

CAPITULO XIII GASTROENTERITIS VIRALES

Patricia A. Barril
Leonardo J. Ferreyra
Miguel O. Giordano
María B. Isa
Gisela Masachessi
Silvia V. Nates

1. Agentes Etiológicos, Clasificación y Componentes Estructurales.

Principales agentes virales involucrados en el síndrome de la gastroenteritis aguda (GEA).

Familia	Género	Grupo	Serotipo	Escenario epidemiológico	% identificación en casos de diarrea
Reoviridae	Rotavirus	A	1-15	Endémico	30-50
Adenoviridae	Adenovirus	F	40/41	Endémico	2-22
Astroviridae	Mamastrovirus	A-B	1-8	Endémico	3-20
Caliciviridae	Norovirus		GI, GII, GIV, (humano) GIII (bovino) GV (murino)	Epidémico	70-90 brotes diarrea no bacteriana

VIRUS DEL ESCENARIO ENDEMICO

ROTAVIRUS: Estructura

Forma	Tamaño	Envoltura
Rueda	75 nm	no

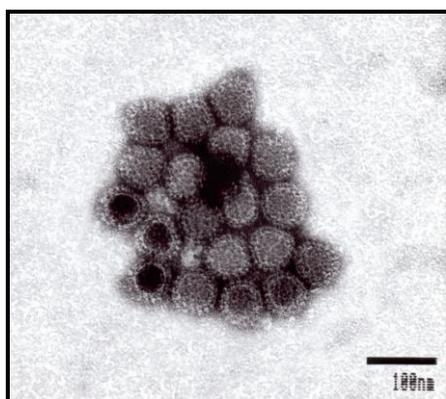


Figura 1: Partículas de rotavirus (del latín rota: rueda) visualizadas por microscopía electrónica (ME) con tinción negativa de heces de un niño con diagnóstico de gastroenteritis aguda. Las partículas observadas aparecen con su clásica forma de rueda con un tamaño aproximado entre los 70 a 75 nm de diámetro según escala al pie de la microfotografía.

Proteínas Estructurales

Denominación	Localización	Característica	Diversidad
VP4 (proteína P)	Cápside externa	Especificidad de Serotipo	15 P tipos
VP7 (proteína G)	Cápside externa	Especificidad de Serotipo	15 G tipos
VP6	Cápside interna	Especificidad de Grupo y Subgrupo	7 grupos (A-G) 4 subgrupos I, II, I y II, no I y II

Clasificación de serotipos de rotavirus Grupo A según la proteína G (VP7)* y hospedador

Serotipo	Humano	Especies animales
G1	+	+ Porcino, bovino
G2	+	+ Porcino
G3	+	+ Simiano, canino, felino, equino, porcino, murino y conejo
G4	+	+ Porcino
G5	+	+ Porcino, equino
G6	+	+ Bovino
G7	-	+ Aviar, bovino
G8	+	+ Bovino
G9	+	+ Porcino
G10	+	+ Bovino, ovino
G11	+	+ Porcino
G12	+	-
G13	-	+ Equino
G14	-	+ Equino
G15	-	+ Bovino

* Para la proteína **VP7** (Ver Fig.2) se identifican 15 G tipos, en los que se correlaciona la clasificación serológica y genómica. Del total de G tipos, 11 han sido aislados en humanos.

Clasificación de serotipos de rotavirus Grupo A según la proteína P (VP4)* y hospedador

Serotipo	Humano	Especies animales
1A	+	-
1B	+	-
2 A	+	-
2 B	-	+ Porcino
3 A	+	+ Felino
3 B	+	-
4	+	-
5 A	+	+ Canino, felino
5 B	-	+ Simiano
6	-	+ Bovino, simiano
7	-	+ Bovino
8	-	+ Bovino
9	-	+ Porcino
10	-	+ Murino
11	+	¿?

- La clasificación en base a la proteína **VP4** (Ver fig. 2) es más compleja, ya que por ensayos de neutralización se han identificados 15 serotipos y por análisis genómico 21 genotipos, de los cuales 11 P tipos infectan humanos, pero se desconoce la correlación entre serotipos y genotipos.

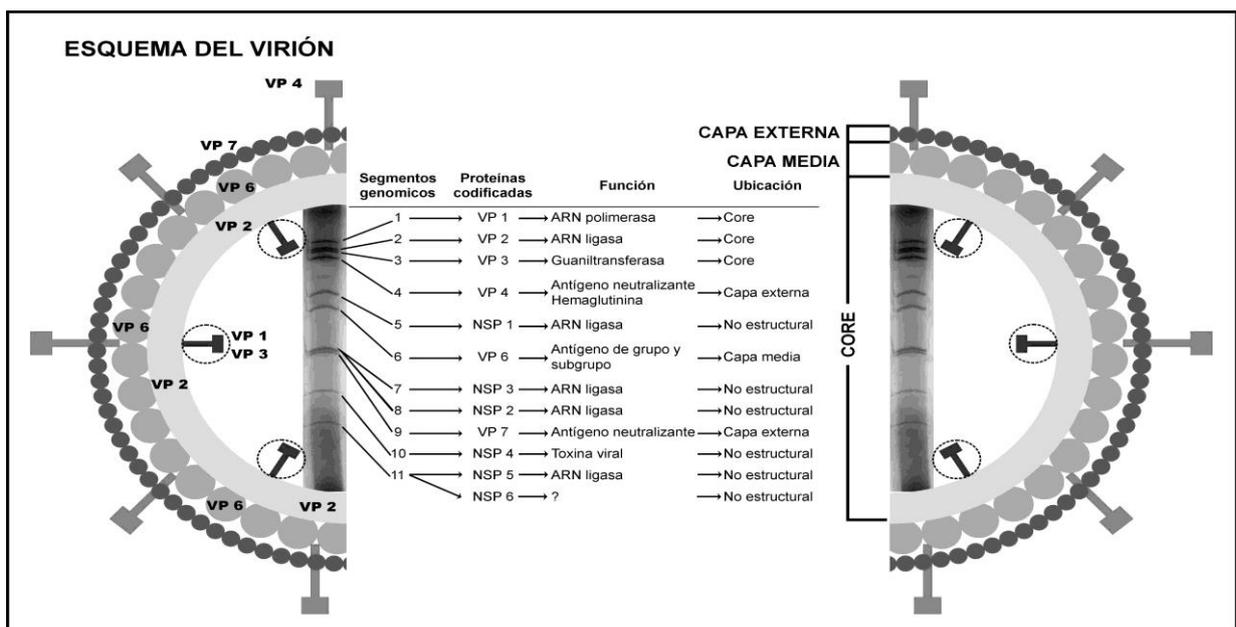
Genoma

Tipo	Forma	Polaridad
RNA, doble cadena	11 segmentos	

Los rotavirus son virus desnudos, de simetría icosaédrica. La estructura viral es una cápside formada por 3 capas proteicas concéntricas (Fig. 2).

La capa interna, denominada core, está constituida por 60 dímeros de la proteína VP2 y alberga el genoma viral y las proteínas VP1 y VP3, involucradas en la replicación del virus. La capa proteica de VP2 a su vez, está rodeada por moléculas de la proteína VP6 dispuestas en trímeros, que forman la segunda cubierta proteica. La VP6 es la proteína más abundante en la estructura del virus y es la que le imparte al virus homogeneidad morfológica. La tercera capa proteica (capa externa viral) está formada por trímeros de la glicoproteína VP7, que se ensamblan con los extremos de la VP6 subyacente. A su vez, desde la capa externa se extienden 60 espículas, constituidas por la proteína VP4, que interacciona con 2 moléculas de VP7 y hacia el interior con 6 moléculas de VP6. Las tres capas proteicas están interconectadas a través de 132 canales, que se extienden desde la capa externa al core. La proteína VP6 es la responsable de la integridad estructural de las partículas de rotavirus ya que establece interacciones inter-VP6, que estabilizan la capa proteica intermedia y a su vez interacciona con las proteínas VP2 y VP7/VP4, haciendo el soporte de unión entre las capas proteicas media e interna y media y externa. La estructura de tres capas proteicas concéntricas corresponde a una partícula viral completa. La pérdida de la capa externa determina partículas virales de doble cubierta proteica, no infectivas y no serotificables por ausencia de VP7 y VP4. A su vez, la capa proteica VP6 puede ser removida con agentes caotrópicos, quedando solo el core. Las tres formas estructurales de rotavirus coexisten y pueden ser observadas por microscopía electrónica en muestras fecales. El genoma de los rotavirus está constituido por RNA de doble cadena, segmentado en 11 porciones genómicas, que codifican seis proteínas estructurales (VP1-VP4, VP6 y VP7) y seis no estructurales (NSP1-NSP6). Cada segmento codifica para una proteína estructural o no estructural, excepto el segmento 11 que lleva la información genética de 2 proteínas no estructurales.

Figura 2: Representación esquemática de un Rotavirus.



ADENOVIRUS: Estructura

Forma	Tamaño	Envoltura
Icosaédrica	70-90 nm	no

Proteínas Estructurales

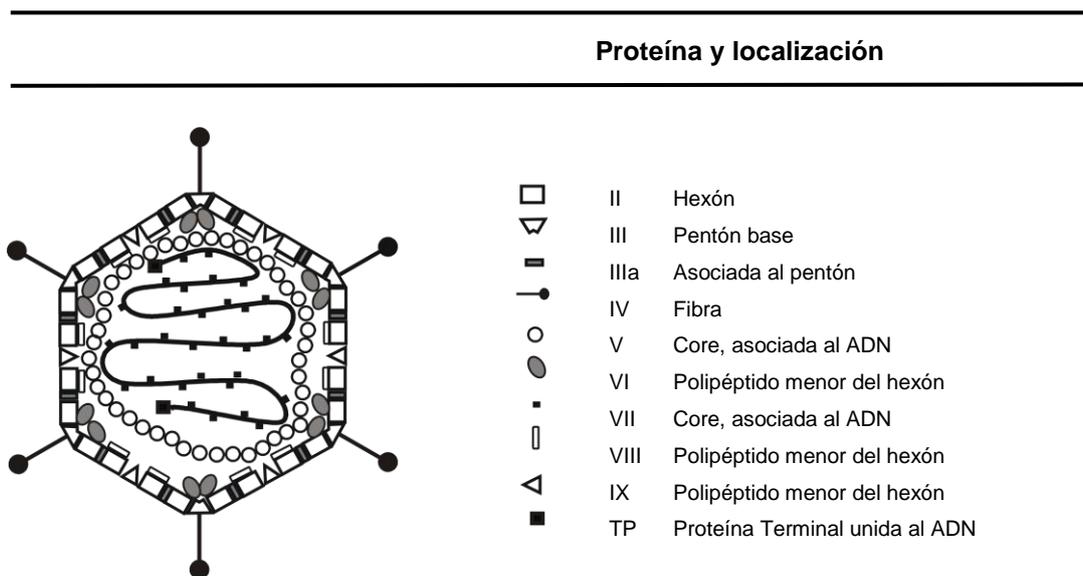
Denominación	Localización	Función
Hexón (polipéptido II)	Cápside	Clasificación de Género, subgénero y serotipo
Pentón (polipéptido III)	Cápside	Clasificación de Género y subgénero.
Fibra(polipéptido IV)	Cápside	Clasificación de Subgénero y serotipo
Polipéptido IIIa	Asociada al pentón	Penetración en la célula
Polipéptido V	Core, asociada al ADN	Empaquetamiento del ADN
Polipéptido VI	Polipéptido menor del hexón	Estabilización y ensamblaje del virión
Polipéptido VII	Core, asociada al ADN	Similar a las histonas celulares
Polipéptido VIII	Polipéptido menor del hexón	Estabilización y ensamblaje del virión
Polipéptido IX	Polipéptido menor del hexón	Estabilización y ensamblaje del virión
Proteína Terminal (TP)	Proteína Terminal unida al ADN	Replicación del ADN

Genoma

Tipo	Forma	Polaridad
DNA, doble cadena	lineal	

Figura 3: Representación esquemática de una partículas de adenovirus

Esquema del ensamble de las proteínas estructurales que conforman la partícula viral de los adenovirus (II, III, IIIa , IV, V, VI, VII, VIII, IX y TP). Localización de las proteínas en el virión.



Esquema topográfico de la partícula de adenovirus

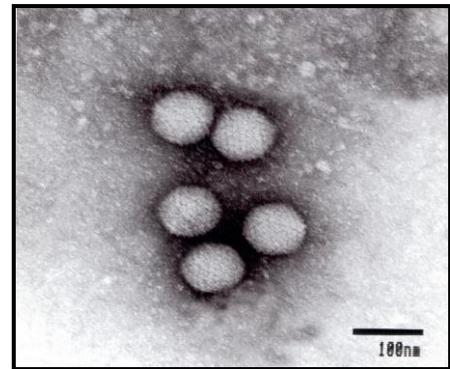
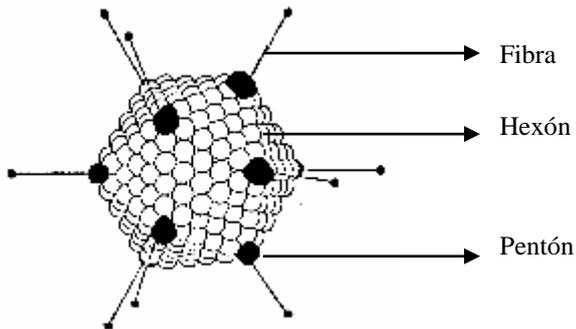


Figura 4: En esta microfotografía se observan partículas de adenovirus humanos por microscopía electrónica (ME) con tinción negativa. Las partículas aparecen con su cápside característica en forma de hexágono con un tamaño aproximado entre los 80 a 90 nm de diámetro según escala al pie de la microfotografía.

ASTROVIRUS: Estructura

Forma	Tamaño	Envoltura
Estrella	27-34 nm	no

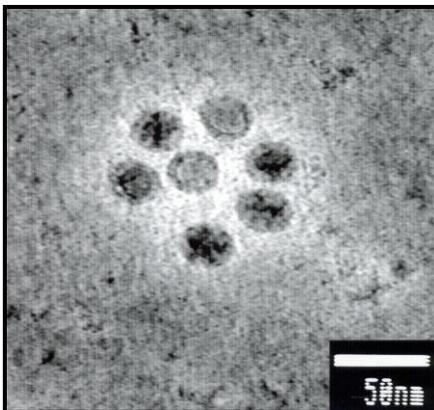


Figura 5: Partículas de astrovirus (del latín Astron: estrella) visualizadas por microscopía electrónica de transmisión (ME) de un niño con diagnóstico de diarrea aguda. Estos virus tienen una estructura interna que asemeja a una estrella de 5 o 6 puntas con un tamaño de 28 a 34 nm de diámetro según escala al pie de la microfotografía.

Denominación	Localización	Función
VP 26	Cápside	Marcador de las variaciones antigénicas. Podría inducir anticuerpos neutralizantes, inmunidad heterotípica, y unión del virus a la célula.
VP 29	Cápside	Podría inducir anticuerpos neutralizantes, inmunidad heterotípica y unión del virus a la célula.
VP 32	Cápside	?

Genoma

Tipo	Forma	Polaridad
RNA, simple cadena	lineal	positiva

VIRUS DEL ESCENARIO EPIDEMICO

NOROVIRUS: Estructura

Forma	Tamaño	Envoltura
Amorfos o esféricos	27-38 nm	no

Denominación	Localización	Función
VP 1	Cápside	Mayor proteína estructural
VP 2	Cápside	Menor proteína estructural

Genoma

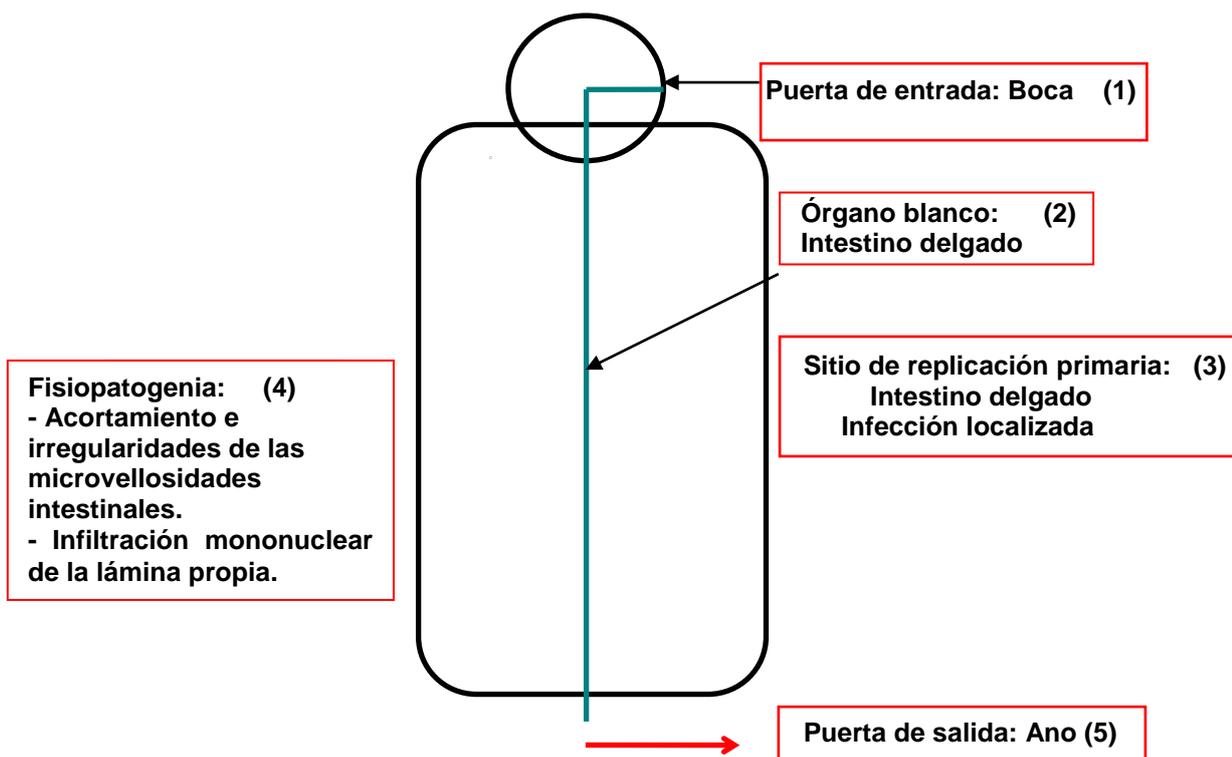
Tipo	Forma	Polaridad
RNA, simple cadena	redonda	positiva

2. Historia Natural de la Infección.

El síndrome diarreico es un complejo de síntomas, caracterizados por una disminución en la consistencia de las heces y un incremento en el número de deposiciones, se acompaña a menudo de vómitos, deshidratación y fiebre.

Clasificación de la diarrea: Se considera diarrea aguda a la presencia de deposiciones líquidas o acuosas, generalmente en número mayor de tres en 24 horas y que dura menos de 14 días, la disminución de la consistencia es más importante que la frecuencia. Dura habitualmente entre 4 y 7 días. Se considera resuelta cuando el paciente no presenta deposiciones durante 12 horas o estas no tienen ya componente líquido. Si la diarrea dura más de 14 días, se la define como diarrea prolongada y si dura más de 1 mes, como diarrea crónica. Si en las deposiciones hay mucosidades y sangre, se la denomina síndrome disentérico.

Figura 6: Secuencia de eventos (1-5) de la historia natural de la infección de virus productores de diarrea:



Características Comunes de las Gastroenteritis Virales

Agentes	Modo de transmisión	Incubación	Síntomas	Infectividad	Huésped
Rotavirus- Astrovirus Adenovirus 40/41	Fecal-oral, ciclo ano-mano-boca	2-7 días	Diarrea acuosa, vómitos, fiebre, anorexia, dolor abdominal	Desde el inicio de los síntomas hasta 7-10 días posteriores	< 5 años
Norovirus	Fecal-oral, Alimentos contaminados	12-48 hs de la exposición al virus	Nauseas, vómitos, diarrea, fiebre, dolor de cabeza, cansancio	Desde el inicio de los síntomas hasta 2 semanas posteriores	Niños adultos

Los siguientes comportamientos favorecen la transmisión de patógenos entéricos y por lo tanto incrementan el riesgo de diarrea:

1. Ausencia de la lactancia materna durante los primeros 4 meses de edad.
2. Mala higiene en el biberón.
3. Conservar los alimentos a temperatura ambiente.
4. Beber agua contaminada.
5. No lavado de las manos después de defecar o antes de la preparación de los alimentos.
6. Inadecuada eliminación de las heces y pañales.

3. Epidemiología

Reservorio: Hombre

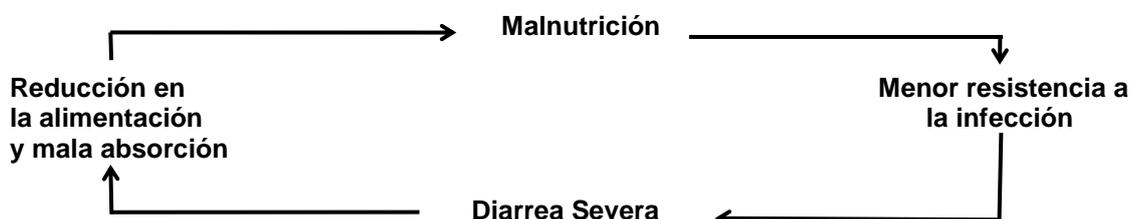
Distribución: Las diarreas virales tienen una distribución mundial, teniendo mayor impacto de morbi-mortalidad en los países en desarrollo.

Magnitud del problema: Las enfermedades diarreicas constituyen en los países en desarrollo una de las 5 primeras causas de morbi-mortalidad en niños menores de 5 años, estimándose que en el mundo ocurren 1.300.000.000 de episodios de diarrea y 3.200.000 muertes por año, el 50% corresponden a diarreas de etiología viral.

En nuestro país la incidencia anual de episodios de diarrea, en niños menores de 2 años es aproximadamente de 2.730.000 casos, requiriendo hospitalización el 3.9% (100.000 casos/año). De este total el 50% corresponden a diarreas de etiología viral.

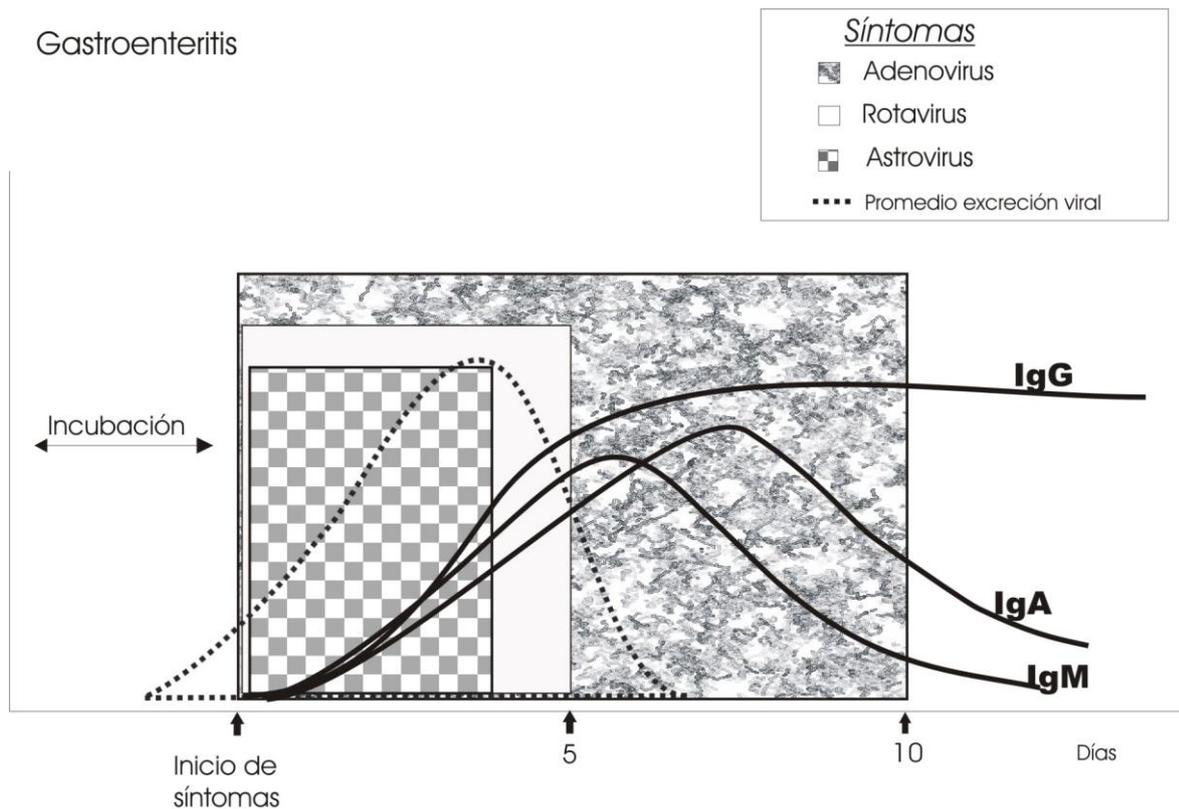
La principal causa de muerte asociada a la diarrea aguda es la deshidratación, la que es consecuencia de la pérdida de fluidos y electrolitos en las deposiciones diarreicas.

Otra causa importante de muerte es la malnutrición, formando un círculo vicioso con la diarrea:



Cada episodio de diarrea contribuye a la malnutrición, cuando los episodios de diarrea son prolongados el impacto en el crecimiento del niño es importante.

4. Cinética de Antígenos y Anticuerpos de la Infección (Figura 7)



5. Diagnóstico Viroológico

* Recolección de la muestra: La muestra de materia fecal debe recolectarse durante el período sintomático de la infección y hasta los 5-7 días de evolución del cuadro.

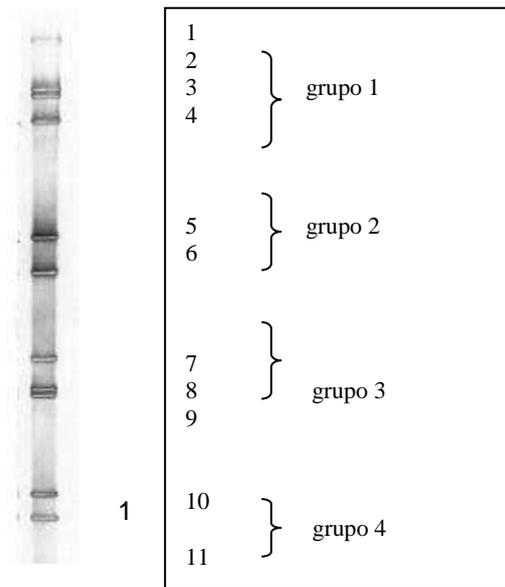
* Muestra a recolectar: Muestra fresca de heces, refrigerada a 4°C o congelada, sin ningún conservante.

Virus	Método	Detección directa
Rotavirus	EIA LA PAGE/SS ME/IME	Antígeno común de grupo (VP6) Antígeno común de grupo rota-adenovirus ARN viral (figura 8) Partículas virales
Adenovirus	EIA EIA LA ME/IME DER (Digestión con enzimas de restricción)	serotipos 40/41 Antígeno común de género de adenovirus humanos Antígeno común de género de adenovirus humanos Partículas virales genotipificación para definir serotipo de adenovirus (figura 9)
Astrovirus	ME/IME EIA PCR	Partículas virales Antígeno común de grupo Genérica de grupo y serotipos
Norovirus	ME/IME EIA PCR	Partículas virales Antígeno Genotipos

Electroforesis en gels de poliacrilamida: Los rotavirus tienen por genoma un ARN segmentado en 11 porciones génicas, cada una de ellas de distinto peso molecular ya que están compuestas por diferente número de kilobases. Esta propiedad es utilizada para el diagnóstico del genoma viral.

Perfil genómico de un rotavirus humano (Fig.8). Corrida electroforética en gel de poliacrilamida, revelada con tinción argéntica. Los 11 segmentos génicos de ARN se separan en 4 grupos, el primero contiene 4 bandas, el segundo 2, el tercero 3 y el cuarto 2.

Figura 8: Perfil electroforético de una muestra positiva para rotavirus.



Genoma de la cepa prototipo de adenovirus 41 cortada con enzima de restricción Sma 1

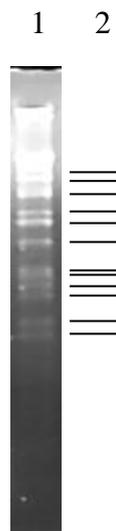


Figura 9: Los adenovirus tienen un genoma de ADN lineal no segmentado. Para el diagnóstico molecular se utilizan enzimas de restricción que cortan el ADN del genoma viral en posiciones determinadas. Los fragmentos de ADN que se generan son separados electroforéticamente, generando para cada serotipo viral de adenovirus un perfil genómico particular. En la figura 3 se observa el perfil genómico de la cepa de adenovirus entérico serotipo 41 corrido en un gel de agarosa y teñido con bromuro de etidio (1). Este perfil fue generado por los cortes de la enzima de restricción *Sma I*. Al costado de la fotografía se muestra el esquema del electroferograma de la cepa de adenovirus entérico 41(2).

Detección indirecta: La detección de anticuerpos no se utiliza para el diagnóstico.

Características de los ensayos empleados para el diagnóstico de las gastroenteritis virales

Técnica	Sensibilidad	Especificidad	Costo	Complejidad	Rapidez
ME	+++	++++	++++	++++	+++
IME	++++	++++	++++	++++	++
EIA	++++	+++	+++	++	+++
LA	++	++	+	+	++++
PAGE	+++	++++	++	++	++
DERA	+++	++++	++++	++++	+
PCR	++++	+++	+++	+++	++

6. Prevención y Tratamiento.

Prevención

Promoción de la alimentación adecuada: Lactancia materna exclusiva durante los primeros 6 meses de vida y parcial hasta los 2 años de edad. Prácticas adecuadas del destete.

Uso de agua potable.

Higiene personal y doméstica, lavado de manos.

Asistencia primaria de la salud:

- * Programas de rehidratación oral.
- * Agentes de salud (atención primaria).
- * Educación sanitaria (poblaciones en riesgo).

Mejorar condiciones del medio ambiente:

- * Agua potable.
- * Adecuada eliminación de heces y especialmente de los pañales con deposiciones.

Vacunas: Desde el año 2006 están disponibles en el mercado 2 vacunas antirotavirales, a virus vivo atenuado, 1 monovalente humana G1P[8] y otra pentavalente G1, G2, G3, G4 P[8]. Estas vacunas no están incluidas en el calendario de vacunación oficial.

VACUNAS ANTI-ROTAVIRUS		
Características	Pentavalente recombinante humana-bovina atenuada	Monovalente humana atenuada
Cepa	WC3	RIX4414
Serotipos	G1, G2, G3, G4 y P[8]	G1 P[8]
Vía de administración	oral	oral
Esquema	4-10 semanas entre dosis	4-8 semanas entre dosis
Nº de dosis	Tres	Dos
Respuesta de la vacuna	No se replica bien en el intestino, por lo que necesita más dosis, poca protección cruzada frente a otros serotipos	Se replica en intestino y confiere protección cruzada natural frente a los serotipos G2, G3 y G4 (50% protegidos después de la 1 dosis)
Nivel socioeconómico de la población estudiada	Alto	Medio-bajo
Nº de pacientes	68.038	63.225
Reducción de la hospitalización por rotavirus	95,8 %.	85 %
Reducción de la hospitalización de GEA * grave por rotavirus	98 %	84,8 %

Tratamiento

Hidratación: La terapia de rehidratación oral con una solución de glucosa y electrolitos (SRO) es adecuada en la mayoría de los casos. Cuando la deshidratación es grave, se necesitan en un principio líquidos por vía intravenosa, pero se debe administrar además sales de rehidratación oral tan pronto como el enfermo pueda beber.

Control y Eliminación

Las gastroenteritis virales no están bajo programas de control ni de eliminación en la Argentina.

Nota: Todas las ilustraciones y fotografías a excepción del esquema topográfico de la partícula de adenovirus son propiedad del Laboratorio de Gastroenteritis Virales, Instituto de Virología "Dr. J.M. Vanella" Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Córdoba.

Bibliografía

1. Infections of the Gastrointestinal Tract. Martin J. Blaser y col. Section 2: Viral Infections 967-1055. Raven Press, Ltd. New York 1995.
2. Virology. Bernard N. Fields y col Vol 1 Part II 783-824. Vol 2 1553-1708. Lippincott-Raven Publishers. 1996.
3. Virología Médica. Guadalupe Carballal y José R. Oubiña. Segunda edición, 1996. Cap.15: 281-294, Cap 20:339-350.
4. The epidemiology of acute viral gastroenteritis in hospitalized children in Córdoba city, Argentina: An insight of disease burden. Miguel O. Giordano, Leonardo J. Ferreyra, María B. Isa, Laura C. Martinez, Silvia I. Yudowski & Silvia V. Nates. Revista Instituto Medicina tropical Sao Paulo. 43(4):193-197, July-August, 2001.
5. Childhood astrovirus-associated diarrhea in the ambulatory setting in a public hospital in Cordoba City, Argentina. Miguel O. Giordano, Laura C. Martinez, María B. Isa, Mirtha Paez Rearte, Silvia V. Nates. Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo – Vol 46(2):93-96, Marzo- Abril, 2004.
6. Distribution of group A human rotavirus G9 genotype circulating in Córdoba, Argentina, as early as 1980. Barril Patricia A., Martínez Laura C., Giordano Miguel O., Castello Alejandro A., Rota Roxana P., Isa María Beatriz, Masachessi Gisela, Ferreyra Leonardo J., Glikmann Graciela, Nates Silvia V. Journal of Medical Virology, 2006, 78 (8) 1113-8.
7. Anticipating rotavirus vaccines: review of epidemiologic studies of rotavirus diarrhea in Argentina. Jorge A Gomez, Silvia Nates, Nelda R de Castagnaro, Carlos Espul, Ana Borsa and Roger I. Glass. Pan Am J Public Health 3 (1), 69-77, 1998.
8. Candidate adenovirus 40 and 41: Fastidious adenoviruses from human infant stool. Jong J.G., Wigand, A.H., Kidd G. y col. J. Med Virol 11:215-231 (1983).