

CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS Y MICROBIOLÓGICAS DE LAS GASTROENTERITIS POR ASTROVIRUS

Alicia Sánchez-Fauquier¹, Enriqueta Roman², Javier Colomina³ e Isabel Wilhelmi⁴

¹Servicio de Virología, Centro Nacional de Microbiología, Instituto de Salud Carlos III, Majadahonda, Madrid. ²Servicio de Pediatría, Hospital de Fuenlabrada, Leganés, Madrid. ³Servicio de Microbiología, Hospital de La Ribera, Alzira, Valencia. ⁴Servicio de Microbiología Hospital Severo Ochoa, Leganés, Madrid

Los astrovirus se identificaron por primera vez en 1975 mediante microscopía electrónica en las heces de niños con diarrea. Fueron inicialmente descritos por Madeley y Cosgrove como virus pequeños (28 nm), redondos y con un aspecto característico de estrella de cinco o seis puntas, presente en aproximadamente el 10% de las partículas víricas; dicho aspecto determinó su nombre, procedente del griego *astron* o estrella. También se han observado partículas virales similares en las heces diarreicas de gran número de mamíferos y aves; en ánaes, incluso se han asociado a casos de hepatitis fulminante. La infección por astrovirus parece darse de forma específica en cada especie y, en el momento actual, no hay un modelo animal para estudiar la enfermedad en humanos. Aunque inicialmente no se consideró una causa importante de gastroenteritis aguda, en los últimos años han llegado a ser considerados como la segunda causa de gastroenteritis viral en los niños. Estudios serológicos recientes también han demostrado que más del 90% de los niños muestran infección previa a la edad de seis años.

SITUACIÓN TAXONÓMICA Y ASPECTOS MORFO-ESTRUCTURALES

En 1993 se estableció la familia *Astroviridae* dentro de los virus ARN. Esta familia comprende virus humanos y animales, y se divide actualmente en dos géneros. El género *Mamastrovirus* lo componen virus humanos, felinos, ovinos, porcinos y bovinos, mientras que el género *Avastrovirus* incluye astrovirus de pavos, patos y el virus de la nefritis aviar. Recientemente se ha comprobado que la morfología y el tamaño de los astrovirus son diferentes a lo descrito inicialmente. En los últimos años se ha demostrado que los astrovirus habitualmente presentan una apariencia icosaédrica, miden 41 nm de diámetro y tienen espículas bien definidas (Figura 1A), similar a la que se observa cuando se obtienen pseudopartículas virales (*Viral Like Particles*) de astrovirus. Sin embargo, la morfología viral parece ser muy dependiente del pH, ya que cuando éste es elevado presentan la típica morfología de estrella descrita inicialmente en muestras clínicas (figura 1B).

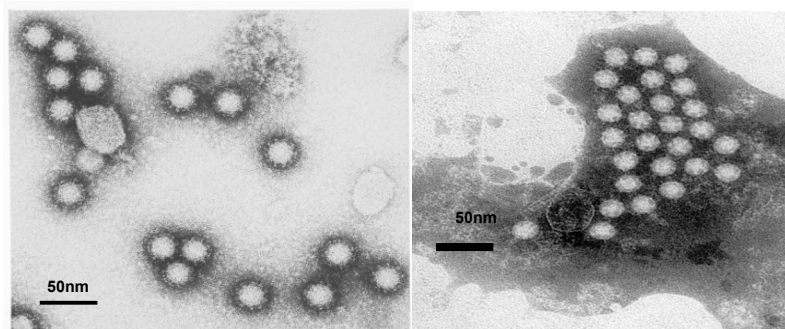


Figura 1. Astrovirus al microscopio electrónico. En la figura de la izquierda (1A), procedente de cultivos celulares, es visible un contorno de espículas en la mayoría de los viriones y no se observan partículas con forma de estrella. En la figura de la derecha (1B), se observan astrovirus procedentes de muestras clínicas con partículas de 28 nm con la típica morfología de estrella.

GENOMA Y PROTEÍNAS VIRALES

El genoma de los astrovirus está constituido por una cadena sencilla de ARN de polaridad positiva. Este ARN es poliadenilado y tiene tres secuencias de lectura abierta [*open reading frames*, (*ORF*)]. Las secuencias *ORF1a* y *ORF1b*, localizadas en los extremos 5', codifican proteínas no estructurales, concretamente una serin-proteasa y una polimerasa de ARN dependiente de ARN, respectivamente, implicadas en la replicación viral. La *ORF2*, localizada en el extremo 3', codifica una poliproteína de 87 kD que, por proteólisis, da lugar, al menos, a tres proteínas estructurales (VP26, VP29 y VP32) componentes de la cápside del virus. Aunque la estructura proteica de los astrovirus no es todavía bien conocida, estudios con anticuerpos monoclonales sugieren que la VP26 y/o la VP29 pueden ser importantes en la neutralización viral, la inmunidad heterotípica y la unión del virus a las células diana. Además, estas proteínas estructurales, especialmente la VP26, parecen ser las responsables de la variación antigénica observada entre los distintos serotipos.

CLASIFICACIÓN DE LOS ASTROVIRUS

Mediante técnicas de inmunomicroscopía electrónica e inmunofluorescencia, las distintas cepas de astrovirus humanos pueden clasificarse en serotipos. Hasta la fecha, se han descrito diversos serotipos, los cuales presentan un antígeno de grupo común y ninguno parece tener reactividad cruzada con ninguna cepa animal descrita. Por lo tanto, la infección por astrovirus parece darse de forma específica en cada especie, lo que dificulta la existencia de un modelo animal para estudiar la enfermedad en humanos. También se ha desarrollado una clasificación en genotipos según la secuencia de los nucleótidos de una región de 348 pb del *ORF2*, comprobándose una buena correlación entre genotipo y serotipo. Se han descrito ocho serotipos-genotipos, y los estudios de variación genética realizados recientemente sugieren la existencia de subtipos dentro de cada uno de ellos. Actualmente, el serotipo-genotipo más frecuentemente detectado en la mayoría de estudios realizados es el serotipo 1, con porcentajes que van del 45% al 92% según el país de estudio. El segundo serotipo más frecuente es el 2, habiendo sido identificado en un estudio en Méjico en el 35% de las cepas. Esta distribución concuerda con la observada en España, en donde el serotipo 1 ha sido detectado en un 64% de los casos, seguido de los serotipos 2 (21%) y 3 (7%).

TRANSMISIÓN

Estudios realizados con voluntarios adultos han establecido que la transmisión de la infección es principalmente por vía fecal-oral. En heces de niños infectados, se ha detectado excreción viral hasta dos semanas antes del comienzo de los síntomas, con cifras máximas coincidiendo con la diarrea. Mediante técnicas de ensayo de inmunoenzima (EIA) y amplificación RT-PCR se ha determinado una duración media de la excreción viral de 1,5 y 4 días, respectivamente, aunque se detectan incluso 35 d después del inicio de la enfermedad. En los brotes epidémicos se ha comprobado la diseminación persona-persona, mientras que la transmisión por aguas residuales, o alimentos como las ostras, es controvertida. También se ha publicado sobre la supervivencia de astrovirus en el agua potable, lo que tendría una importancia sanitaria. La importancia de la infección nosocomial en la diarrea por astrovirus plantea también, como en el caso de los rotavirus, la posibilidad de la transmisión aérea.

PATOGENIA Y FISIOPATOLOGÍA

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 aclaran 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.

MORBILIDAD Y MORTALIDAD

La mejoría en los métodos diagnósticos ha representado un cambio drástico en los conocimientos sobre la epidemiología de la gastroenteritis por astrovirus. En los estudios iniciales con microscopía electrónica se detectaban astrovirus en menos del 1% de niños con diarrea. La baja incidencia y la levedad del cuadro clínico asociado, hacía difícil implicar a este agente como causante del proceso diarreico. El desarrollo y uso de anticuerpos monoclonales ha demostrado que los astrovirus son una causa frecuente de diarrea en niños de todo el mundo.

El primer estudio controlado, con detección del virus por EIA, fue realizado en niños tailandeses menores de cinco años, detectándose astrovirus en el 9% de los casos y en el 2% de los controles; con ello quedaba demostrado el papel etiológico de este agente en la diarrea infantil. Los análisis transversales de detección de astrovirus en niños hospitalizados por gastroenteritis confirman su distribución mundial, con leves diferencias entre países en desarrollo e industrializados. Se ha detectado astrovirus en el 2-11% de las diarreas infantiles ingresadas en diversos países de los continentes asiático y sudamericano. En países desarrollados, distintos estudios aportan incidencias algo menores que van del 2,5% al 4%. Los estudios prospectivos en niños de la comunidad, ofrecen mayores prevalencias. En Méjico y Guatemala, durante los primeros años de vida, las tasas de infección son variables, del 5% y 39% respectivamente. En un estudio longitudinal realizado en Finlandia, se encontraron astrovirus en el 9,5% de los casos de diarrea observados en los dos primeros años de vida.

En nuestro país se dispone de escasa información sobre la incidencia de astrovirus. En un reciente estudio realizado en 822 niños menores de cuatro años con diarrea, los astrovirus fueron detectados en el 11,5% de los casos, lo que significa que son los segundos productores de gastroenteritis vírica en nuestro medio después de los rotavirus. También se ha determinado su importancia como agente etiológico en brotes de diarrea, en lugares como guarderías o unidades de hospitalización de lactantes, habiéndose registrado tasas de infección del 34% mediante técnica de EIA, y del 89% mediante RT-PCR. En otros estudios, las técnicas moleculares han permitido confirmar que los astrovirus están asociados a brotes de diarrea en el 20-40% de los episodios diarreicos detectados.

Un factor que dificulta el establecer el papel real de este agente en la diarrea del niño pequeño es el hecho de su frecuente asociación a otros enteropatógenos, principalmente otros agentes virales. En un estudio realizado en España durante la temporada 1996-97 en niños menores de cuatro años con gastroenteritis, se detectaron un 5% de coinfecciones, en las cuales rotavirus fue el principal agente vírico asociado (74% de los casos), seguido de astrovirus (59%). Diversos estudios de seroprevalencia demuestran una alta frecuencia de exposición e infección por astrovirus. La temprana adquisición y la alta prevalencia de anticuerpos existente, apoya la hipótesis de un gran número de infecciones asintomáticas, como se ha demostrado en los estudios longitudinales de cohortes. Plantea, además, la necesidad de métodos de diagnóstico más sensibles en muestras fecales.

ASPECTOS CLÍNICOS

La enfermedad atribuida a astrovirus consiste, principalmente, en la instauración aguda de diarrea, malestar, cefalea, náuseas, vómitos e hipertermia leve. El cuadro clínico típico es autolimitado, con una duración de 1-5 días. Los episodios pueden ser esporádicos o presentarse en forma de brotes. Se han descrito casos de diarrea prolongada asociada a eliminación fecal de virus; en un estudio reciente en Bangladesh, se detectaron astrovirus en el 15% de los cuadros de diarrea persistente estudiados. Clínicamente, la gastroenteritis por astrovirus es más leve que la producida por rotavirus, principalmente en cuanto a la menor duración de la diarrea y menor incidencia de fiebre y vómitos, lo que se traduce también en una mayor frecuencia de detección en pacientes ambulatorios que en los que precisan hospitalización. La necesidad de ingreso hospitalario en niños con gastroenteritis por astrovirus se ha cifrado en 1-2% de los pacientes atendidos por ese motivo. La mortalidad atribuible a esta enfermedad es prácticamente nula, aunque se ha comunicado algún caso aislado.

El periodo de incubación se ha establecido, según los datos de estudios en voluntarios adultos, en 3-4 días, aunque podría ser de 24-36 h según otros estudios. La enfermedad se manifiesta, sobre todo, en niños en los tres primeros años de edad, con una mayor frecuencia entre los seis y los 18 meses de vida. La historia natural de la enfermedad es menos conocida que en el caso de rotavirus. Aunque se creía que la mayoría de infecciones por astrovirus eran sintomáticas los estudios de cohortes han demostrado hasta un 24-74% de infecciones asintomáticas.

Hay una clara disminución de la enfermedad diarreica por astrovirus a partir de la edad infantil. La ingestión de filtrados de heces con astrovirus por adultos voluntarios produce enfermedad muy infrecuentemente, lo que sugiere una menor patogenicidad del virus en estas edades. Los adultos que experimentan episodios de gastroenteritis por este virus suelen hacerlo en el contexto de brotes en guarderías y otros centros infantiles, sugiriendo una exposición mucho mayor de lo habitual. También se han observado brotes de diarrea aguda por astrovirus en residencias de ancianos. Además, hay un aumento de la susceptibilidad en los inmunocomprometidos, en los que existe una eliminación viral más prolongada. Los astrovirus han sido uno de los microorganismos más frecuentemente detectados en los pacientes con infección por VIH y diarrea.

El análisis de la distribución temporal de las infecciones revela que, en los climas templados, la mayoría de las infecciones por astrovirus, de forma similar a los rotavirus, se detectan en invierno, mientras que en los climas más tropicales se objetivan durante todo el año, con un ligero predominio en la estación de lluvias. Otras características diferenciales de astrovirus con respecto a otros virus productores de gastroenteritis se exponen en la tabla 1.

INFECCIÓN NOSOCOMIAL

Diversos estudios han determinado la importancia de la infección nosocomial en la diarrea por astrovirus. 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.

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.

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 indican que aquellas personas con niveles detectables de anticuerpos no desarrollan diarrea con la ingesta viral.

No obstante, a pesar del avance en el conocimiento de la epidemiología y biología molecular, se sabe poco sobre su antigenicidad y determinantes de inmunidad de los astrovirus. Hasta la fecha, se han descrito cuatro anticuerpos monoclonales neutralizantes, desarrollados por Sánchez-Fauquier *et al* frente a astrovirus humano del serotipo 2 y por Bass *et al* frente a astrovirus del serotipo 1. Todos reaccionan con la proteína de la cápside VP26, implicada en la neutralización de los astrovirus humanos.

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.

DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO

- **Microscopía electrónica (ME):** fue el método diagnóstico inicialmente utilizado en muestras clínicas. A pesar de que los pacientes con diarrea por astrovirus eliminan gran cantidad de partículas víricas, sólo un pequeño porcentaje (10%) aparecen con la morfología característica. Por ello, mediante esta tecnología, un número indeterminado de casos podría permanecer sin diagnosticar o ser indebidamente clasificado.
- **Enzimoimmunoanálisis (EIA):** en 1988, Hermann *et al* obtuvieron el primer anticuerpo monoclonal frente a astrovirus humano serotipo 1 que reconocía un antígeno de grupo compartido por los diferentes serotipos. Ello permitió la elaboración de un método de EIA para capturar el antígeno viral presente en las heces. Esta técnica resultó ser 10-100 veces más sensible que la ME y permitía su aplicación a un gran número de muestras. Posteriormente, se describió un segundo anticuerpo monoclonal para la detección del antígeno de grupo, siendo utilizado en diversos estudios de infección nosocomial. Desde 1999 existe un EIA comercial (IDEIA™ Astrovirus, Dako Diagnostics) que utiliza anticuerpos monoclonales para la detección del de astrovirus antígeno en las heces. Esta técnica muestra buena correlación, sensibilidad y especificidad en comparación con la ME, aunque su sensibilidad es inferior cuando se compara con las técnicas de RT-PCR.

- **RT-PCR:** el conocimiento de la secuencia del genoma de los astrovirus humanos ha permitido el desarrollo de técnicas moleculares. Estos métodos son más sensibles que los EIA y se han usado para la confirmación de resultados ambiguos o para la detección de falsos negativos, aunque por su laboriosidad no es habitual utilizarlos para el despistaje de la infección. El genotipado de las cepas de astrovirus aisladas en las muestras clínicas se realiza, comúnmente, por métodos de RT-PCR y posterior secuenciación.
- **Cultivo celular:** todavía persiste bastante dificultad en el aislamiento y propagación de astrovirus en cultivos celulares. Esta dificultad es patente incluso en laboratorios de gran prestigio internacional, en los que la mayoría de las cepas aisladas a partir de muestras clínicas no se pueden propagar más de 2-3 pases. Actualmente, es posible aislarlo en la línea CaCo-2 de carcinoma de colon.

TRATAMIENTO Y PREVENCIÓN

Como en el resto de gastroenteritis virales, no existe tratamiento específico para la enfermedad. Una vez más, en los casos con una pérdida considerable de líquidos, a través de las heces o vómitos, es importante la reposición de fluidos, así como la realimentación precoz.

Un aspecto primordial prevención de la enfermedad es la interrupción de la transmisión. Esto es fundamental en hospitales y centros de cuidados de niños pequeños, lo que implicaría reforzar las medidas de higiene y lavado de manos, así como el uso de desinfectantes adecuados. El diseño futuro de vacunas exige en la actualidad un mayor conocimiento de la antigenicidad y de la respuesta inmune que produce.

BIBLIOGRAFIA

- BASS DM, UPADHYAYULA U. Characterization of human serotype 1 astrovirus-neutralizing epitopes. *J Virol* 1997; 71:8666-8671.
- COHEN MB, LANEY DW. Infectious diarrhea. En: Wyllie R, Hyams JS (eds). *Pediatric gastrointestinal disease: pathophysiology, diagnosis, management*. Philadelphia: W.B. Saunders, 1999; pp 348-370.
- DALTON RM, ROMÁN ER, NEGREDO AA, *et al*. Astrovirus acute gastroenteritis among children in Madrid, Spain. *Pediatr Infect Dis J* 2002; 21:1038-1041.
- DALTON RM, PASTRANA EP, SÁNCHEZ-FAUQUIER A. Vaccinia virus recombinant expressing an 87-kilodalton polyprotein that is sufficient to form astrovirus-like particles. *J Virol* 2003; 77:9094-9098.
- EIROS J, BACHILLER M, ORTIZ R. Astrovirus in the etiology of pediatric gastroenteritis. *An Pediatr* 2003; 58:196-197.
- GAGGERO A, O'RYAN M, NOEL JS *et al*. Prevalence of astrovirus infection among Chilean children with acute gastroenteritis. *J Clin Microbiol* 1998; 36:3691-3693.
- KOOPMANS MPG, BIJEN MHL, MONROE SS *et al*. 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.

- MADELEY CR, COSGROVE BP. 28 nm particles in faeces in infantile gastroenteritis. *Lancet* 1975; 2:451-452.
- MALDONADO Y, CANTWELL M, OLD M *et al*. Population-based prevalence of symptomatic and asymptomatic astrovirus infection in rural mayan infants. *J Infect Dis* 1998; 178:334-339.
- MATSUI SM, GREENBERG HB. Astroviruses. En: Fields BN, Knipe DM, *et al* (eds). *Fields Virology*, 3ª ed. Philadelphia: Lippincott-Raven Press, 1996; pp 811-824.
- MCIVER CJ, PALOMBO EA, DOULTREE JC, *et al*. Detection of astrovirus gastroenteritis in children. *J Virol Method* 2000; 84:99-105.
- MÉNDEZ E, SALAS-OCAMPO E, ARIAS C. Caspases mediate processing of the capsid precursor and cell release of human astroviruses. *J Virol* 2004; 78:8601-8608.
- MITCHELL DK, MATSON DO, JIANG X *et al*. Molecular epidemiology of childhood astrovirus infection in child care centers. *J Infect Dis* 1999; 180:514-517.
- MUSTAFA H, PALOMBO EA, BISHOP RF. 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.
- PANG XL, 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.
- PETRIC M, TELLIER R. Rotaviruses, caliciviruses, astroviruses and other diarrheic viruses. En: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC (eds). *Manual of Clinical Microbiology* (8th). Washington: ASM Press, 2003; pp 1439-1451.
- PUTZKER M, SAUER H, KIRCHNER G, *et al*. Community acquired diarrhea –the incidence of astrovirus infections in Germany. *Clin Lab* 2000; 46:269-273.
- ROMAN E, WILHELMI I, COLOMINA J, *et al*. Acute viral gastroenteritis: proportion and clinical relevance of multiple infections in Spanish children. *J Med Microbiol* 2003; 52:435-440.
- SHASTRI S, DOANE AM, GONZALES J, *et al*. Prevalence of astroviruses in a children´s hospital. *J Clin Microbiol* 1998; 36:2571-2574.
- TREANOR JJ, DOLIN R. Astroviruses, toroviruses, and picobirnaviruses. En: Mandell GL, Bennet JE, Dolin R (eds). *Principles and practice of infectious diseases* (5th). New York: Churchill Livingstone, 2000; pp 1956-1958.

Tabla 1. Características diferenciales de los virus productores de gastroenteritis.

	Rotavirus	Adenovirus	Astrovirus	Calicivirus
Incidencia (5 primeros años)	7-60% ^a ; 20-60% ^b	2-8%	2-11%	3-20%
Principales serotipos	G1, G2, G3, G4	40-41	1 y 2	Genogrupo II
Edad predominante	6-24 meses	6-12 meses	6-18 meses	6-24 meses
Meses de mayor incidencia	Meses fríos	Sin distribución	Meses fríos	Meses fríos
Periodo de incubación	1-3 días	3-10 días	3-4 días	1-2 días
Curso de la enfermedad	Agudo	Agudo	Agudo	Agudo
Síntomas mas frecuentes	Diarrea	Diarrea	Diarrea	Diarrea
	Fiebre	Fiebre	Vómitos	Náuseas
	Vómitos	Vómitos	Cefalea	Vómitos
	Dolor abdominal		Fiebre	Dolor abdominal
Duración de la diarrea	5-7 días	4-11 días	1-5 días	1-3 días
Duración de la excreción viral	10 días	7-15 días	1-4 días	7-10 días
Grado de deshidratación	Moderado-grave	Leve	Leve	Moderado
Grado de hospitalización	Moderado	Leve	Leve	Leve-moderado
Gravedad global	Moderada-grave	Leve	Leve	Leve-moderado
Casos de infección nosocomial	20-50%	40%	25-50%	60-75%

^aPacientes ambulatorios; ^bpacientes hospitalizados.