

Artículo

## **Detección de Adenovirus entéricos en infantes con enfermedad diarreica aguda de la ciudad de Chihuahua, México**

Detection of enteric Adenoviruses in infants with acute diarrheal disease in the city of Chihuahua, Mexico

**Miriam Rosario Zermeño-Ortega<sup>1</sup>, Laura Alicia Manjarrez-Nevárez<sup>1</sup>, Reyna Reyes-Martínez<sup>1</sup> y Carmen Myriam De La O-Contreras\*<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Universidad Autónoma de Chihuahua. Facultad de Ciencias Químicas. Circuito Universitario Campus II, Chihuahua, Chihuahua, México, C.P. 31125

\*Correspondencia: Correo electrónico: [cdelao@uach.mx](mailto:cdelao@uach.mx) (Carmen Myriam De La O-Contreras)

**Recibido:** 18 de diciembre 2019; **Aceptado:** 14 de septiembre 2020

Publicado por la Universidad Autónoma de Chihuahua, Dirección de Investigación y Posgrado.

### **Resumen**

El objetivo del estudio fue detectar la presencia de Adenovirus entéricos en muestras de heces de infantes menores de cinco años con enfermedad diarreica aguda (EDA) en la ciudad de Chihuahua, México, en el período de 2004 a 2008 y 2012. Se analizaron un total de 236 muestras de heces diarreicas provenientes de infantes hospitalizados con EDA de la ciudad de Chihuahua, México, con la técnica PCR utilizando los iniciadores Hex1deg y Hex2deg. Se determinaron los serotipos entéricos, en las muestras positivas para Adenovirus, mediante el patrón de las enzimas de restricción HaeIII y HinfI obtenidos de los productos de PCR. Los resultados obtenidos revelaron que el 24 %, de las 236 muestras analizadas fueron positivas para Adenovirus entéricos, de las cuales 22.3 % correspondieron al serotipo 41 y 1.7 % al serotipo 40, con una mayor cantidad de casos en el período invernal. Con este estudio se detectó la presencia de Adenovirus entérico como agente etiológico de EDA en infantes menores de cinco años en la ciudad de Chihuahua, México, en el periodo 2004-2008, además se encontró la presencia de Adenovirus no entéricos sugiriendo su atención en el futuro como agentes causales de EDA.

**Palabras clave:** Adenovirus, gastroenteritis, infecciones, epidemiología, Chihuahua (ciudad), México

### **Abstract**

The objective of the study was to detect the presence of enteric Adenovirus in stool samples of infants under 5 years of age with acute diarrheal disease (ADD) in the city of Chihuahua, Mexico, in the period from 2004 to 2008 and 2012. A total of of 236 diarrheal stool samples from infants hospitalized with ADD from the city of Chihuahua, Mexico, with the PCR technique using the Hex1deg and Hex2deg primers. The enteric serotypes were determined in the samples positive for Adenovirus, using the standard of the restriction enzymes HaeIII and HinfI obtained from the PCR

products. The results obtained revealed that 24% of the 236 samples analyzed were positive for enteric Adenovirus, of which 22.3% corresponded to serotype 41 and 1.7% to serotype 40, with a greater number of cases in the winter period. With this study, the presence of enteric Adenovirus was detected as an etiological agent of ADD in infants under 5 years of age in the city of Chihuahua, Mexico, in the period 2004-2008, in addition the presence of non-enteric Adenovirus was found, suggesting their care in the future as agents, causes of ADD.

**Keywords:** Adenovirus, gastroenteritis, infectious, epidemiology, Chihuahua (city), Mexico.

## 1. Introducción

A nivel mundial, la Enfermedad Diarreica Aguda (EDA) es un problema de salud pública y la segunda causa de mortalidad y morbilidad en la población infantil. Se describe como una de las principales causas de muerte en niños menores de cinco años, se reporta que anualmente 525,000 niños fallecen a causa de diarrea, principalmente en países subdesarrollados (Organización Mundial de la Salud [OMS], 2017).

En México se ha reducido de manera significativa la mortalidad por esta enfermedad, principalmente en menores de cinco años de edad, esto es debido a las acciones y políticas de salud que se han establecido, tales como: la creación de la Comisión Nacional del Agua (CONAGUA), la cual trabaja en brindar una buena calidad en el agua de consumo humano, disminuyendo la transmisión de enfermedades infecciosas a través de ésta, la vacunación contra el sarampión y rotavirus, aplicación de vitamina A y albendazol en las Semanas Nacionales de Salud, promoción de la lactancia materna que ayuda al fortalecimiento inmunológico a corto plazo de los niños para enfrentar procesos infecciosos, gracias a los anticuerpos maternos transferidos, así como, la promoción de terapia de hidratación oral como la estrategia más importante que ha disminuido drásticamente la mortalidad por esta enfermedad. Sin embargo, la EDA en menores de cinco años de edad continua dentro de las 10 principales causas de mortalidad y segunda en morbilidad; además en nuestro país se presentan al año más de 1 millón de casos, afectando principalmente a los niños y niñas menores de un año de edad (Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica / Dirección General de Epidemiología / Secretaría de Salud [SINAVE/DGE/SALUD], 2017; Centro Estatal de Vigilancia Epidemiológica y Control [CEVECE], 2010; Ahmed et al., 2020). La EDA puede ser causada por distintos agentes etiológicos, entre los que se encuentran virus, bacterias, parásitos y hongos (Sirok et al., 2008; Amar et al., 2007; Desselberger U., 2017; DGE, 2020).

Los principales virus causantes de EDA son: Rotavirus, Norovirus, Astrovirus, Sapovirus y Adenovirus (Banga-Míngo et al., 2014; Corcoran et al., 2014; Li et al., 2016; Operario et al., 2017).

Programas de vacunación contra Rotavirus han sido establecidos en 107 países para abril del 2020, estando disponibles en el mercado global cuatro vacunas: Rotarix®, Rotasil®, RotaTeq® y Rotavac® (Rotavirus Organization of Technical Allies [ROTA], 2019 y 2020).

México fue uno de los primeros países en introducir a su esquema de vacunación nacional la vacuna contra Rotavirus, en el 2007 México introduce la vacuna denominada como Rotarix® y en el 2011 la sustituye por la vacuna Rotateq®, lo cual ha llevado a una disminución de la mortalidad por este agente de entre 35 y 55%, y a una disminución de hospitalizaciones de alrededor del 47%. (Reyna-Figueroa et al., 2011; Gastanaduy et al., 2013; Paternina-Cacedo et al., 2015; Sánchez-Uribe et al., 2016). Sin embargo, dicha vacuna no previene gastroenteritis de otra etiología viral, diferente a Rotavirus, y mucho menos bacteriana, viéndose esto reflejado en los datos epidemiológicos sin disminución de EDA en población infantil. Uno de los estudios realizados en nuestra ciudad de EDA encontró una mayor prevalencia de Rotavirus en población pediátrica, por lo que se

considera importante continuar el estudio epidemiológico en la detección de otros virus causantes de dicha enfermedad, esto permitirá recabar datos que lleven a considerar no solo a Rotavirus como principal agente viral causante de EDA en infantes en nuestra comunidad, ayudando así a generar información para que las autoridades correspondientes consideren implementar medidas necesarias para su prevención y control (Hernández et al., 2011; Medina, 2012).

Otro de los agentes etiológicos de EDA, además de Rotavirus, es el género Adenovirus, los cuales son virus de ADN de doble cadena, que tienen un diámetro de 70 a 110 nm, con estructura icosaédrica y carecen de envoltura, tienen un aspecto similar a un satélite artificial, están clasificados en serotipos, existen más de 50 serotipos de Adenovirus, de los cuales los serotipos 40 y 41 son llamados Adenovirus entéricos y por ende están asociados EDA (Collier y Oxford, 2008; International Committee on Taxonomy of Viruses [ICTV], 2011; Harrach et al., 2011).

Los serotipos entéricos causan un cuadro subagudo de diarrea profusa, acuosa y mucosa, con una duración promedio de cuatro días, algunos casos se acompañan de vómito, fiebre, dolor y distensión abdominal por lo que están considerados dentro del grupo de virus medicamente importantes que causan gastroenteritis en infantes (Martina et al., 2013; Bányai et al., 2018; Hassan et al., 2019) siendo los responsables del 12 % de las diarreas en niños hospitalizados en México (Romero, 2007).

Las EDA causadas por virus son un grave problema de salud pública en el país, en donde incluyen consecuencias de índole económico, que se manifiestan principalmente en el nivel de atención primaria, la hospitalización y el costo que representan estos pacientes ya que en la mayoría de los casos el agente causal no se determina, por lo que es importante identificar los agentes causales para brindar el tratamiento adecuado, así como para ayudar a establecer las medidas de prevención y control. En México la incidencia de Rotavirus ha disminuido gracias a la inclusión de la vacuna en la cartilla nacional de vacunación, sin embargo, la EDA en infantes sigue persistiendo, por lo que es necesario rastrear la presencia de otros agentes virales, como Adenovirus entéricos, permitiendo así establecer datos epidemiológicos que ayuden a las autoridades correspondientes a tomar medidas necesarias para su prevención y control. En este estudio se desea detectar ADN de Adenovirus entéricos en infantes menores de cinco años en la ciudad de Chihuahua, como probable agente etiológico de EDA, demostrando la presencia de otros virus que se sumen a los datos epidemiológicos de Rotavirus.

Desde el 2004 en la ciudad de Chihuahua, México, se ha monitoreado la prevalencia de virus causantes de EDA en población pediátrica, donde se ha reportado una incidencia del 14% de Adenovirus causantes de diarreas agudas severas en infantes, principalmente del serotipo 41 durante los años 2010-2011 (Medina, 2012). A partir de lo cual se plantea el siguiente objetivo de este de trabajo: detectar la presencia de Adenovirus entérico en infantes con EDA durante los años 2004- 2008 y 2012 en la ciudad de Chihuahua, México.

## 2. Materiales y métodos

Fueron recolectadas muestras de heces diarreicas de niños entre 0-5 años de edad hospitalizados en Hospital General “Dr. Salvador Zubirán”, Hospital General Regional No. 1 Unidad Morelos del Instituto Mexicano del Seguro Social y el Hospital Infantil de Especialidades, todos ubicados en la ciudad de Chihuahua, México, durante los años 2004-2008 y 2012 (consentimiento firmado por tutores emitido por la Secretaría de Salud titulado “Encuesta Epidemiológica de Casos de Enfermedad Diarreica Aguda”). Se usó como control positivo un constructo viral denominado ADV41, creado y caracterizado con el vector pGEM-T y el gen de la proteína Hexón de Adenovirus serotipo 41 previamente secuenciado por Medina-Soltero en el 2012

(Moreno, 2014). Las muestras de heces analizadas fueron suspendidas en una solución amortiguadora de fosfatos al 20 % para la extracción de ADN utilizando el método por fenol-cloroformo (modificado de Herring et al., 1982). Se realizó PCR para Adenovirus amplificando un segmento que codifica para la proteína Hexón, usando los siguientes iniciadores: Hex 1 deg: 5'-GCCSCARTGGKWCATGACATC-3' (nucleótido 7663-17687), Hex2deg: 5'-CAGCACSCCICGRATGTCAAA-3' (nucleótido 17943-17963). La mezcla de reacción tuvo las siguientes condiciones: amortiguador PCR 1X, MgCl<sub>2</sub> 3 mM, Hex1deg 0.5 μM, Hex2deg 0.5 μM, dNTP's 0.4 mM, Taq polimerasa 1U y un total de 5 μL de DNA extraído por fenol cloroformo. Los tubos de reacción fueron colocados en un termociclador HYBAD PCR Express manteniéndolos a 94° C por tres minutos e inmediatamente después 35 ciclos 94° C 30 s, 55° C 30 s y 72° C 1 min finalizando con un ciclo de 72° C por cinco min (Allard et al., 2001). La visualización del amplicón se realizó en gel de agarosa al 1 % teñido con bromuro de etidio y analizado con el programa KODAK 1D 3.6. Se realizó un análisis con el programa NEBcutter, para determinar el tamaño de los fragmentos de restricción generados en el producto de PCR del control positivo ADV41, para la identificación del serotipo viral 40 y 41 de Adenovirus, usando las enzimas HaeIII y HinfI (Vincze et al., 2003). Se determinó el serotipo de Adenovirus de las muestras que resultaron positivas por enzimas de restricción, HaeIII y HinfI de 10 u/μl marca Promega, bajo el protocolo de digestión directa para productos de PCR Master Mix, usando 25 μl de la reacción de PCR y una concentración final de la mezcla 1X (Promega Corporation, 2011). Los productos de restricción se analizaron en gel de agarosa al 2 % teñido con bromuro de etidio y analizaron con el programa KODAK 1D 3.6. Los resultados obtenidos se analizaron a través de estadística descriptiva, por medio de Excel Office, calculando las frecuencias (%).

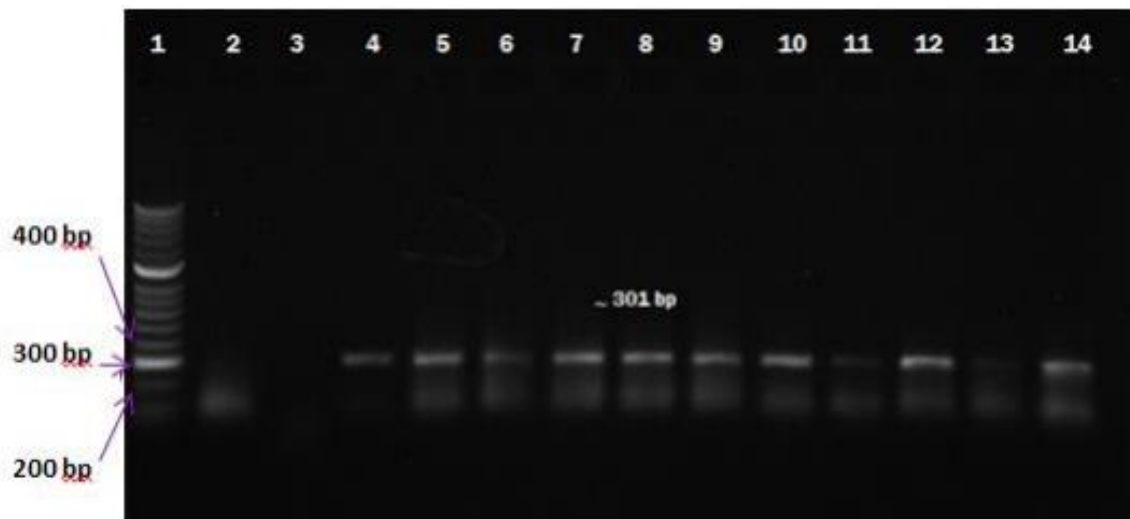
Para identificar si el ADN de Adenovirus correspondía al serotipo 41 en cada una de las muestras positivas, se usó la enzima HinfI, ya que el análisis con el programa NEBcutter de la secuencia nucleotídica del producto de PCR del control positivo ADV41 generó tres fragmentos de restricción: 128, 124 y 55 pb para identificarlo (Vincze et al., 2003). En la Figura 2 puede observarse la obtención del fragmento de restricción de 128 pb en el control positivo ADV41, confirmando que se trata del serotipo 41 el control utilizado.

La prueba con la enzima de restricción HaeIII se usó para aquellos productos de PCR que no fueron cortados por la enzima HinfI, indicándonos entonces el serotipo 40, ya que de acuerdo al programa NEBcutter, tanto el serotipo 40 como el 41 de Adenovirus dicha enzima puede realizar 3 cortes generando 4 fragmentos: 179, 63, 35 y 30 pb (Vincze et al., 2003). Al realizar el procedimiento descrito previamente en metodología, se observó un fragmento de restricción de ~179 pb en el producto de PCR del control positivo ADV41 (Figura 3).

### 3. Resultados y discusión

Se analizaron un total de 236 muestras de heces de niños. En 221 de estas muestras pertenecientes a los años de 2004 a 2008 y 15 muestras del 2012. La detección de Adenovirus por PCR se realizó logrando amplificar un fragmento de ~301 pb que codifica para la proteína hexón de Adenovirus (Allard y col. 2001). De las 236 muestras analizadas se detectó en 74 (31.3%) la presencia del fragmento de ~301 bp del género Adenovirus. De los cuales 71 fueron en el periodo de 2004 a 2008 y 3 en el periodo 2012. En la Figura 1 se muestran algunos resultados, puede observarse un amplicón de ~301 pb en el control positivo (carril 14) y los productos obtenidos de algunas de las muestras analizadas: los carriles 4-13 muestran un resultado positivo para Adenovirus, observándose el producto amplificado ~301 pb, las muestras analizadas son ADN extraído de heces diarreicas de infantes menores de cinco años de diferentes hospitales de la

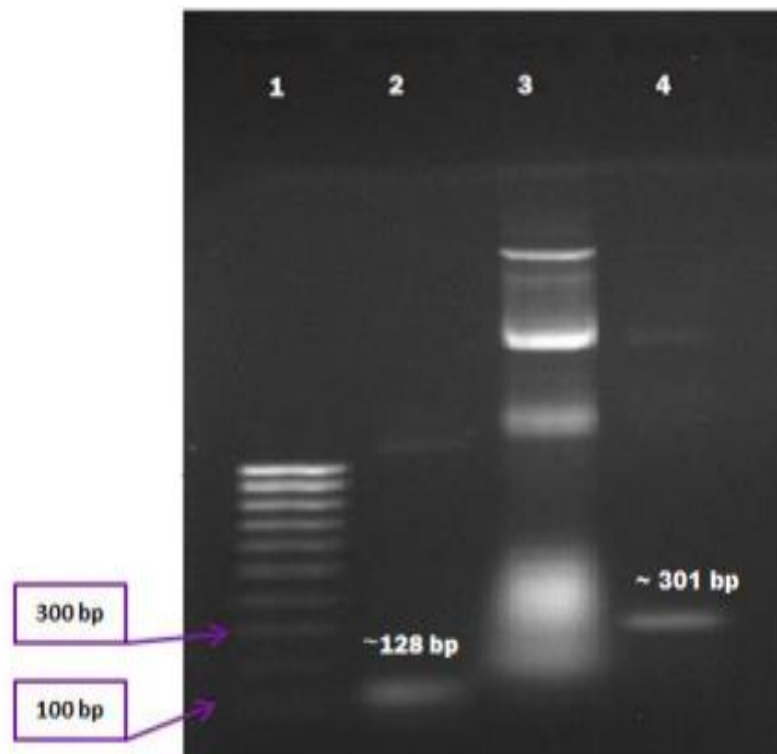
ciudad de Chihuahua, México. En los carriles 11 y 13 podemos ver que la intensidad de la banda observada es menor al resto, sin embargo, no se hizo una cuantificación del amplicón ya que solo es un estudio cualitativo, permitiéndonos identificar un resultado positivo o negativo. En el carril tres observamos una muestra negativa a Adenovirus, debido a la ausencia del producto de amplificación, indicando que en dicha muestra no está presente el ADN de Adenovirus, descartando entonces que este sea el agente causal de la EDA en ese paciente. En algunas figuras puede observarse la presencia de fragmentos de tamaños diferentes además del fragmento esperado, lo que probablemente indique la presencia de isoformas del gen en estudio siendo común debido a la variabilidad genética que los virus pueden presentar (Li et al., 2017).



**Figura 1.** Identificación de la presencia de ADN de Adenovirus en muestras de heces a través de la amplificación del fragmento de ~301 pb del gen de la proteína Hexón de Adenovirus. Electroforesis en gel de agarosa al 1%. Carril 1, Marcador de peso molecular (MPM) Hyperladder II; Carril 2 control negativo sin ADN; Carril 3 resultado de PCR de una muestra de heces negativa a ADN de Adenovirus; Carril 4-13 resultado de PCR de muestras de heces positivas a ADN de Adenovirus; carril 14 control positivo ADV41.

**Figure 1.** Identification of the presence of Adenovirus DNA in stool samples through amplification of the ~301 bp fragment of the Adenovirus Hexon protein gene. 1% agarose gel electrophoresis. Lane 1, Hyperladder II Molecular Weight Marker (MPM); Lane 2 negative control without DNA; Lane 3 PCR result of a stool sample negative for Adenovirus DNA; Lane 4-13 PCR result of stool samples positive for Adenovirus DNA; lane 14 positive control ADV41.

Para identificar si el ADN de Adenovirus correspondía al serotipo 41 en cada una de las muestras positivas, se usó la enzima *HinfI*, ya que el análisis con el programa NEBcutter de la secuencia nucleotídica del producto de PCR del control positivo ADV41 generó tres fragmentos de restricción: 128, 124 y 55 pb para identificarlo (Vincze et al., 2003). En la Figura 2 puede observarse la obtención del fragmento de restricción de 128 pb en el control positivo ADV41, confirmando que se trata del serotipo 41 el control utilizado.

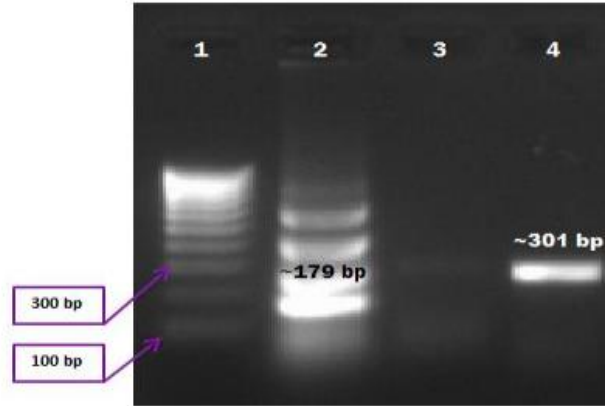


**Figura 2.** Estandarización para identificación de ADN de Adenovirus serotipo 41 mediante la enzima de restricción *Hinfl* en productos de PCR. Carril 1, MPM Hyperladder IV; carril 2, producto de PCR del control positivo ADV21 incubado con *Hinfl*; carril 3, ADN plasmídico procedente de clonas ADV41 sin amplificar incubado con enzima *Hinfl* como control negativo; carril 4 producto de PCR del control positivo ADV21 sin incubar con *Hinfl* como control negativo.

**Figure 2.** Standardization for identification of Adenovirus serotype 41 DNA by the restriction enzyme *Hinfl* in PCR products. Lane 1, MPM Hyperladder IV; lane 2, PCR product of the positive control ADV21 incubated with *Hinfl*; Lane 3, plasmid DNA from unamplified ADV41 clones incubated with *Hinfl* enzyme as negative control; lane 4 PCR product of ADV21 positive control without incubation with *Hinfl* as negative control.

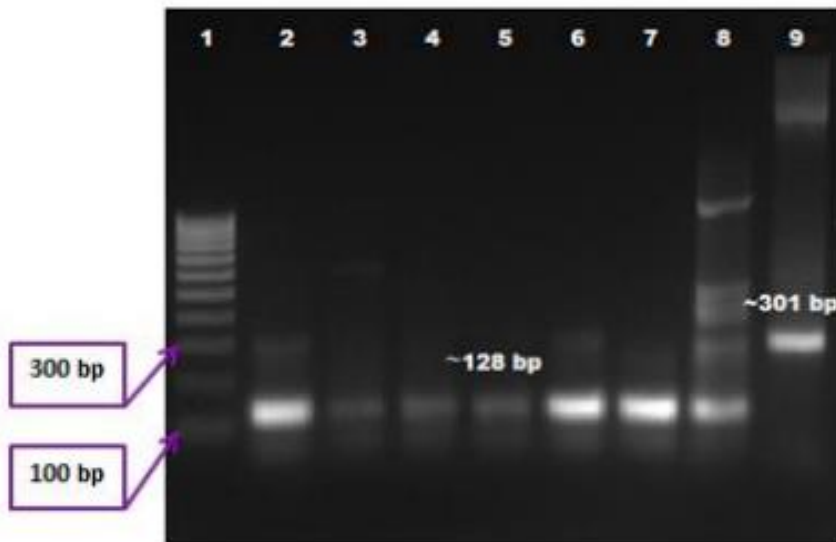
La prueba con la enzima de restricción *HaeIII* se usó para aquellos productos de PCR que no fueron cortados por la enzima *Hinfl*, indicándonos entonces el serotipo 40, ya que de acuerdo al programa NEBcutter, tanto el serotipo 40 como el 41 de Adenovirus dicha enzima puede realizar 3 cortes generando 4 fragmentos: 179, 63, 35 y 30 pb (Vincze et al., 2003). Al realizar el procedimiento descrito previamente en metodología, se observó un fragmento de restricción de ~179 pb en el producto de PCR del control positivo ADV41 (Figura 3).

El análisis con las enzimas de restricción indicó que de las 74 muestras positivas por PCR a Adenovirus, 52 (70.3 %) muestras fueron positivas para Adenovirus 41 (Figura 4) y 4 (5.4 %) para Adenovirus 40 (Figura 5), mientras que 15 (20.3 %) muestras fueron otro serotipo de Adenovirus, ya que fueron positivas a la amplificación por PCR, sin embargo las enzimas de restricción no generaron fragmentos con los tamaños indicados, hay reportes que muestran la detección de Adenovirus no entéricos en pacientes pediátricos con EDA (Portes et al., 2016; Avilés, 2017; Kumthip et al., 2019).



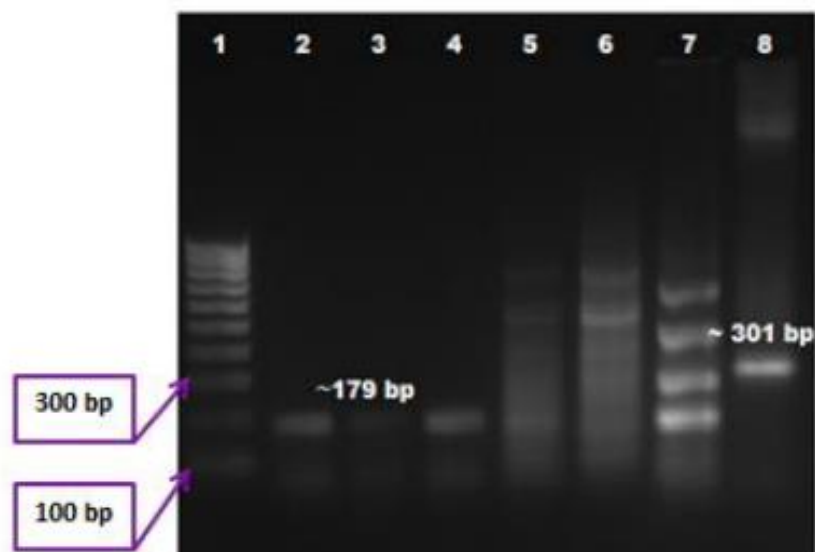
**Figura 3.** Estandarización para identificación de ADN de Adenovirus serotipo 40 mediante la enzima de restricción HaeIII en productos de PCR. Carril 1, MPM Hyperladder IV; carril 2, carril 2, producto de PCR del control positivo ADV21 incubado con HaeIII; carril 3, mezcla de reacción de PCR proveniente de una muestra negativa a Adenovirus incubada con la enzima HaeIII como control negativo; carril 4 carril 2, producto de PCR del control positivo ADV21 sin incubación con la enzima HaeIII como control negativo.

**Figure 3.** Standardization for identification of Adenovirus serotype 40 DNA by restriction enzyme HaeIII in PCR products. Lane 1, MPM Hyperladder IV; lane 2, lane 2, PCR product of the positive control ADV21 incubated with HaeIII; Lane 3, PCR reaction mix from an Adenovirus negative sample incubated with the HaeIII enzyme as a negative control; lane 4 lane 2, ADV21 positive control PCR product without incubation with HaeIII enzyme as negative control.



**Figura 4.** Productos de PCR de muestras positivas para ADN de Adenovirus tratados con la enzima HinfI para identificar Adenovirus serotipo 41. Carril 1, MPM Hyperladder IV; Carril 2- 7, productos de PCR de muestras positivas a ADN Adenovirus que muestran un fragmento de restricción de ~128 pb; Carril 8, producto de PCR del control positivo ADV41 que muestra el fragmento de restricción de ~128 pb; Carril 9, producto de PCR del control positivo ADV41 sin tratar con la enzima HinfI como control negativo.

**Figure 4.** PCR products of samples positive for Adenovirus DNA treated with HinfI enzyme to identify Adenovirus serotype 41. Lane 1, MPM Hyperladder IV; Lane 2-7, PCR products from Adenovirus DNA positive samples showing a restriction fragment of ~ 128 bp; Lane 8, ADV41 positive control PCR product showing ~ 128 bp restriction fragment; Lane 9, ADV41 positive control PCR product untreated with HinfI enzyme as negative control.



**Figura 5.** Productos de PCR de muestras positivas para ADN de Adenovirus tratados con la enzima HaeIII para identificar Adenovirus serotipo 40. Carril 1, MPM Hyperladder IV; Carril 2- 5, productos de PCR de muestras positivas a ADN de Adenovirus que muestran un fragmento de restricción de ~179 pb; Carril 6, mezcla de reacción de PCR proveniente de una muestra negativa a ADN de Adenovirus incubada con la enzima HaeIII como control negativo; Carril 7 producto de PCR del control positivo ADV41 que muestra el fragmento de restricción de ~179 pb; Carril 8, producto de PCR del control positivo ADV41 sin tratar con la enzima HaeIII como control negativo.

**Figure 5.** PCR products of samples positive for Adenovirus DNA treated with the HaeIII enzyme to identify Adenovirus serotype 40. Lane 1, MPM Hyperladder IV; Lane 2-5, PCR products from Adenovirus DNA positive samples showing a ~ 179 bp restriction fragment; Lane 6, PCR reaction mix from an Adenovirus DNA negative sample incubated with the HaeIII enzyme as a negative control; Lane 7 ADV41 positive control PCR product showing the ~ 179 bp restriction fragment; Lane 8, untreated ADV41 positive control PCR product with HaeIII enzyme as negative control.

Se analizaron 236 muestras de las cuales 74(31 %) fueron positivas a Adenovirus por PCR y solo 56 (24 %) fueron positivas para Adenovirus entéricos, identificados mediante la restricción de productos de PCR con las enzimas HinfI y HaeIII; 22.3% corresponden al serotipo 41 y 1.7 % al serotipo 40. Los resultados obtenidos durante este estudio muestran la presencia de Adenovirus entéricos en la ciudad de Chihuahua, México, dentro del rango establecido a nivel mundial en países subdesarrollados, que va del 2 al 31 % (Rezaei et al., 2012). En la Tabla 1 se pueden observar algunos datos para comparar la incidencia de Adenovirus entéricos con diversos países, en donde tenemos que la incidencia detectada en nuestro estudio es mucho mayor a lo reportado.

En México existen pocos estudios sobre la prevalencia o la biología de Adenovirus. Un estudio encontró que están presentes en alrededor del 10% de los niños hospitalizados con gastroenteritis (Martina et al., 2013), por lo tanto, nuestros resultados se encuentran por encima de ello y muy por encima de lo reportado por Méndez-Toss en el 2004 (2.3 %). En la ciudad de Chihuahua los resultados obtenidos se encuentran por encima de lo reportado por Medina en el 2012, del orden de 14 % de Adenovirus entéricos en el año 2010 y 2011.

Como se puede observar en los resultados, existe una predominancia de Adenovirus serotipo 41 sobre Adenovirus serotipo 40, similar a lo reportado en China, Tailandia por mencionar algunos, a diferencia del predominio de Adenovirus serotipo 40 sobre Adenovirus serotipo 41 en Brasil (Filho et al., 2007; Kumpthip et al., 2019; Li et al., 2020).



**Tabla 1.** Incidencia de Adenovirus entéricos en infantes menores de 5 años con EDA en diferentes partes del mundo.

**Table 1.** Incidence of enteric Adenovirus in infants under five years of age with ADD in different parts of the world

País	Período de detección de Adenovirus entéricos	Incidencia de Adenovirus entérico en infantes < 5 años
Irán	2012-2013	5.18%
Brasil	1996-2003	2%
Colombia	2013-2014	3%
Australia	2011	26%
Turquía	2007	8.60%
Alemania	2005-2008	9.70%

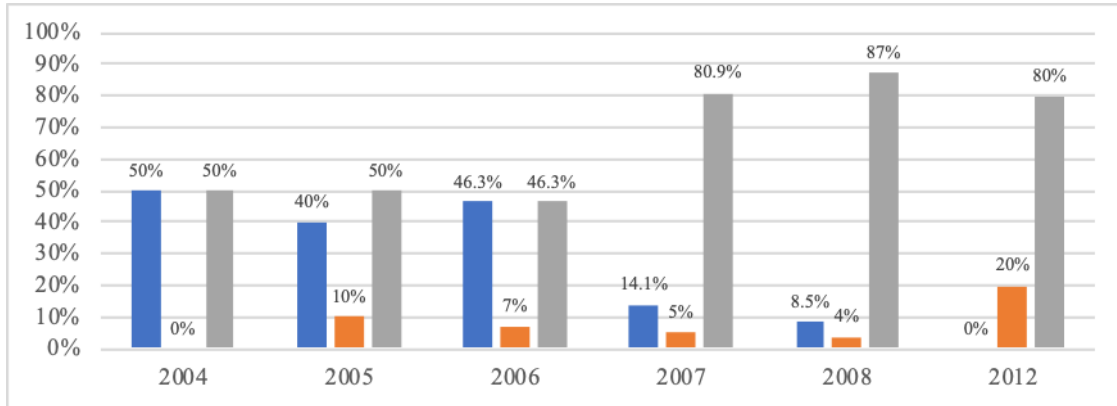
Referencias: Sanaei et al., 2016; Filho et al., 2007; Farfán-García et al., 2020; Ozsari et al., 2016, Bicer et al., 2011; Wiegering et al., 2011

En la Tabla 2 y Figura 6 se muestra la relación de casos positivos de Adenovirus entéricos detectados por año. Se puede observar que el porcentaje de Adenovirus entéricos en los años de 2004 a 2006 estuvo por encima del rango establecido (2-31 %) (Rezaei et al., 2012) esto pudo deberse a que en esos años haya ocurrido un brote en los hospitales lo que generó el aumento de casos. Mientras que en los años de 2007 y 2008 el rango se encontró dentro de lo establecido. A pesar de que en el año 2012 se encontraron tres casos de Adenovirus positivos por PCR, ninguno de estos fueron Adenovirus entéricos, esto pudo deberse a que en ese año las muestras recolectadas fueron muy pocas, y no corresponden a todos los meses del año por lo que posibles casos positivos pudieron haberse escapado, o bien a la presencia de nuevos serotipos virales de Adenovirus asociados a las EDAs que no fueron detectados a través del protocolo de restricción empleado en cualquiera de los periodos estudiados (Li et al., 2005; Liu et al., 2014; Afrad et al., 2018; Colak et al., 2017; Dey et al., 2009).

**Tabla 2.** Relación de muestras de heces positivas de Adenovirus entéricos por año en infantes menores con EDA en la ciudad de Chihuahua.

**Table 2.** Relation of enteric Adenovirus positive stool samples per year in young infants with ADD in the city of Chihuahua.

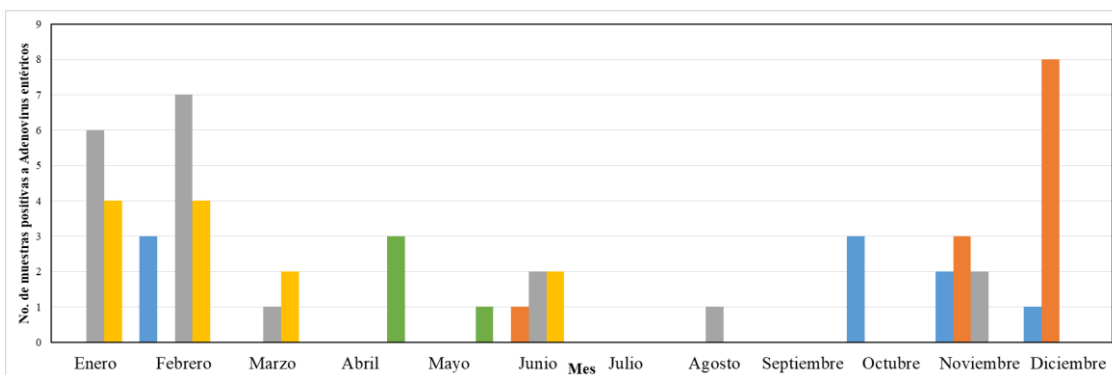
Año	No. de muestras	Adenovirus 40	Adenovirus 41	Adenovirus entéricos		Adenovirus no entéricos		Muestras negativas
				Muestras	%	Muestras	%	
2004	18	0	9	9	50	0	0	50
2005	30	0	12	12	40	3	10	50
2006	41	4	15	19	46.3	3	7	46.3
2007	85	0	12	12	14.1	4	5	80.9
2008	47	0	4	4	8.5	2	4	87
2012	15	0	0	0	0	3	20	80
TOTAL	236	4 (1.7 %)	52 (22 %)	56	24	15	6.4	70



**Figura 6.** Distribución de porcentajes anuales de muestras de heces positivas a Adenovirus entéricos (Pe), Adenovirus no entéricos (Pne) y muestras negativas (N) por año en infantes menores de cinco años con EDA en la ciudad de Chihuahua, México. ■ Pe ■ Pne ■ N

**Figure 6.** Distribution of annual percentages of stool samples positive for enteric Adenovirus (Pe), non-enteric Adenovirus (Pne) and negative samples (N) per year in infants under five years of age with ADD in Chihuahua city, Mexico. ■ Pe ■ Pne ■ N

En la Figura 7 se muestra la distribución de muestras de heces positivas a Adenovirus entéricos por mes y año detectadas en este estudio. Teniendo que el 59% (33) de las muestras positivas Adenovirus entéricos se presentaron durante la temporada invernal, el 12.5% (7) durante primavera, 10.7% (6) en verano y 18% (10) en otoño. Generalmente se ha descrito que los Adenovirus entéricos no muestran un fuerte patrón estacional, sin embargo se encontró que la mayor cantidad de casos positivos se detectaron en los meses de invierno, concordando con lo reportado por Rezaei et al., 2012 que encontraron un 37 % de casos positivos en invierno, así como también lo establecen Martínez et al., en el 2017 con un predominio de gastroenteritis con positividad para virus en heces en los primeros meses del año, con un repunte en otoño en España durante el período 2013-2015. Si bien la mayor cantidad de casos positivos se dio en los meses de invierno, también se encontraron a lo largo de todo el año, por lo que Adenovirus entérico no tiene un patrón estacional (Ozsari et al., 2016).



**Figura 7.** Distribución anual de muestras de heces positivas a Adenovirus entéricos de infantes menores de 5 años con EDA de la ciudad de Chihuahua. ■ 2004 ■ 2005 ■ 2006 ■ 2007 ■ 2008.

**Figure 7.** Annual distribution of enteric Adenovirus positive stool samples from infants under five years of age with ADD from the city of Chihuahua. ■ 2004 ■ 2005 ■ 2006 ■ 2007 ■ 2008.

Romo en el 2011 reportó la presencia de Rotavirus del 2004-2008 en la ciudad de Chihuahua, México, por lo que cabe mencionar que entonces, en base a nuestros resultados, ambos virus, Rotavirus y Adenovirus, son agentes etiológicos de las enfermedades diarreicas agudas en nuestra entidad, sin dejar de lado que cada día hay más evidencia de que enfermedad es causada por virus coinfectantes y, de hecho, pueden estar ocurriendo en ausencia de síntomas. La frecuencia de coinfección y la identidad de los virus implicados pueden alterarse con la introducción de programas de vacunación. Por ejemplo, la vacuna contra Rotavirus redujo la tasa de infección en comunidades de todo el mundo. Por lo tanto, a medida que se desarrollan vacunas para otros patógenos virales entéricos, es posible que sigan produciéndose cambios importantes en la prevalencia de la coinfección viral, siendo importante considerar la realización de un panel de diagnóstico que incluya la detección de más de un virus, ampliando así el seguimiento epidemiológico de agentes virales que ayuden a implementar mejoras en los tratamientos médicos así como medidas de prevención y control en nuestro país (Romo, 2011; Makimaa et al., 2020).

#### 4. Conclusiones

Se detectó la presencia de ADN del género Adenovirus en infantes menores de cinco años hospitalizados por enfermedad diarreica aguda en la ciudad de Chihuahua en el periodo 2004-2008 y 2012. Los análisis de los serotipos entéricos demostraron la presencia de dos serotipos principales: Adenovirus serotipo 41 en la mayoría de los infantes, sin embargo, algunos pacientes presentaron Adenovirus serotipo 40, con una mayor incidencia durante la temporada invernal, indicando la circulación de otros virus en nuestra entidad además de Rotavirus agente etiológico de EDA.

Se encontró también un porcentaje de ADN de Adenovirus no entérico, los cuales no están asociados con EDA, lo cual sugiere que en un futuro sean considerados para ampliar los estudios epidemiológicos que se llevan a cabo en la ciudad de Chihuahua, México, en relación a gastroenteritis virales.

#### 5. Referencias

- Ahmed, K. Y., Page, A., Arora, A., Ogbo, F. A., & Global Maternal and Child Health Research collaboration (GloMACH) (2020). Associations between infant and young child feeding practices and acute respiratory infection and diarrhoea in Ethiopia: A propensity score matching approach. *PloS One*, 15(4), e0230978.
- Afrad, M. H., Avzun, T., Haque, J., Haque, W., Hossain, M. E., Rahman, A. R., Ahmed, S., Faruque, A., Rahman, M. Z., & Rahman, M. (2018). Detection of enteric- and non-enteric adenoviruses in gastroenteritis patients, Bangladesh, 2012-2015. *Journal of Medical Virology*, 90(4), 677-684.
- Allard, A., Albinsson, B., & Wadell, G. (2001). Rapid typing of human adenoviruses by a general PCR combined with restriction endonuclease analysis. *Journal of Clinical Microbiology*, 39(2), 498-505.
- Amar, C. F., East, C. L., Gray, J., Iturriza-Gomara, M., Maclure, E. A., & McLauchlin, J. (2007). Detection by PCR of eight groups of enteric pathogens in 4,627 faecal samples: re-examination of the English case-control Infectious Intestinal Disease Study (1993-1996). *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases: official publication of the European Society of Clinical Microbiology*, 26(5), 311-323.

- Avilés, H. A. (2017). *Detección y Genotipificación de Adenovirus en Niños con Gastroenteritis*. (Tesis licenciatura Universidad de Sonora).
- Banga-Mingo, V., Waku-Kouomou, D., Gody, J. C., Esona, M. D., Yetimbi, J. F., Mbary-Daba, R., Dahl, B. A., Dimanche, L., Koyazegbe, T. d., Tricou, V., Cavallaro, K. F., Guifara, G., Bowen, M. D., & Gouandjika-Vasilache, I. (2014). Molecular surveillance of rotavirus infection in Bangui, Central African Republic, October 2011-September 2013. *Infection, Genetics and Evolution: Journal of Molecular Epidemiology and Evolutionary Genetics in Infectious Diseases*, 28, 476–479.
- Bányai, K., Estes, M. K., Martella, V., & Parashar, U. D. (2018). Viral gastroenteritis. *Lancet* (London, England), 392(10142), 175–186.
- Bicer, S., Sahin, G. T., Koncay, B., Gemici, H., Siraneci, R., Ozturk, N. Y., & Sevketoglu, E. (2011). Incidence assessment of rotavirus and adenovirus associated acute gastroenteritis cases in early childhood. *Le Infezioni in Medicina*, 19(2), 113–119.
- Centro Estatal de Vigilancia Epidemiológica y Control de Enfermedades (CEVECE). (2010) [https://salud.edomex.gob.mx/cevece/documentos/documentostec/documentos/PEpid\\_edas.pdf](https://salud.edomex.gob.mx/cevece/documentos/documentostec/documentos/PEpid_edas.pdf)
- Çolak, M., Bozdayı, G., Altay, A., Yalaki, Z., Ahmed, K., & Özkan, S. (2017). Detection and molecular characterisation of adenovirus in children under 5 years old with diarrhoea. *Turkish Journal of Medical Sciences*, 47(5), 1463–1471.
- Collier, L., Oxford, J. (2008). *Virología humana*. McGraw Hill Interamericana.
- Corcoran, M. S., van Well, G. T., & van Loo, I. H. (2014). Diagnosis of viral gastroenteritis in children: interpretation of real-time PCR results and relation to clinical symptoms. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases: official publication of the European Society of Clinical Microbiology*, 33(10), 1663–1673.
- Desselberger U., (2017). Viral gastroenteritis. *Medicine*, 45(11), 690-694.
- Dey, S. K., Shimizu, H., Phan, T. G., Hayakawa, Y., Islam, A., Salim, A. F., Khan, A. R., Mizuguchi, M., Okitsu, S., & Ushijima, H. (2009). Molecular epidemiology of adenovirus infection among infants and children with acute gastroenteritis in Dhaka City, Bangladesh. *Infection, Genetics and Evolution. Journal of Molecular Epidemiology and Evolutionary Genetics in Infectious Diseases*, 9(4), 518–522.
- Dirección General de Epidemiología (DGE). (2020). Lineamientos para la vigilancia por el laboratorio de la gastroenteritis viral: Rotavirus, Norovirus, Astrovirus y Adenovirus entéricos. [https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/538724/Lineamientos\\_Rotavirus\\_270220.pdf](https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/538724/Lineamientos_Rotavirus_270220.pdf)
- Farfán-García, A. E., Imdad, A., Zhang, C., Arias-Guerrero, M. Y., Sánchez-Álvarez, N. T., Iqbal, J., Hernández-Gamboa, A. E., Slaughter, J. C., & Gómez-Duarte, O. G. (2020). Etiology of acute gastroenteritis among children less than 5 years of age in Bucaramanga, Colombia: A case-control study. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 14(6), e0008375
- Filho, E. P., da Costa Faria, N. R., Fialho, A. M., de Assis, R. S., Almeida, M., Rocha, M., Galvão, M., Dos Santos, F. B., Barreto, M. L., & Leite, J. (2007). Adenoviruses associated with acute gastroenteritis in hospitalized and community children up to 5 years old in Rio de Janeiro and Salvador, Brazil. *Journal of Medical Microbiology*, 56(3), 313–319.
- Gastanaduy, P.A., Sanchez-Uribe, E., Esparza-Aguilar, M., Desai, R., Parashar, U.D., Patel, M., & Richardson, V. (2013). Effect of rotavirus vaccine on diarrhea mortality in different socioeconomic regions of Mexico. *Pediatrics*, 131, 1115-1120.
- Harrach, B., Benkó, M., Both, G.W., Brown, M., Davison, A.J., Echevarría, M., Hess, M., Jones, M.S., Kajon, A., Lehmkuhl, H.D., Mautner, V., Mittal, S. K., & Wadell, G. (2011). *Viral Taxonomy*. Elsevier
- Hassan, F., Kanwar, N., Harrison, C. J., Halasa, N. B., Chappell, J. D., Englund, J. A., Klein, E. J., Weinberg, G. A., Szilagyi, P. G., Moffatt, M. E., Oberste, M. S., Nix, W. A., Rogers, S., Bowen, M.

- D., Vinjé, J., Wikswo, M. E., Parashar, U. D., Payne, D. C., & Selvarangan, R. (2019). Viral Etiology of Acute Gastroenteritis in <2-Year-Old US Children in the Post-Rotavirus Vaccine Era. *Journal of the Pediatric Infectious Diseases Society*, 8(5), 414–421.
- Hernández, C. C., Aguilera, A. M.G., & Castro, E.G. (2011). Situación de las Enfermedades Gastrointestinales en México. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología*, 31(4):137-151.
- Herring, A. J., Inglis, N. F., Ojeh, C. K., Snodgrass, D. R., & Menzies, J. D. (1982). Rapid diagnosis of rotavirus infection by direct detection of viral nucleic acid in silver-stained polyacrylamide gels. *Journal of Clinical Microbiology*, 16(3), 473–477.
- International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV). (2011). Adenoviridae, 9th Report. [https://talk.ictvonline.org/ictv-reports/ictv\\_9th\\_report/dsdna-viruses/2011/w/dsdna\\_viruses/93/adenoviridae](https://talk.ictvonline.org/ictv-reports/ictv_9th_report/dsdna-viruses/2011/w/dsdna_viruses/93/adenoviridae)
- Kumthip, K., Khamrin, P., Ushijima, H., & Maneekarn, N. (2019). Enteric and non-enteric adenoviruses associated with acute gastroenteritis in pediatric patients in Thailand, 2011 to 2017. *PloS One*, 14(8), e0220263.
- Li, L., Phan, T. G., Nguyen, T. A., Kim, K. S., Seo, J. K., Shimizu, H., Suzuki, E., Okitsu, S., & Ushijima, H. (2005). Molecular epidemiology of adenovirus infection among pediatric population with diarrhea in Asia. *Microbiology and Immunology*, 49(2), 121–128.
- Li, P., Yang, L., Guo, J., Zou, W., Xu, X., Yang, X., Du, X., Qiu, S., & Song, H. (2017). Circulation of HAdV-41 with diverse genome types and recombination in acute gastroenteritis among children in Shanghai. *Scientific Reports*, 7(1), 3548.
- Li, W., Xiang, W., Li, C., Xu, J., Zhou, D., & Shang, S. (2020). Molecular epidemiology of rotavirus A and adenovirus among children with acute diarrhea in Hangzhou, China. *Gut Pathogens*, 12, 19.
- Liu, L., Qian, Y., Zhang, Y., Deng, J., Jia, L., & Dong, H. (2014). Adenoviruses associated with acute diarrhea in children in Beijing, China. *PloS One*, 9(2), e88791.
- Li, L. L., Liu, N., Humphries, E. M., Yu, J. M., Li, S., Lindsay, B. R., Stine, O. C., & Duan, Z. J. (2016). Etiology of diarrhoeal disease and evaluation of viral-bacterial coinfection in children under 5 years old in China: a matched case-control study. *Clinical Microbiology and Infection: the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 22(4), 381.e9–381.e16.
- Makimaa, H., Ingle, H. & Baldrige, M. T. (2020). Enteric Viral Co-Infections: Pathogenesis and Perspective. *Viruses*, 12(8), 904.
- Martina, M., Iglesias, J., & Rendón-Macías, M.E. (2013). Los adenovirus como causa de gastroenteritis aguda en los niños. *Revista Mexicana de Pediatría*, 80, 98-104
- Martínez, A. O., Vázquez G. L., Buyo S. P., Díaz S. R., & Moldes S. L.M. (2017). Gastroenteritis agudas y virus entéricos: impacto de la detección de norovirus. *Anales de Pediatría*, 87(3):143-147.
- Medina S., M. R. (2012). Estudio viral de enfermedades diarreicas agudas severas (EDAS) en infantes de la ciudad de Chihuahua (Tesis maestría. Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Chihuahua).
- Méndez-Toss, M., Griffin, D. D., Calva, J., Contreras, J. F., Puerto, F. I., Mota, F., Guiscafré, H., Cedillo, R., Muñoz, O., Herrera, I., López, S., & Arias, C. F. (2004). Prevalence and genetic diversity of human astroviruses in Mexican children with symptomatic and asymptomatic infections. *Journal of Clinical Microbiology*, 42(1): 151–157.
- Moreno G., J.G. (2014). Optimización de un Sistema De Filtración-Captura y Detección Molecular de Virus Entéricos en Muestras de Agua (Tesis maestría Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Chihuahua).

- Operario, D. J., Platts-Mills, J. A., Nandan, S., Page, N., Seheri, M., Mphahlele, J., Praharaj, I., Kang, G., Araujo, I. T., Leite, J., Cowley, D., Thomas, S., Kirkwood, C. D., Dennis, F., Armah, G., Mwenda, J. M., Wijesinghe, P. R., Rey, G., Grabovac, V., Berejena, C., & Houpt, E. R. (2017). Etiology of Severe Acute Watery Diarrhea in Children in the Global Rotavirus Surveillance Network Using Quantitative Polymerase Chain Reaction. *The Journal of Infectious Diseases*, 216(2), 220–227.
- Organización Mundial de la Salud (OMS). (2017) Enfermedades Diarreicas. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/diarrhoeal-disease>
- Ozsari, T., Bora, G., Kaya, B., & Yakut, K. (2016). The Prevalence of Rotavirus and Adenovirus in the Childhood Gastroenteritis. *Jundishapur Journal of Microbiology*, 9(6), e34867.
- Paternina-Cacedo, A., Parashar, U. D., Alvis-Guzmán, N., De Oliveira, L. H., Castaño-Zuluaga, A., Cotes-Cantillo, K., Gamboa-Garay, O., Coronell-Rodríguez, W., & De la Hoz-Restrepo, F. (2015). Effect of rotavirus vaccine on childhood diarrhea mortality in five Latin American countries. *Vaccine*, 33(32), 3923–3928.
- Portes, S. A., Volotão, E., Rocha, M. S., Rebelo, M. C., Xavier, M., Assis, R. M., Rose, T. L., Miagostovich, M. P., Leite, J. P., & Carvalho-Costa, F. A. (2016). A non-enteric adenovirus A12 gastroenteritis outbreak in Rio de Janeiro, Brazil. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, 111(6), 403–406.
- Promega Corporation Assembly of Restriction Enzyme Digestions. (2011) <https://www.promega.com/-/media/files/resources/protocols/technical-manuals/101/restriction-enzymes-protocol.pdf>
- Reyna-Figueroa, J., Vidal-Vázquez, R.P., Richardson López-Collada, V.L. (2011). Inmunización contra rotavirus en México con vacuna oral monovalente. Evaluación de los datos de dos años del sistema de reporte de eventos temporalmente asociados a vacunación. *Revista de Investigación Clínica*, 63(4). 391-398
- Rezaei, M., Sohrabi, A., Edalat, R., Siadat, S. D., Gomari, H., & Gilani, S. M. (2012). Molecular epidemiology of acute gastroenteritis caused by subgenus F (40, 41) enteric adenoviruses in inpatient children. *Laboratory Medicine*, 43(1), 10–15.
- Romero, C. R. (2007). *Microbiología y parasitología humana*. Médica Panamericana.
- Romo S., C. I. (2011). Diferencias entre los patrones electroforéticos de cepas de rotavirus en la coproteca de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma de Chihuahua (Tesis licenciatura Facultad de Ciencias Químicas. Universidad Autónoma de Chihuahua).
- Rotavirus Organization of Technical Allies (ROTA). (2019). <https://rotacouncil.org/vaccine-evidence/available-rotavirus-vaccine-products/>
- Rotavirus Organization of Technical Allies (ROTA). (2020). <https://rotacouncil.org/vaccine-introduction/global-introduction-status/>
- Sanaei Dashti, A., Ghahremani, P., Hashempoor, T., & Karimi, A. (2016). Molecular Epidemiology of Enteric Adenovirus Gastroenteritis in under-Five-Year-Old Children in Iran. *Gastroenterology Research and Practice*, 2016(2), 1-5. <http://dx.doi.org/10.1155/2016/2045697>
- Sánchez-Uribe, E., Esparza-Aguilar, M., Parashar, U. D., & Richardson, V. (2016). Sustained Reduction of Childhood Diarrhea-Related Mortality and Hospitalizations in Mexico after Rotavirus Vaccine Universalization. *Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, 62 Suppl 2, S133–S139.
- SINAVE/DGE/SALUD. (2017). Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica / Dirección General de Epidemiología / Secretaría de Salud. [https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/267617/Mortalidad\\_2014.pdf](https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/267617/Mortalidad_2014.pdf)
- Sirok, V., Le Pera, V., & Sandín, D. (2008). Agentes virales de gastroenteritis Rotavirus. *Temas de Bacteriología y Virología Médica*. 29, 519-533.

- Vincze, T., Posfai, J., & Roberts, R. J. (2003). NEBcutter: A program to cleave DNA with restriction enzymes. *Nucleic Acids Research*, 31(13), 3688–3691.
- Wiegering, V., Kaiser, J., Tappe, D., Weissbrich, B., Morbach, H., & Girschick, H. J. (2011). Gastroenteritis in childhood: a retrospective study of 650 hospitalized pediatric patients. *International Journal of Infectious Diseases: IJID: official publication of the International Society for Infectious Diseases*, 15(6), e401–e407.

© 2020 TECNOCENCIA CHIHUAHUA. Todos los derechos reservados.