En la población infantil, cada vez son más los estudios que consideran los astrovirus como la tercera causa de gastroenteritis víricas después de rotavirus y calicivirus, tanto en niños hospitalizados como en niños no hospitalizados. En algunos estudios las infecciones pediátricas por astrovirus también se han asociado a deshidratación severa y, aunque muy raramente, también se han descrito casos de muerte en pacientes infectados con astrovirus. Tampoco se debe perder de vista que las consecuencias y la gravedad de la infección dependen siempre en enorme medida del grado de desarrollo del país. Se puede citar un estudio reciente llevado a cabo en la población infantil en Egipto, en el cual el 48% de los casos de diarrea mostraron cierto grado de deshidratación y en el 17% se diagnosticó deshidratación severa, según los criterios de la Organización Mundial de la salud (OMS) (54).

En otras palabras se puede decir que por regla general, las manifestaciones clínicas de una infección por astrovirus suelen ser más leves que las de una infección por rotavirus o calicivirus. No obstante, mientras que el número de niños afectados revela la importancia médica de éste virus entérico en cada país, no se puede olvidar que las consecuencias de la infección pueden variar drásticamente entre países desarrollados y países en vías de desarrollo.

2. Epidemiología

Las infecciones por astrovirus ocurren en los cinco continentes (6). A pesar de que en la mayoría de casos estas infecciones son leves, los casos de hospitalización debidos a astrovirus son frecuentes, así como también su incidencia en infecciones nosocomiales (7,8). A pesar de que las infecciones por astrovirus ocurren con menor frecuencia que las infecciones por rotavirus o calicivirus, desde el punto de vista de la salud pública deben tenerse en cuenta, puesto que han sido responsables de

brotos de gastroenteritis en colegios (9), escuelas militares (10), geriátricos (11), guarderías (12) y entre individuos inmunosuprimidos(13).

La incidencia de astrovirus oscila aproximadamente entre el 2 y el 9% en países desarrollados (14-19) y asciende hasta el 26% en los países en vías de desarrollo, en los cuales se han llevado a cabo estudios epidemiológicos (20). La prevalencia de infecciones por astrovirus varía en función de los grupos de edad estudiados, pero por regla general, parece que es mayor en niños menores de dos años. Estudios sobre la seroprevalencia demostraron que la mayoría de los niños adquieren anticuerpos contra astrovirus durante los primeros años de vida (21-23).

Actualmente, los astrovirus humanos se clasifican en 8 serotipos, de los cuales se considera que el serotipo HAstV-1 es el más prevalente en todo el mundo, siendo responsable de más de la mitad de las infecciones en Europa (7,28,55), América del Norte (56), América del Sur(16,57), Asia (8,58) y Australia (59). Por su parte, los serotipos HAstV-6 y HAstV-7 se han aislado raramente (28,60). A pesar de que el serotipo HAstV-8 se descubrió recientemente y que en un principio se pensó que su incidencia era baja, hoy en día se está detectando con relativa frecuencia en distintas regiones del mundo (55,59,60). Con frecuencia se han descrito coinfecciones de astrovirus con algún otro patógeno (56,61), y también, en un mismo paciente coinfección de distintos serotipos de astrovirus (34,55).

Paralelamente a lo que ocurre con rotavirus y calicivirus, las infecciones por astrovirus aumentan durante los meses fríos y/o lluviosos del año. Esto se ha descrito en muchos países como Australia (62), Guatemala (63), Sudáfrica (64), etc. No obstante, también existen algunos estudios, como los realizados en México o en Egipto, en los que esta estacionalidad no se cumple (65,60). Así pues, está abierto el debate sobre la estacionalidad de estos virus entéricos y podría haber variaciones en función de la región geográfica. Además, en algunos trabajos realizados en el Reino Unido, Australia y Sudáfrica, se describió también un patrón bianual de incidencia de astrovirus, de manera que el impacto de estos virus sería mayor en años alternos (28,59,64).

La transmisión de la infección de astrovirus ocurre fundamentalmente por la vía fecal-oral. La excreción de virus infecciosos en las heces de individuos contaminados puede llegar a contaminar el agua, alimentos o superficies, los cuales pueden representar a su vez nuevos focos de infección. El virus puede sobrevivir en el medio ambiente durante largos periodos de tiempo hasta que es ingerido por otro individuo en el que provoca una nueva infección (66).

3. Infecciones en inmunosuprimidos

A pesar de que los astrovirus se han identificado como agentes causantes de gastroenteritis en pacientes con el síndrome de la inmunodeficiencia adquirida (SIDA), no parecen desempeñar un papel importante. González. G. y colegas realizaron el estudio de la prevalencia de los virus entéricos en pacientes humanos con virus de la inmunodeficiencia seropositivos en Venezuela detectando astrovirus en el 10% de pacientes adultos con SIDA y solo el 14% de ellos desarrollaron síntomas de gastroenteritis. En ningún caso se detectó la presencia ni de rotavirus ni de calicivirus (13).

Mary B. Liste y colegas en julio de 1997 a octubre de 1998 realizaron el estudio de Infecciones por Virus entéricos y diarrea en niños sanos e infectados por el virus de Inmunodeficiencia Humana en Venezuela se detectó una incidencia de astrovirus significativamente mayor en niños afectados de SIDA comparado con los niños sanos (54). En cambio, Cunliffe y colegas el 2 de julio del 2002 en la república Malawi en el sur de África, observaron que la infección era más severa en niños coinfectados con SIDA y astrovirus (54).

También se describió un brote de gran importancia causado por astrovirus HAstV-1 en una unidad infantil de trasplante de médula ósea en un hospital de Londres. Los niños afectados excretaron astrovirus durante varios meses después de la infección (67).

Finalmente, también se han descrito infecciones prolongadas de astrovirus en pacientes con deficiencias congénitas de células T o en

pacientes que han recibido tratamientos con fludarabina, la cual provoca una disminución de células T CD4 (68-70). Algunos de estos pacientes reaccionaron satisfactoriamente a un tratamiento intravenoso y oral de gammaglobulinas con un título elevado de anticuerpos contra el serotipo 1, pero el papel del tratamiento en pacientes inmunosuprimidos con inmunoglobulinas todavía requiere estudiarse con detalle (68).

4. Infecciones nosocomiales

Shastri y colaboradores en julio de 1996 a julio de 1997 realizaron el estudio de prevalencia de astrovirus en el hospital de niños Lucile Salter Packard en Stanford, California, en este estudio el 50% de las infecciones atribuidas a astrovirus pudieron clasificarse como infecciones nosocomiales, sobre todo en la población infantil más joven (56).

En Francia, el 47% de las gastroenteritis causadas por astrovirus en pacientes hospitalizados se atribuyeron a infecciones nosocomiales (7).

Así, se ha detectado en el 4,5-16% de las gastroenteritis agudas infantiles hospitalarias, constituyendo el tercer agente en frecuencia después de los rotavirus y los calicivirus. En el ámbito hospitalario, entre el 25 y 50% del total de diarreas infantiles por astrovirus son de origen nosocomial. No se han detectado diferencias clínicas significativas entre los pacientes con gastroenteritis adquirida en la comunidad y los casos de origen hospitalario, con excepción de una edad menor en estos últimos, atribuible, probablemente, a una mayor frecuencia de hospitalización en niños de menor edad (5,8).

La existencia de eliminación de astrovirus en niños hospitalizados sin diarrea hace presuponer una frecuencia de infección nosocomial mucho mayor que la expuesta, en relación con una proporción de infecciones asintomáticas similar a la encontrada en los estudios de cohortes. La gran cantidad de pacientes con replicación y eliminación viral asintomática explicaría, en parte, la magnitud de la enfermedad nosocomial, unido a la posible existencia de otras vías de contagio como la vía inhalatoria o el

contacto con objetos contaminados. A este respecto sería importante el uso de agentes desinfectantes adecuados (8,14).

En Bangladesh fue el primero en asociar las infecciones de astrovirus a diarreas agudas y persistentes. Aunque no se pudo descartar la participación de otros patógenos al inicio de las gastroenteritis persistentes, la asociación que describieron con astrovirus fue muy elevada; demostrándose que el 16% de las infecciones de astrovirus que identificaron en niños hospitalizados fueron nosocomiales (8). Todo ello, relacionado con la posibilidad de la existencia de numerosas infecciones asintomáticas producidas por astrovirus en adultos (69-71), hace que el papel de astrovirus como causante de infecciones nosocomiales no deba menospreciarse.

5. Seroprevalencia

Los estudios realizados de seroprevalencia indican que la mayoría de niños adquieren anticuerpos contra astrovirus cuando todavía son muy pequeños. Concretamente, en Norfolk, Virginia, se demostró que, a los 9 años, el 96% de los niños poseían anticuerpos contra HAstV-6 y HAstV-7, respectivamente. Además también observaron que la adquisición de anticuerpos contra el serotipo HAstV-5 ocurría a una edad más avanzada y que por lo tanto la epidemiología de este serotipo podía ser relativamente distinta (21). Actualmente, todavía no se dispone de datos sobre la seroprevalencia para el serotipo HAstV-8. Así, el brote producido entre los reclutas de una base militar en Francia se atribuyó al serotipo HAstV-3 (10); y el brote de astrovirus en una escuela de secundaria en Japón fue causado por una cepa del serotipo HAstV-6 (9).

6. Respuesta inmunitaria

La rápida disminución en la prevalencia de la enfermedad por astrovirus con la edad sugiere la existencia de inmunidad específica de grupo. La infección sintomática incide principalmente en dos grupos de edad, los niños pequeños y los ancianos. Esto sugiere que los anticuerpos adquiridos

en la infancia protegen de la enfermedad en la edad adulta, pudiendo disminuir estos posteriormente. Los estudios en adultos voluntarios indicaron que aquellas personas con niveles detectables de anticuerpos no desarrollan diarrea con la ingesta viral (57,59).

No obstante, a pesar del avance en el conocimiento de la epidemiología y biología molecular, se sabe poco sobre la antigenicidad y determinantes de inmunidad de los astrovirus. Hasta la fecha, se han descrito cuatro anticuerpos monoclonales neutralizantes, para el astrovirus humano de los serotipos 1 y 2. Todos reaccionaron con la proteína de la cápside VP26, implicada en la neutralización de los astrovirus humanos (67).

Un aspecto importante de la respuesta inmunitaria es la existencia de 8 serotipos diferentes. Los análisis recientes de seroprevalencia realizados en EEUU y Holanda muestran una ausencia de reactividad cruzada entre los distintos serotipos detectados. En sueros de referencia animales, sí se ha documentado un alto nivel de reactividad cruzada entre los serotipos. Es probable, por lo tanto, que las infecciones repetidas puedan producir una respuesta de anticuerpos heteróloga, contra uno de los otros serotipos (61).

D. Diagnóstico

1. Microscopía electrónica (ME)

La microscopía electrónica es todavía hoy en día la única técnica que permite detectar todos los tipos de virus que provocan gastroenteritis y la técnica que se ha utilizado tradicionalmente para su diagnóstico (72).

No obstante, para el caso de astrovirus puede presentar ciertas dificultades, pues aproximadamente tan sólo el 10 % de las partículas virales muestra la característica en forma estrellada. Por ello, el peligro de confundir los astrovirus con otros virus de morfología similar es alto. Incluso aunque el microscopista tenga gran experiencia. Esta limitación fue puesta de manifiesto en un estudio retrospectivo realizado en 1988, en el cual se describió como, hasta esa fecha, muchos virus entéricos; especialmente astrovirus, habían sido clasificados erróneamente (72).

2. Inmunolectromicroscopía (IEM)

La sensibilidad y especificidad de detección de astrovirus por microscopía electrónica (ME) se incrementó con el desarrollo de técnicas de inmunolectromicroscopía en fase sólida (SPIEM), en las que las rejillas se recubren con antisueros contra el virus (9,72). La utilización de los anticuerpos de conejo de referencia también permitió el serotipado de las muestras de astrovirus por inmunolectromicroscopía (IEM)(26,73,74). Así se consiguió caracterizar el virus causante de un importante brote en California, el agente Marin County, como un astrovirus serotipo 5 (71).

3. Inmunoensayo (EIA)

En 1990 se diseñó uno de los primeros inmunoensayos (EIA) para la detección de astrovirus. Este EIA se basó en el recubrimiento de la placa con el anticuerpo monoclonal MAB 8E7, el cual reconoció un epítipo común a todos los serotipos, y la posterior detección de los virus con un anticuerpo policlonal de conejo (75). El inmunoensayo ha sido el más ampliamente utilizado en los estudios epidemiológicos de astrovirus. Actualmente, en Europa se dispone de un kit comercial equivalente (IDEIA™Astrovirus, DAKO, Cambridgeshire, United Kingdom) que es específico para la detección de astrovirus humanos. Comparado con la ME, su sensibilidad es equiparable y su especificidad es del 98.6% (75). Otro sistema de EIA descrito y utilizado se basa en la utilización del MAb 8G4 como anticuerpo de captura y del mismo anticuerpo biotinilado como anticuerpo detector. Al igual que el anticuerpo monoclonal MAb 8E7, el anticuerpo monoclonal MAb 8G4 reconoce todos los serotipos descritos de astrovirus humanos (56). En general, la sensibilidad de estas técnicas es de 10^5 - 10^6 partículas víricas por gramo de material fecal (75).

Paralelamente también se han desarrollado métodos que permiten serotipar las muestras. Los anticuerpos de referencia que se utilizan fueron producidos contra HAsV-1 hasta HAsV-8 por Lee y Kurtz en conejos. El EIA para serotipar utiliza estos anticuerpos como detectores y el MAb 8E7

para la captura (75). No obstante, se ha descrito un grado bastante elevado de reacción cruzada entre serotipos 1 y 3 (36).

El diseño de estos ensayos ha facilitado la realización de estudios epidemiológicos a gran escala de astrovirus y así se ha podido corroborar la importancia médica de astrovirus en todo el mundo (16, 20, 24, 30,63,65).

4. Inmunofluorescencia (IF)

La detección de antígeno de astrovirus mediante IF utilizando anticuerpos específicos es una técnica útil para el serotipado de astrovirus adaptados a propagarse en cultivos celulares, así como para estudiar la localización subcelular de determinadas proteínas víricas. A su vez, esta técnica también ha sido utilizada para detectar astrovirus salvajes después de infectar células en el cultivo (59).

5. Ensayos moleculares

La secuenciación y el clonaje de varios genomas de astrovirus humanos ha conducido al desarrollo de sistemas moleculares para la detección y caracterización de astrovirus mediante técnicas de hibridación (dot blot) y de retrotranscripción-reacción en cadena de la polimerasa (RT-PCR) (17).

E. Tratamiento y prevención

Puesto que la gastroenteritis producida por astrovirus suele ser una enfermedad autolimitante y su sintomatología suele ser leve, por lo general, no se necesita ningún tratamiento específico. Únicamente si se desarrollan problemas de deshidratación se requerirá la aplicación de terapias de hidratación oral o intravenosa. Estos problemas de deshidratación suelen ocurrir en pacientes que ya tienen alguna otra enfermedad gastrointestinal, en pacientes con un estado de nutrición pobre, con infecciones mixtas severas o con enfermedades prolongadas. La administración de inmunoglobulina intravenosa puede ser eficiente en pacientes con inmunodeficiencias severas que no responden a las medidas terapéuticas

normales, pero todavía no se conoce con exactitud la eficacia real de este tratamiento (69).

Debido a que se trata de una enfermedad de transmisión fecal-oral, la prevención de la infección se basa fundamentalmente en interrumpir las vías de transmisión del virus entre personas. Esto es especialmente importante en lugares como guarderías, hospitales, escuelas, residencias, etc. Por ello, en estos ambientes, cualquier medida higiénica debe extremarse. Debido a que el virus también puede transmitirse a través de agua o alimentos contaminados, también es especialmente importante lavar y manipular los alimentos cuidadosamente y depurar adecuadamente el agua que destinada al consumo (74).

Asimismo, también se ha visto que el contagio entre personas puede darse a través del contacto con superficies contaminadas, y por este motivo la descontaminación de superficies o fomites debe ser algo que debe tenerse en cuenta. Se ha observado que los astrovirus son bastante resistentes a la desinfección por alcohol y concretamente parece que las soluciones de metanol al 70% serían más efectivas que concentraciones equivalentes de isopropanol o etanol o que el metanol al 90% (75).

F. Perspectivas de futuro para una vacuna

Actualmente, la mayoría de estudios realizados sobre astrovirus todavía van encaminados a evaluar con exactitud cuáles son las principales características epidemiológicas de estos virus y su importancia médica real en la población mundial. Una vez se disponga de esta información para diferentes regiones del mundo y se haya profundizado también en el conocimiento del grado de variabilidad estructural entre los distintos serotipos, podrá proseguirse con el desarrollo de una vacuna para prevenir la infección de astrovirus. Por otra parte, los datos de los que se disponen hasta ahora parecen indicar que la mayoría de infecciones por astrovirus tienen lugar en niños menores de 2 años de edad. Por consiguiente, uno de los requerimientos de la posible vacuna sería que fuera capaz de inducir inmunidad en niños de esa población (60).

G. Estudios realizados en Guatemala

Cruz, J. y colaboradores de febrero de 1987 a febrero de 1989 realizaron un estudio longitudinal de astrovirus asociado a diarrea en niños ambulatorios de 0 a 3 años de edad del área rural en el altiplano de Guatemala (57).

En Santa María de Jesús, en 38.6% de las muestras de heces colectadas se encontró astrovirus durante el período de estudio. En este estudio en la niñez guatemalteca, los vómitos y temperaturas elevadas se observaron en sólo una pequeña proporción de los episodios, 8.6 y 17.1%, respectivamente (57,63). Astrovirus en este estudio fue asociada a diarrea, vómitos en el 8,6%, con fiebre en un 17,1%, con deshidratación en un 5,7%, y con la pérdida de apetito en un 34,3% de los episodios. Los episodios de diarrea asociados con astrovirus tuvieron una duración de 5 días (57).

Debido a la diarrea astrovirus tiene un efecto perjudicial sobre su estado nutricional; contribuyendo así a la alta morbilidad observada en los niños pequeños que viven en malas condiciones (57).

IV. JUSTIFICACIÓN

Las infecciones virales del aparato gastrointestinal provocan aproximadamente cada año 2 billones de casos de diarrea en niños de todo el mundo, resultando en aproximadamente 18 millones de casos de hospitalización. Cada año mueren hasta 3 millones de niños por gastroenteritis víricas y deshidratación y se calcula que esta cifra representa el 25-30% de las muertes de niños menores de 5 años en todo el mundo. Los principales patógenos causantes de gastroenteritis virales son rotavirus, adenovirus, astrovirus y calicivirus.

Desde un principio se ha considerado que la incidencia de astrovirus es relativamente baja y que la sintomatología de la infección no es demasiado severa. No obstante, el diseño de nuevos y cada vez más sensibles y específicos sistemas de diagnóstico ha suscitado un cambio en esta concepción y, hoy en día los astrovirus se consideran la tercera causa de gastroenteritis no bacteriana a nivel mundial en la población infantil, después de rotavirus y calicivirus.

Debido a que en Guatemala, no existen estudios recientes que aporten datos a cerca de la frecuencia de la infección y coinfección por astrovirus y su relación con el género y la edad de la población; se hizo necesario determinar la frecuencia de infección por este virus en pacientes pediátricos que acuden al Hospital Infantil Juan Pablo II, así como la coinfección con rotavirus y adenovirus para detectar infecciones mixtas en casos positivos de astrovirus.

V. OBJETIVOS

A. General

Determinar la frecuencia de infección con astrovirus, en pacientes con diagnóstico de gastroenteritis atendidos en el Hospital Infantil Juan Pablo II, en el año 2011.

B. Específicos

1. Establecer la frecuencia de la infección por género y edad en astrovirus.
2. Determinar la coinfección por rotavirus y adenovirus en esta muestra de población.

VI. HIPOTESIS

No se incluye, por ser un estudio de tipo descriptivo.

VII. MATERIALES Y MÉTODOS

F. Diseño de estudio

3. Tipo de estudio: Descriptivo, transversal.
4. Universo y muestra

Se tomó por conveniencia un número de 100 niños con diarrea que asistieron al Hospital Pediátrico Juan Pablo II, en el año 2011, que cumplieron con los criterios de inclusión.

G. Recursos

1. Humanos

- Tesista: Evelyn Patricia De Mata Medrano.
- Asesora: Licda. Denny Guarán Mijangos.
- Coasesora: Licda. Mildred Alquijay de Posadas.

2. Institucionales

- Hospital Infantil Juan Pablo II.

5. Físicos

a. Instrumentos

- Centrífuga
- Pipetas semiautomáticas
- Refrigeradora (2-8 °C)

b. Materiales

- Guantes
- Mascarilla
- Lentes de bioseguridad
- Jabón antiséptico y alcohol
- Gradillas para tubos de ensayo
- Papel absorbente
- Bulbos plásticos desechables

- Cinta adhesiva
- Marcadores permanentes
- Cuaderno para reportes
- Fichas clínicas
- Hojas de consentimiento

c. Reactivos

- Kit de astrovirus en heces Cert Test Bistec Card®
- Kit de rotavirus, adenovirus Operon, S.A®

H. Metodología

1. Recolección de muestras

Se recolectaron por conveniencia 100 muestras de heces diarreicas colectadas en frascos estériles, de niños comprendidos entre 0 a 5 años que asistieron al Hospital pediátrico Juan Pablo II.

Las muestras fueron remitidas por el médico al laboratorio clínico para la búsqueda de astrovirus, rotavirus y adenovirus.

En el laboratorio clínico se registró en una ficha clínica un formato con datos del paciente como: edad, sexo, procedencia de la muestra y fecha de toma de muestra y el consentimiento informado donde la madre o acudiente dio permiso para realizarle a la materia fecal del niño las pruebas de rotavirus, adenovirus y astrovirus (Ver anexo I y II).

Los criterios de inclusión que se tomaron en cuenta:

- Niños entre 0 a 5 años.
- Que asistieron al Hospital pediátrico Juan Pablo II.
- Que la muestra de heces fuera diarreica.
- Por criterios médicos todos los pacientes que presentaron diarrea de 1 a 3 días y uno o más de los siguientes síntomas: fiebre y vómitos. El

médico pegó una etiqueta de color rojo en la orden de solicitud de laboratorios que indicó que el paciente ingresó al estudio.

2. Procesamiento de muestras

- a. Las muestras de heces se analizaron según el método inmunocromatográfico (54); utilizando el kit Cert Test Biotec Card ®, para detectar la presencia de antígeno de astrovirus.

En los tubos correspondientes con solución tampón de cada kit se colocaron de 200 a 300 microlitros de la muestra de heces diarreica. Se cerró y agitó para facilitar la dispersión de la muestra.

Se agregaron 4 gotas ó 100 microlitros de la muestra homogenizada en la ventana circular marcada con una S en el dispositivo y se incubó durante 10 minutos a temperatura ambiente.

Interpretación de resultados

- **Negativo** no se detectó antígeno de astrovirus: Cuando apareció solamente la línea de color verde del control interno con la letra C en la ventana central del dispositivo de reacción.
- **Positivo** para antígeno de astrovirus.: Cuando apareció además de la línea verde del control una línea roja en la zona marcada con la letra T que es la zona de resultado.

- b. Las muestras de heces se analizaron según el método Inmunocromatográfico (38); utilizando el kit de rotavirus, adenovirus Operon, S.A®, para detectar la presencia de antígeno de rotavirus y adenovirus.

En los tubos de ensayo con 1 ml de solución tampón se colocaron 100 microlitros de la muestra de heces diarreica. Se agitó para facilitar la suspensión de la muestra; se centrifugó cada tubo por un minuto.

Se agregaron 500 microlitros del sobrenadante a otro tubo de ensayo introduciendo posteriormente la tira de reactiva la muestra y se incubó durante 10 minutos a temperatura ambiente.

Interpretación de resultados

- **Negativo** no se detectaron antígeno de rotavirus y adenovirus: Cuando apareció solamente la línea de color verde en la zona del resultado siendo esta el control interno de la prueba.
- **Positivo** para antígeno de rotavirus y adenovirus.: Cuando apareció además de la línea verde del control una línea roja (rotavirus) y otra azul (adenovirus) en la zona de resultado.

3. Análisis estadístico

Diseño del muestreo: No probabilístico, por cuota hasta completar los 100 pacientes.

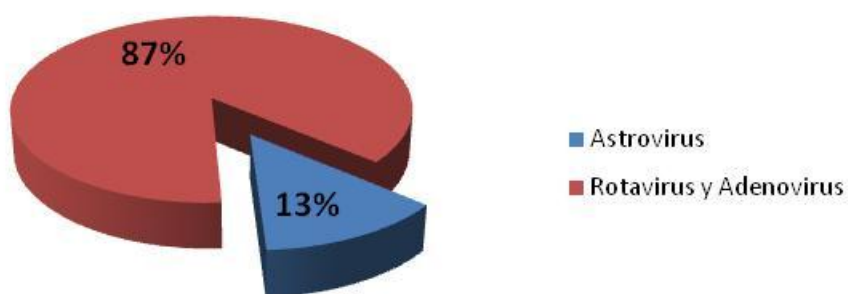
Fue un estudio descriptivo transversal en el cual se estableció la frecuencia de infección por astrovirus; se realizó por medio de estadística descriptiva, el porcentaje o frecuencia de astrovirus con la variables de edad y género y se determinó la frecuencia de la coinfección de la infección por astrovirus con rotavirus, adenovirus por medio de tablas y representación gráfica de los resultados siendo utilizada la de barras múltiples para representar y comparar los resultados, en base a las frecuencias de los datos obtenidos.

VIII. RESULTADOS

La muestra estudiada consistió en 100 pacientes pediátricos con diarrea que asistieron al hospital Infantil Juan Pablo II. De éstos se obtuvo un porcentaje de positividad para astrovirus del 13%; el 87% fueron negativos (Gráfica 1).

Gráfica 1. Frecuencia de infección con astrovirus en muestras de heces diarreicas de los niños que acudieron a el Hospital Infantil Juan Pablo II.

Positividad de Astrovirus



Fuente: datos experimentales

En cuanto a la edad, el mayor número de pacientes estuvo comprendido entre los rangos menores de 1 año (50%), y 1-2 años (39%). En el primer rango se presentó el mayor número de pacientes positivos (n=7) para astrovirus, en el segundo fue menor (n=4); así como en el resto de rangos por edad de niños muestreados como se evidencia en el cuadro 2.

El 9% de los 100 pacientes estudiados presentaron rotavirus y astrovirus, (Cuadro 1) ninguno a la coinfección con adenovirus.

Cuadro 1: Frecuencia de astrovirus e infecciones mixtas virales según género detectados en las muestras fecales N=100

CARACTERÍSTICA	TOTALES		Astrovirus				Astrovirus + Rotavirus	
	n	%	n Positivos	%	n Negativos	%	n Positivos	%
Género								
Masculino	40	40	4/40	10	36/40	90	3/4	75
Femenino	60	60	9/60	15	51/60	85	6/9	66
Totales	100	100	13/100		87/100		9/100	

Fuente: datos experimentales

Cuadro 2: Frecuencia de Astrovirus e infecciones mixtas virales según edad detectadas en las muestras fecales N=100

CARACTERÍSTICA	TOTALES		Astrovirus		Astrovirus + Rotavirus
	n	%	n Positivos	n Negativos	n Positivos
Edad (Grupo Etario)					
< 1 año	50	50	7	43	7
1 a 2 años	39	39	4	35	1
2 a 3 años	9	9	1	8	1
3 a 4 años	2	2	1	1	0
4 a 5 años	0	0	0	0	0

Fuente: datos experimentales

IX. DISCUSION

En este estudio se determinó una frecuencia del 13% de infección con astrovirus en los pacientes evaluados, los datos obtenidos confirman la importancia de no subestimar el papel de este patógeno en la etiología de las diarreas infantiles (6).

Cruz y colaboradores (1992), realizaron un estudio longitudinal de astrovirus asociado con diarrea en niños ambulatorios de 0 a 3 años de edad en Santa María de Jesús durante el período comprendido de febrero de 1987 a febrero de 1989, encontrando 38% de positividad para el virus; resultados que no coinciden con lo encontrado en el presente estudio (57).

Esto puede deberse a que la población estudiada es del área rural; mientras que la muestreada en este trabajo en general pertenece al área urbana. También se debe considerar que en esta investigación se incluyeron únicamente 100 pacientes con diarrea; mientras que en el estudio mencionado más de mil; por lo que se recomienda efectuar estudios que contemplen mayor número de pacientes y estudios que actualicen datos en el área rural.

En estudios efectuados en otros países se ha encontrado entre 2 y 9% de frecuencia de astrovirus en Finlandia, 5.5% y 11.4% en Zaragoza y Madrid, España, respectivamente (1,2,22,64,76-79). Estos resultados no se pueden comparar con los encontrados en esta investigación, a pesar de su similitud, tomando en consideración que los países mencionados son desarrollados; mientras que Guatemala es un país en vías de desarrollo; en el cual la baja frecuencia de astrovirus detectada se puede deber a que no es una prueba de rutina que se solicite o se analice en el set de determinación de agentes etiológicos de diarrea en el área de salud.

Sin embargo cabe mencionar que la técnica empleada en este trabajo (inmuncromatografía) significó un avance importante en el diagnóstico de la diarrea por astrovirus y un mejor conocimiento de la epidemiología de las infecciones provocadas por estos virus en la población estudiada.

Esta técnica surge como una alternativa a la técnica de referencia, ME (microscopía electrónica) que por su complejidad es impracticable en laboratorios clínicos (72). Otras técnicas que se pueden emplear las cuales han

aumentado la detección de astrovirus son: enzimoimmunoanálisis (EIA) y RT-PCR (7).

Con relación al género se comprobó en este estudio que el más afectado fue el femenino (15%) y en infecciones mixtas el más afectado fue el masculino (75%).

Con respecto a la edad, se sabe que la lactancia es una época de inmunidad a muchos agentes patógenos debido a los anticuerpos maternos obtenidos de la madre (20). Una vez terminada esta etapa, el infante inicia el proceso de reacción a los agentes patógenos, sin mucho éxito protectorio, lo que aumenta la posibilidad de infección por astrovirus. En este estudio se determinó que los niños menores de un año y el rango comprendido de 1 a 2 años se muestran más vulnerables a la infección; lo cual indica que el virus es adquirido a temprana edad. Algunos estudios sugieren que el contacto con el virus se produciría antes de los 5 años de edad (21).

En el presente estudio, se detectaron infecciones mixtas en los casos positivos para astrovirus con rotavirus. Información que indica que existe coinfección en una parte de la población. Hermann y col. (1991), han demostrado que las infecciones mixtas con astrovirus son comunes (11). En un estudio multicéntrico de 3 años realizado en Barcelona se detectó astrovirus en el 4.9%, con una proporción de coinfección con otros enteropatógenos del 17.2% de los casos (40).

Por otro lado cabe mencionar que en el presente estudio, no se detectaron coinfecciones de astrovirus con adenovirus. En España en un estudio publicado por Sánchez y col. en el periodo del 2003 al 2007, detectaron astrovirus y rotavirus en 17 casos (16.8%), mientras que en 3 casos (2.9%), astrovirus con adenovirus, y sólo en un caso se detectó antígeno de los tres virus (22).

Respecto a rotavirus varios estudios muestran que la primera infección ocurre en los primeros dos años de vida y está generalmente asociada a diarrea severa, mientras que las re-infecciones se presentan en edades posteriores, durante toda la vida, y son leves o asintomáticas (1). Estudios en Venezuela muestran que la severidad de la diarrea por rotavirus disminuye con la edad (1,61). Igualmente, se han descrito diarreas recurrentes causadas por

el mismo o diferente serotipo de rotavirus, sin embargo, el segundo o tercer episodio de diarrea presenta una clínica muy leve, en la mayoría de las ocasiones (13,28,57,58,62).

Los datos de este estudio proporcionan evidencia adicional de que los astrovirus comúnmente son asociados con la gastroenteritis entre los niños pequeños que viven en zonas pobres del mundo, entre los cuales el virus produce una enfermedad generalmente leve. Astrovirus, sin embargo, puede contribuir a aumentar la severidad de las enfermedades causadas por otros virus, con importantes consecuencias nutricionales para el niño (16,18,57). Por lo que se recomienda que en los laboratorios clínicos se investigue de forma rutinaria la presencia de antígeno de astrovirus en heces de niños con diarrea con objeto de diagnosticar etiológicamente las gastroenteritis agudas ocasionadas por este microorganismo.

X. CONCLUSIONES

1. La frecuencia de astrovirus para la población estudiada fue del 13%, siendo el género femenino el que presentó el mayor porcentaje de positividad (15%).
2. Los niños menores de 1 año y en el rango comprendido de 1 a 2 años presentaron mayor frecuencia de infección con astrovirus.
3. En la población estudiada se determinó coinfección entre astrovirus y rotavirus (9%), no se detectó ningún caso de coinfección de astrovirus con adenovirus.

XI. RECOMENDACIONES

1. Para estudios posteriores, se recomienda evaluar las diferentes pruebas diagnósticas para astrovirus.
2. Realizar el estudio de investigación por un periodo de tiempo más extenso, con mayor número de muestras y abarcar otros centros asistenciales.
3. Debido a la presencia de muestras positivas hallado en este estudio se considera que en los laboratorios clínicos debería investigarse de forma rutinaria la presencia de antígeno de astrovirus en heces en aquellos pacientes que presenten diarrea.
4. La infección mixta por virus se da en nuestra población, por lo que es necesario practicar las distintas pruebas de detección de antígeno en pacientes con diarrea con objeto de diagnosticar etiológicamente las gastroenteritis agudas producidos por estos microorganismos.
5. Evaluar la coinfecciones de astrovirus con otros virus, parásitos y bacterias.

XII. REFERENCIAS

1. Bon F, *et al.* Prevalence of group A rotavirus, human calicivirus, astrovirus, and adenovirus type 40 and 41 infections among children with acute gastroenteritis in Dijon, France. *J Clin Microbiol* 1999; 37:3055-3058.
2. Gaggero A, *et al.* Prevalence of astrovirus infection among Chilean children with acute gastroenteritis. *J Clin Microbiol* 1998; 36:3691-3693.
3. Schulz K, *et al.* Analysis of genotypes of human astrovirus isolates from hospitalized children in North-eastern Germany. *J Clin Microbiol* 2000; 19:563-565.
4. Noel J, *et al.* Typing of human astroviruses from clinical isolates by enzyme immunoassay and nucleotide sequencing. *J Clin Microbiol* 1995; 33:797-801.
5. Mitchell D, *et al.* Molecular epidemiology of childhood astrovirus infection in child care centers. *J Infect Dis* 1999; 180:514-517.
6. Glass R I, *et al.* The changing epidemiology of astrovirus-associated gastroenteritis. *Arch Virol* 1996; 12:287-300.
7. Traore O, *et al.* RT-PCR identification and typing of astroviruses and Norwalk-like viruses in hospitalized patients with gastroenteritis: evidence of nosocomial infections. *J Clin Virol* 2000; 17:151-158.
8. Unicomb L, *et al.* Astrovirus infection in association with acute, persistent and nosocomial diarrhea in Bangladesh. *J Pediatr Infect Dis* 1998; 17:611-614.
9. Oishi I, *et al.* A large outbreak of acute gastroenteritis associated with astrovirus among students and teachers in Osaka, Japan. *J Infect Dis* 1994; 170: 439-443.
10. Belliot G, *et al.* Outbreak of gastroenteritis in military recruits associated with serotype 3 astrovirus infection. *J Med Virol* 1997; 51:101-106.

11. Lewis D, *et al.* Outbreaks of astrovirus type 1 and rotavirus gastroenteritis in a geriatric in-patient population. *J Hosp Infect* 1989; 14:9-14.
12. González G, *et al.* Prevalence of enteric viruses in human immunodeficiency virus seropositive patients in Venezuela. *J Med Virol* 1998; 55:288-292.
13. Bon F, *et al.* Prevalence of group A rotavirus, human calicivirus, astrovirus, and adenovirus type 40 and 41 infections among children with acute gastroenteritis in Dijon, France. *J Clin Microbiol* 1999; 37:3055-3058.
14. Foley B, *et al.* Detection of sporadic cases of Norwalk-like virus (NLV) and astrovirus infection in a single Irish hospital from 1996 to 1998. *J Clin Virol* 2000; 17:109-117.
15. Mustafa H, Palombo, E., & Bishop, R. Improved sensitivity of astrovirus-specific RT-PCR following culture of stool samples in CaCo-2 cells. *J Clin Virol* 1998; 11:103-107.
16. Svenungsson B, *et al.* Enteropathogens in adult patients with diarrhea and healthy control subjects: a 1-year prospective study in a Swedish clinic for infectious diseases. *Clin Inf Dis* 2000; 30:770-778.
17. Walter J, Mitchell, D. Role of astroviruses in childhood diarrhea. *Curr Opin Pediatr* 2000; 12:275-279.
18. Maldonado Y, *et al.* Population-based prevalence of symptomatic and asymptomatic astrovirus infection in rural Mayan infants. *J Infect Dis* 1998; 178:334-339.
19. Koopmans M, Bijen M, Monroe S, & Vinjé J. Age-stratified seroprevalence of neutralizing antibodies to astrovirus types 1 to 7 in humans in the Netherlands. *Clin Diagn Lab Immunol.* 1998; 5:33-37.
20. Kriston S, Willcocks M., Carter, M., & Cubitt, W. Seroprevalence of astrovirus types 1 to 6 in London, determined using recombinant virus antigen. *Epidemiol Infect* 1996; 117:159-164.
21. Kurtz J, Lee, T. Astrovirus gastroenteritis age distribution of antibody. *Med Microbiol Immunol* 1978; 166:227-230.

22. López L, *et al.* Astrovirus infection among children with gastroenteritis in the city of Zaragoza, Spain Europa. *J Clin Microbiol Infect Dis* 2000; 19:545-547.
23. Madeley C, Cosgrove, B. 28 nm particles in faeces in infantile gastroenteritis. *Lancet* 1975; 2:451-452.
24. Kurtz J, Lee, T. Human astrovirus serotypes. *Lancet*. 1984; 2:1405.
25. Harlow E, Lane D. Antibodies. A laboratory manual. Cold Spring Harbor, New York: *Cold Spring Harbor Laboratory Press*. 1988.
26. Lee T, Kurtz J, Prevalence of human astrovirus serotypes in the Oxford region 1976-92, with evidence for two new serotypes. *Epidemiol Infect* 1994; 112:187-193.
27. Belliot G, Laveran H, Monroe, S. Capsid protein composition of reference strains and wild isolates of human astroviruses. *Virus Res* 1997; 49:49-57.
28. Herrmann J, Taylor D, Echeverria P, Blacklow N, Astroviruses as a cause of gastroenteritis in children. *N Engl J Med* 1991; 324:1757-1760.
29. Jiang, B., *et al.* RNA sequence of astrovirus: distinctive genomic organization and a putative retrovirus-like ribosomal frameshifting signal that directs the viral replicase synthesis. *Proc Natl Acad Sci* 1993; 90:10539-10543.
30. Geigenmüller U, Ginzton N, & Matsui S, Construction of a genome-length cDNA clone for human astrovirus serotype 1 and synthesis of infectious RNA transcripts. *J Virol* 1997; 71:1713-1717.
31. Jonassen C M, *et al.* A common RNA motif in the 3' end of the genomes of astroviruses, avian infectious bronchitis virus and an equine rhinovirus. *J Gen Virol* 1998; 79:715-718.
32. Matsui M, *et al.* Determination of serotypes of astroviruses by reverse transcription-polymerase chain reaction and homologies of the types by the sequencing of Japanese isolates. *Microbiol Immunol* 1998; 42:539-547.
33. Matsui S M, *et al.* Astroviruses. Philadelphia, USA; *Ed. Lippincott-Raven*. 2001; p.875-893.

34. Woode G, Bridger J, Isolation of small viruses resembling astroviruses and caliciviruses from acute enteritis of calves. *J Med Microbiol* 1978; 11:441-452.
35. Snodgrass D, *et al.* Pathogenesis of diarrhoea caused by astrovirus infections in lambs. *Arch Virol* 1979; 60:217-226.
36. Shimizu M, Shirai J, Narita M, & Yamane T, Cytopathic astrovirus isolated from porcine acute gastroenteritis in an established cell line derived from porcine embryonic kidney. *J Clin Microbiol* 1990; 28:201-206.
37. Hoshino Y, Zimmer J, Moise N, & Scott F, Detection of astroviruses in faeces of a cat with diarrhoea. *Arch Virol* 1981; 70:373-376.
38. Williams F, Astrovirus-like, coronavirus-like, and parvovirus-like particles detected in the diarrheal stools of beagle pups. *Arch Virol* 1980; 66:216-226.
39. Imada T, Yamaguchi S, & Kawamura H, Pathogenicity for baby chicks of the G-4260 strain of the picornavirus "avian nephritis virus". *Avian Dis* 1979; 23:582-588.
40. Gough R, *et al.* Astrovirus-like particles associated with hepatitis in ducklings. *Vet Rec* 1984; 114:279.
41. Qureshi M., *et al.* Induction of functional defects in macrophages by a Poult Enteritis and Mortality Syndrome associated Turkey Astrovirus. *Avian Dis* 2001; 45:853-861.
42. Schultz-Cherry S, *et al.* Identifying agent(s) associated with poult enteritis mortality syndrome: Importance of the thymus. *Avian Dis* 2000; 44:256-265.
43. Jonassen C, *et al.* Comparison of capsid sequences from human and animal astroviruses. *J Gen Virol* 2001; 82:1061-1067.
44. Matsui S, *et al.* Molecular biology of astroviruses: selected highlights. Gastroenteritis viruses. *Novartis Foundation Symposium*. 2001; 238:219-236.

45. Jonassen C, *et al.* Complete genomic sequences of astroviruses from sheep and turkey: comparison with related viruses. *Virus Res* 2003; 91:195-201.
46. Lewis T, *et al.* Analysis of astrovirus serotype 1 RNA, identification of the viral RNA-dependent RNA polymerase motif, and expression of a viral structural protein. *J Virol* 1994; 68:77-83.
47. Le Guyader F, *et al.* Threeyear study to assess human enteric viruses in shellfish. *Appl Environ Microbiol* 2000; 66:3241-3248.
48. Woode G, *et al.* Astrovirus and breda virus infections of dome cell epithelium of bovine ileum. *J Clin Microbiol* 1984; 19:623-630.
49. Imada T, *et al.* Avian Nephritis Virus (ANV) as a new member of the family Astroviridae and construction of infectious ANV cDNA. *J Virol* 2000; 74:8487-8493.
50. Oliver A, Phillips A, An electron microscopical investigation of faecal small round viruses. *J Med Virol* 1988; 24:211-218.
51. Monroe S, *et al.* Temporal synthesis of proteins and RNAs during Human Astrovirus infection of cultured cells. *J Virol* 1991; 65:641-648.
52. Taylor M, *et al.* Characterisation of a South African human astrovirus as type 8 by antigenic and genetic analyses. *J Med Virol* 2001; 64:256-261.
53. Mitchell D, *et al.* Outbreaks of astrovirus gastroenteritis in day care centers. *J Pediatr* 1993; 123:725-732.
54. Herrmann J, *et al.* Diagnosis of astrovirus gastroenteritis by antigen detection with monoclonal antibodies. *J Infect Dis* 1990; 161:226-229.
55. McIver J, *et al.* Detection of astrovirus gastroenteritis in children. *J Virol Methods* 2000; 84:99-105.
56. Shastri S, *et al.* Prevalence of astroviruses in a children's hospital. *J Clin Microbiol* 1998; 36:2571-2574.
57. Cruz J, *et al.* Astrovirus-associated diarrhea among Guatemalan ambulatory rural children. *J Clin Microbiol* 1992; 30:1140-1144.
58. Guerrero M, *et al.* A prospective study of astrovirus diarrhea of infancy in Mexico City. *Pediatr. J Infect Dis* 1998; 17:723-727.

59. Taylor M, Grabow W, & Cubitt W, Propagation of human astrovirus in the PLC/PRF/5 hepatoma cell line. *J Virol Methods* 1997; 67:13-18.
60. Pager C, Steele A, Astrovirus-associated diarrhea in South African adults. *Clin Inf Dis* 2003; 35:1452-1453.
61. Pang X, Vesikari T, Human astrovirus-associated gastroenteritis in children under 2 years of age followed prospectively during a rotavirus vaccine trial. *Acta Paediatr* 1999; 88:532-536.
62. Medina S, *et al.* Identification and type distribution of astroviruses among children with gastroenteritis in Colombia and Venezuela. *J Clin Microbiol* 2000; 38:3481-3483.
63. Kang Y, *et al.* Identification of human astrovirus from stool samples with diarrhea in Korea. *Arch Virol* 2002; 147:1821-1827.
64. Mustafa H, Palombo E, & Bishop R, Epidemiology of astrovirus infection in young children hospitalized with acute gastroenteritis in Melbourne, Australia, over a period of four consecutive years, 1995 to 1998. *J Clin Microbiol* 2000; 38:1058-1062.
65. Naficy A, *et al.* Astrovirus diarrhea in Egyptian children. *J Infect Dis* 2000; 182:685-690.
66. Román E, *et al.* Acute viral gastroenteritis: proportion and clinical relevance of multiple infections in Spanish children. *J Med Microbiol* 2003; 52:435-440.
67. Palombo E, Bishop R, Annual incidence, serotype distribution, and genetic diversity of human astrovirus isolates from hospitalized children in Melbourne, Australia. *J Clin Microbiol* 1996; 34:1750-1753.
68. Steele A, *et al.* Astrovirus infection in South Africa: a pilot study. *Ann Trop Paediatr* 1998; 18:315-319.
69. Liste M, *et al.* Enteric virus infections and diarrhea in healthy and human immunodeficiency virus-infected children. *J Clin Microbiol* 2000; 38:2873-2877.
70. Cubitt D, *et al.* Application of electronmicroscopy, enzyme immunoassay, and RT-PCR to monitor an outbreak of astrovirus type 1 in a paediatric bone marrow transplant unit. *J Med Virol* 1999; 57:313-321.

71. Wood D, David T, Chrystie I, & Totterdell B, Chronic enteric virus infection in two T-cell immunodeficient children. *J Med Virol* 1988; 24:435-444.
72. Björkholm M, Celsing F, Runarsson G, & Waldenström J, Successful intravenous immunoglobulin therapy for severe and persistent astrovirus gastroenteritis after fludarabine treatment in a patient with Waldenström's macroglobulinemia. *Int J Hematol* 1995; 62:117-120.
73. Coppo P, *et al.* Astrovirus enteritis in a chronic lymphocytic leukemia patient treated with fludarabine monophosphate. *Ann Hematol* 2000; 79:43-45.
74. Abad F, *et al.* Astrovirus survival in drinking water. *Appl Environ Microbiol* 1997; 63:3119-3122.
75. Kurtz J, Lee T, & Parson A, The action of alcohols on rotavirus, astrovirus and enterovirus. *J Hosp Infec* 1980; 1:321-325.
76. Ando T, Monroe SS, Gentsch JR, Jin Q, Lewis DC, & Glass RI. Detection and differentiation of antigenically distinct small round-structured viruses (Norwalk-like viruses) by reverse transcription-PCR and Southern hybridization. *J Clin Microbiol* 1995; 33: 64-71.
77. Davidson GP, Bishop RF, Townley RRW, & Holmes IH. Importance of a new virus in acute sporadic enteritis in children. *Lancet* 1975; 1: 242-6.
78. Cohen MB. Etiology and mechanisms of acute infectious diarrhea in infants in the United States. *J Pediatr* 1991; 118 (suppl): 34-39.
79. Del Castillo F. Estudio de los principales enteropatógenos en las diarreas infantiles en España. *Med Clin (Barc)* 1992; 99: 69-74.

ANEXO I



INFORME DE CONSENTIMIENTO

“Frecuencia de infección por astrovirus en niños con diarrea que asisten al Hospital Pediátrico Juan Pablo II”

Identificación: Este estudio es sobre la determinación de astrovirus en personas que presentan algún riesgo a esta infección. Se le realizarán también algunas preguntas que ayudarán a determinar los gastos que un paciente debe incurrir al presentar esta infección. Astrovirus es un virus causante de diarreas en niños a nivel mundial.

La transmisión puede ser fecal-oral y así mismo por contagio de una persona infectada a otra persona sana. Después de infectarse con astrovirus, la mayoría de las personas muestran síntomas como deposiciones líquidas, vómitos, distensión abdominal y deshidratación.

Procedimiento: Durante el estudio usted será entrevistado acerca de algunos síntomas que padece su hijo (vómitos, diarrea) y fecha de inicio de los síntomas. La entrevista se llevará a cabo en la clínica. La información recolectada será confidencial. De acceder a participar en el estudio a la muestra de heces diarreica de su hijo/a será utilizada para la determinación de antígeno de astrovirus, rotavirus y adenovirus.

Riesgos: No existe riesgo específico relacionado con la participación en este estudio que difieran de los riesgos mínimos asociados a la entrega de la muestra de heces en un recipiente que se realizará a todos los participantes.

Beneficios: Si usted desea participar, recibirá información acerca de su condición, tratamiento y prevención. Su participación ayudará a adquirir un mayor conocimiento del control y prevención sobre astrovirus.

Confidencial: Su información será mantenida en la confidencialidad de acuerdo a la práctica médica estándar. Su nombre no será utilizado en ningún reporte o publicación resultante de este estudio, únicamente se utilizarán los datos que se obtengan del presente estudio.

Consideraciones financieras: Su participación en el estudio no representa ningún gasto para usted. No se le dará compensación directa por participar en el estudio.

Preguntas: Si usted tiene alguna pregunta o problema, por favor no dude en contactar a su médico.

Participación voluntaria: Su participación en este estudio es voluntaria. Usted puede decidir no ser parte de este estudio o salir de él en cualquier momento.

Consentimiento:

1. Yo reconozco que mi participación en este estudio es voluntaria. Tengo la libertad de participar o salir del estudio en cualquier momento.
2. Yo doy el permiso a los investigadores de este estudio para usar la información recolectada en el cuestionario.

Firma del participante: _____ No. De cédula _____

Firma del Investigador: _____ Nombre: _____

Fecha: _____

ANEXO II



FICHA CLINICA

**“Frecuencia de infección por astrovirus en niños con diarrea que asisten al
Hospital Pediátrico Juan Pablo II”**

IDENTIFICACIÓN DEL PACIENTE:

Nº correlativo de Identificación de la muestra _____

Nombre:-----

Edad: _____ (años)

Sexo: F____ M____

Fecha de toma de muestra: ____/____/____

Procedencia de la muestra:

Consulta Externa: Si No

Emergencia: Si No

Encamamiento: Si No

Padece actualmente de:

Vómitos Si No

Diarrea Si No

Fecha en que inicio con los síntomas: ____/____/____

Resultado de la prueba astrovirus: Negativo Positivo

Resultado de la prueba rotavirus: Negativo Positivo

Resultado de la prueba adenovirus: Negativo Positivo

Anexo III

“Frecuencia de infección por astrovirus en niños con diarrea que asisten al Hospital Pediátrico Juan Pablo II”

Por cualquier duda o consulta comunicarse con Evelyn De Mata al teléfono:
42503434.

“Frecuencia de infección por astrovirus en niños con diarrea que asisten al Hospital Pediátrico Juan Pablo II”

Por cualquier duda o consulta comunicarse con Evelyn De Mata al teléfono:
42503434.

Evelyn Patricia De Mata Medrano de Mejía
Autora

Licda. Denny Guarán Mijangos
Asesora

Licda. Mildred Alquijay de Posadas
Co-asesora

Licda. María Eugenia Paredes Sánchez, M.A
Directora

Dr. Oscar Manuel Cobar Pinto, Ph.D
Decano

