

## Capítulo 8

# LA ETIOLOGIA VIRAL DE LAS DIARREAS

LEONARDO J. MATA \*

DURANTE AÑOS, muchos investigadores se esforzaron por buscar explicaciones etiológicas de las diarreas denominadas no-bacterianas o no-específicas, las cuales presentan como casos aislados, pequeños brotes o epidemias de considerable magnitud.

En la práctica diaria, aun cuando la metodología empleada sea diversa y compleja, los estudios no demuestran ningún agente parasitario o bacteriano en el 60 a 80 por ciento de los casos. Los posibles agentes etiológicos que comúnmente se observan son las shigelas, salmonelas, *Escherichia coli* enteropatógena, *Giardia lamblia*, *Entamoeba histolytica* y algunos otros de reconocido potencial patógeno.

La caracterización reciente de cepas de *Escherichia coli* y otros tipos bacterianos con capacidad invasiva de la mucosa o capaces de liberar exotoxinas ha venido a completar el conocimiento de la etiología de las diarreas, aunque no logra explicar el total de casos que se observa en la población general.

La necesidad de conocer la causa de la mayor proporción de las diarreas ha llevado a los investigadores a tratar de probar la par-

ticipación de los agentes virales. Avances logrados en este sentido pueden categorizarse en tres fases correspondientes a sendas etapas del desarrollo tecnológico en la virología, a saber: a) el período de predesarrollo de los cultivos celulares; b) el período de auge de las técnicas de cultivo de células; c) el desarrollo de la técnica de inmunoelectromicroscopía. Estas etapas se discutirán a continuación.

### PRIMEROS DESCUBRIMIENTOS

Antes de que se lograra establecer cultivos celulares en forma confiable, fácil y a bajo costo por Enders y cols., las primeras investigaciones sobre la etiología viral de las diarreas consistieron en inocular voluntarios -por la vía oral- con filtrados de heces de pacientes con un síndrome diarreico clínicamente bien definido. Los filtrados indujeron una diarrea similar a la que presentaban los pacientes de los cuales se obtuvieron los filtrados fecales. Estos y otros ensayos similares lograron establecer el concepto de la existencia de agentes virales como posible causa de la diarrea; sin embargo, los limitados recursos metodológicos y conocimientos en ese entonces, no permitieron determinar que tipos de virus estaban en juego. Como los

\* Instituto de Investigación en Salud. Universidad de Costa Rica.

agentes no fueron propagados en animales de laboratorio ni en histocultivos, ni fueron visualizados al microscopio electrónico, ni confirmados por técnicas serológicas, no pudo establecerse con certeza su participación etiológica en la causa de la diarrea.<sup>f</sup>

#### LOS ENTEROVIRUS Y ADENOVIRUS

La segunda etapa se desarrolla con el auge de las técnicas de cultivo celular y la virología, que culmina con el aislamiento e identificación de tres poliovirus, más de 30 coxsackievirus y más de 30 echovirus que pronto pasaron a ser sospechosos de causar diarrea. En 1956 Ramos-Alvarez<sup>6</sup> logró aislar enterovirus de la mitad de 56 niños con diarrea de verano en Cincinnati. Los estudios serológicos en muchos de esos niños indicaron una infección viral y manifestaciones clínicas de inicio casi simultáneo, sugiriendo la asociación etiológica de ambos eventos. Tales hallazgos cobraron mucho interés porque la prevalencia de enterovirus en niños sin diarrea de la misma área de estudio era de solo 6 por ciento<sup>7</sup> y de 18 por ciento en niños sanos del área de Veracruz.<sup>f</sup> Esta investigación fue más elaborada desde el punto de vista experimental, lográndose demostrar 2.5 veces más virus en niños con diarrea que en niños testigo. Entre los diversos agentes, los echovirus se aislaron seis veces más frecuentemente a partir de niños con diarrea, una asociación estadísticamente significativa.<sup>9</sup>

Estos estudios pioneros fueron seguidos por una serie de informes importantes en Escocia con la incriminación del echovirus 7 y coxsackievirus A9 como posibles agentes de diarrea<sup>10</sup> y en Nueva York en donde en un brote diarreico en niños prematuros y a término, se logró demostrar la asociación del

echovirus 18 con la diarrea con base en el aislamiento del virus y una conversión serológica.<sup>11</sup> Otros virus incriminados como agentes de la diarrea son el echovirus 11,<sup>12</sup> el coxsackievirus B3,<sup>13</sup> el adenovirus 3,<sup>14</sup> los adenovirus 3 y 4<sup>15</sup> y el adenovirus 7.<sup>17</sup> El papel de estos y otros agentes que se replican en las mucosas respiratoria e intestinal se discutió anteriormente en una revisión más extensa.<sup>P</sup>

Las investigaciones estimularon la búsqueda de una asociación entre enterovirus y adenovirus con la diarrea en países en vías de desarrollo, con resultados poco satisfactorios.<sup>P</sup> Es probable que los enterovirus tengan que ver con la etiología de una parte del total de casos, según los estudios mencionados en países con un nivel alto de saneamiento ambiental. Bajo tales circunstancias, las investigaciones etiológicas son más factibles, no sólo porque esos países poseen la tecnología necesaria, sino porque la muy baja prevalencia de virus entericos en la población general facilita la incriminación de virus en la diarrea. La investigación en países en vías de desarrollo se topa con la dificultad de la alta prevalencia de agentes entericos que enmascaran a otros virus, dificultando así el estudio etiológico.

Para ilustrar, la figura 1 resume la excreción de virus por una cohorte de 45 niños estudiados prospectivamente desde el nacimiento hasta los tres años de vida, mediante cultivos semanales de heces en riñón humano postmortem, amnios humano primario y células HEp-2.<sup>20</sup> Es evidente que los niños del área rural están altamente expuestos a la infección enterica y consecuentemente, excretan virus en forma continua. Así, se hace prácticamente imposible demostrar la participación etiológica de los enterovirus, adenovirus y otros virus en la diarrea infecciosa.

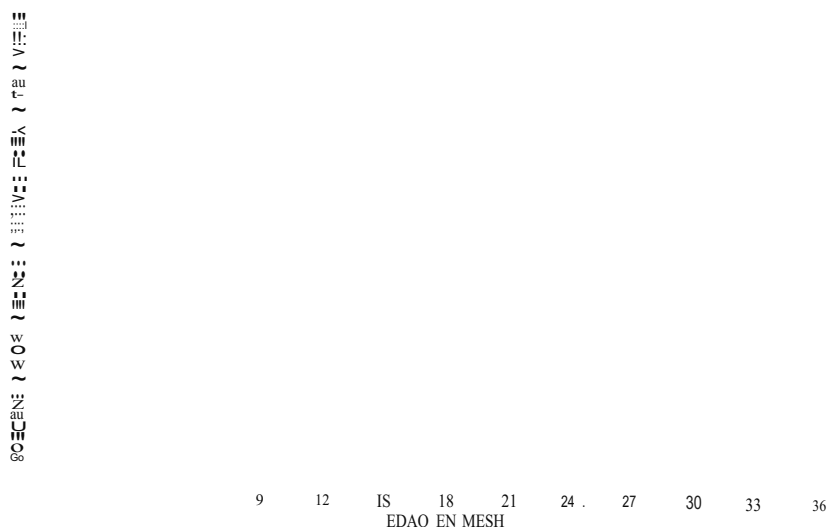


FIG. 1. Excreción (prevalencia) de enterovirus por una cohorte de 45 runos observados durante los tres' primeros años de vida mediante cultivos semanales de las heces. Las tasas de prevalencia se calcularon dividiendo el número de semanas positivas por virus entre el total de muestras examinadas, en cada trimestre de vida. Santa Marla Cauque, 1964-1969.21

#### NUEVOS AGENTES VIRALES DE LA DIARREA

La tercera etapa en el conocimiento sobre la etiología de la diarrea corresponde al desarrollo de la técnica de inmunoelectromicroscopia y a ciertos refinamientos del microscopio electrónico. El descubrimiento que inició este desarrollo consistió en visualizar partículas virales muy similares a los parvovirus y picornavirus en filtrados de heces de pacientes con gastroenteritis aguda no-bacteriana en un brote en Norwalk, Ohio, POI'Kapikian y cols.21

El hallazgo fue factible mediante una técnica consistente en adicionar anticuerpos a las preparaciones virales para estudio en el

microscopio electrónico; la técnica, denominada inmunoelectromicroscopia, fue descrita por Almeida y Vatt'non.22 Los virus observados por Kapikian y cols., tienen un diámetro de 27 nm. La inoculación de voluntarios indujo un cuadro típico de enfermedad en tres de cinco casos del brote, lográndose demostrar también una elevación en la concentración de anticuerpos por la técnica de inmunoelectromicroscopia.21

Poco tiempo después se logró visualizar, mediante la misma técnica, partículas virales similares a reovirus que han sido denominadas, según el investigador, orbivirus, rotavirus, duovirus a virus semejantes a reovirus en material de pacientes en Australia,23

Inglaterra.s! Canada,26 India,~Estados Unidos de Americas? y Rhodesia.s" No existe razon para dudar que tales virus, hoy reconocidos como Orbivirus (familia *Reoviridae*)<sup>29</sup> se encuentren presentes en Mesoamerica y en otros paises en vias de desarrollo.

Bishop y cols.<sup>23</sup> examinaron biopsias duodenales de 9 nifios admitidos con gastroenteritis aguda no bacteriana, demostrando la presencia de orbivirus en 6 nifios. Las particulas no lograron visualizarse en 3 nifios recuperados de la diarrea. Una elevacion de anticuerpos a esos virus fue demostrada mediante la tecnica de inmunoelectromicroscopia. Los virus tienen un diametro de 50 a 64 nm y recientemente han sido propagados en cultivos de organo de intestino fetal humano por Wyatt y cols.<sup>30</sup>

#### COMENTARIO

La ineliminación de los virus en la etiología de la diarrea ha sido difícil, por una parte porque la metodología existente es relativamente complicada, y por otro lado por el hecho de que existen docenas o cientos de agentes infecciosos en el tracto gastrointestinal, muchas veces apareciendo simultaneamente 10 que obstaculiza el establecer la contribución de cada uno.

Ademas, el potencial patogenico de los virus varia ampliamente con el tipo viral, la cepa, y con las características del huésped, siendo que cuando es bajo es mucho mas difícil demostrar una asociación causal con la diarrea.

Los virus descritos en filtrados de heces en la era prehistocultivos no fueron identificados y la información de que se dispone sobre ellos es bastante escasa. Con respecto a los enterovirus y adenovirus --que se aislan facilmente en lineas celulares y en ratos

nes lactantes-- puede decirse que su prevalencia indudablemente contribuye a la alta incidencia de diarrea que se observa en sociedades bajo un ambiente insalubre.

El descubrimiento de nuevos virus mediante la tecnica de inmunoelectromicroscopia y la demostración de esos agentes en mas del 50 por ciento de pacientes con diarrea, ofrece la posibilidad de que sean los causantes principales de la diarrea aguda no especifica.

El diagnostico de la etiología viral de las diarreas solo puede realizarse si existen laboratorios equipados para tal propósito que cuenten con personal idoneo para abordar el problema, una situación que limita el diagnóstico en paises subdesarrollados al menos en el presente y durante los próximos años.

Con respecto al tratamiento, puede indicarse que las diarreas a virus son de manejo relativamente facil, siendo la orientacion hacia la corrección del desequilibrio hidroelectrolitico y otros daños fisiológicos. Estas observaciones, sin embargo, han sido recogidas en sujetos bien nutridos, careciendose de datos sobre la respuesta del huésped desnutrido.

Mientras no se disponga de conocimientos adecuados sobre la contribución de los virus al problema de la diarrea, no podra pensarse en el desarrollo de vacunas. Consecuentemente, la prevención descansa en mejoras substanciales en la higiene personal, higiene de los alimentos, de la vivienda y saneamiento ambiental.

#### BIBLIOGRAFIA

1. Trabulsi, I. R.; Ferraz, M. R. y Zuliani, M. E.: *Novas bacterias patogenicas para o intestino do homem*. Rev. Inst. Med. Trop. (Sao Paulo), 9: 31, 1967.
2. Gorbach, S. L.: *The toxigenic diarrheas*. Hosp. Pract., 8: 103, 1973.
3. Enders, J. F.; Weller, T. H., y Robbins, F. C.: *Cultivation of the Lansing Strain 0/*

- poliomyelitis virus in cultures of various human embryonic tissues, *Science*, 109: 85, 1949.
4. Gordon, I.: *The nonamebic nonbacillary diarrheal disorder*. *Am. J. Trop. Med.*, 4: 739, 1955.
5. Higgins, A. R.: *The case for viral diarrheal disease*. *Am. J. Med.*, 21: 157, 1956.
6. Ramos-Alvarez, M.: *Cytopathogenic enteric viruses associated with undifferentiated diarrheal syndrome in early childhood*. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 67: 326, 1956.
7. Ramos-Alvarez, M. y Sabin, A.: *Characteristics of poliomyelitis and other enteric viruses recovered in tissue culture from healthy American children*. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 87: 655, 1954.
8. Ramos-Alvarez, M. y Sabin, A.: *Intestinal viral flora of healthy children demonstrable by monkey kidney tissue culture*. *Am. J. Public Health*, 46: 295, 1956.
9. Ramos-Alvarez, M. y Sabin, A.: *Enteropathogenic viruses and bacteria. Role in summer diarrheal diseases of infancy and early childhood*. *I.A.M.A.*, 167: 147, 1958.
10. Sommerville, R. G.: *Enteroviruses and diarrhoea in young persons*. *Lancet*, 2: 1347, 1958.
11. Eichenwald, H. F.; Abadio, A.; Argy, A. y Hartman, A.: *Epidemic diarrhea in premature and older infants caused by ECHO virus type 18*. *J.A.M.A.*, 166: 1563, 1958.
12. Klein, J. O.; Lerner, A. M. y Finland, M.: *Acute gastroenteritis associated with ECHO virus type 11*. *Am. J. Med. Sci.*, 240: 749, 1960.
13. Felici, A.; Archetti, I.; Russi, F.; Bellochio, C. y Muzi, F.: *Researches on the epidemic outbreak caused by Coxsackie virus B3 type*. *Riv. Int. Suoterap. Ital.*, 35: 377, 1960.
14. Kjellen, L.; Zetterberg, A. y Svedmyr, A.: *An epidemic among Swedish children caused by adenovirus type 3*. *Acta Paediat.*, 46: 561, 1957.
15. Duncan, I. y Hutchison, J.: *Type 3 adenovirus infection with gastrointestinal symptoms*. *Lancet*, 1: 530, 1961.
16. Van der Veen, J. y Van der Ploeg, G.: *All outbreak of pharyngeal conjunctival fever caused by types 3 and 4 adenovirus at Waalwijk, the Netherlands*. *Am. J. Hyg.*, 68: 95, 1958.
17. Gardner, P. S.; McGreFor, C. B. y Dick, K.: *Association between diarrhoea and adenovirus type 7*. *Brit. Med. J.*, 1: 91, 1960.
18. Berganza, C. E.; Zimeri, D.; Velazquez, T.; Gonzalez, C.; Sigienza, R.; de Leon, R.; Padilla, R.; Borallo, C.; Gaitan, S. y Mata, L. J.: *Significacion de los virus en la etiologia de la diarrea, I y II*. *Rev. Col. Med. (Guatemala)*, 19: 24, 137, 1968.
19. Mata, L. J.; Urrutia, J. J. y Gordon, J. E.: *Diarrhoeal disease in a cohort of Guatemalan village followed from birth to age two years*. *Trap. Geogr. Med.*, 19: 247, 1967.
20. Mata, L. J.; Urrutia, J. J.; Caceres, A. y Guzman, M. A.: *The biological environment in a Guatemalan rural community*. En: *Proceedings of the Western Hemisphere Nutrition Conference*. Futura Pub. Co., Inc. PP. 257-264, 1972.
21. Kapikian, A. Z.; Wyatt, R. G.; Dolin, R.; Thornhill, T. S.; Kalica, A. R. y Chanock, R. M.: *Visualization by immune electron microscopy of a 27-nm particle associated with acute infectious nonbacterial gastroenteritis*. *J. Virol.*, 10: 1075, 1972.
22. Almeida, J. D. y Waterson, A. P.: *The morphology of virus-antibody interaction*. *Advan. Virus Res.*, 15: 307, 1967.
23. Bishop, R. F.; Davidson, G. P.; Holmes, I. H. y Ruck, B. J.: *Virus particles in epithelial cells of duodenal mucosa from children with acute nonbacterial gastroenteritis*. *Lancet*, 2: 1281, 1973.
24. Flewett, T. H.; Bryden, A. S. y Davies, H.: *Virus particles in gastroenteritis*. *Lancet*, 2: 1497, 1973.
25. Bortolussi, R.; Szymanski, M.; Hamilton, R. y Middleton, P.: *Studies on the etiology of acute infantile diarrhea*. *Pediat. Res.*, 8: 379, 1973.
26. Holmes, I. H.; Mathan, M.; Bhat, P.; Albert, M. J.; Swaminathan, S. P.; Maiya, P. P.; Pereira, S. M. y Bakel, S. J.: *Enteroviruses and gastroenteritis*. *Lancet*, 2: 658, 1974.
27. Kapikian, A. Z.; Kim, H. W.; Wyatt, R. G.; Rodriguez, W. J.; Ross, S.; Lee Cline, W.; Parrott, R. H. y Chanock, R. M.: *Rotavirus like agent in stools: Association with infantile diarrhea and development of serologic tests*. *Science*, 185: 1049, 1974.
28. Cruickshank, J. G.; Axton, J. H. M. y Webster, O. F.: *Viruses in gastroenteritis*. *Lancet*, 1: 1353, 1974.
29. Fenner, F.: *International Committee on Taxonomy of viruses. Official names for viral families*. *Am. Soc. Microbiol. News*, 40: 948, 1974.
30. Wyatt, R. G.; Kapikian, A. Z.; Thornhill, T. S.; Sereno, M. M.; Kim, H. W. y Chanock, R. M.: *In vitro cultivation in human fetal intestinal organ culture of a reovirus-like agent associated with non bacterial gastroenteritis in infants and children*. *J. Infect. Dis.*, 130: 523, 1974.