

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE NICARAGUA, LEÓN
FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS
DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGÍA Y PARASITOLOGÍA
CARRERA DE BIOANÁLISIS CLÍNICO



TESIS PARA OPTAR AL TÍTULO DE LICENCIATURA EN
BIOANÁLISIS CLÍNICO

Prevalencia de Adenovirus en niños con gastroenteritis aguda del
departamento de León, Nicaragua durante el periodo
Julio 2017 – Febrero 2019.

Autores:

- ◆ Br. Nasarely Massiel Rayo Centeno.
- ◆ Br. Cristhiam José Flores García.

Tutora:

MSc. Yaoska Reyes.

Profesor asistente
Departamento de Microbiología y Parasitología.
UNAN-León.

León, 17 de febrero de 2020.

“A la libertad por la Universidad”

Prevalencia de Adenovirus en niños con gastroenteritis aguda del departamento de León, Nicaragua durante el periodo Julio 2017 – Febrero 2019.

Br. Nasarely Rayo, Br. Cristhiam Flores, MSc. Yaoska Reyes.

Carrera de Bioanálisis Clínico, Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Ciencias Médicas.

Resumen

En el mundo, cada año se reportan 1,700 millones de casos de diarrea, resultando en la muerte de al menos 525,000 de estos; lo que la convierte en la segunda causa de morbilidad y mortalidad en la niñez a nivel mundial. Adenovirus humano (HAdV), entre otros virus causantes de gastroenteritis aguda (GEA) han sido reconocidos como los principales responsables de diarrea en niños alrededor del mundo. El objetivo de esta investigación analítica de corte transversal es determinar la prevalencia de HAdV en 182 niños con GEA menores de 2 años de edad en el departamento de León, Nicaragua durante el periodo Julio 2017 – Febrero 2019, así como asociar factores epidemiológicos y clínicos con los episodios de GEA positivos para HAdV utilizando Chi cuadrado y Estadístico Exacto de Fisher, ($p < 0.05$). La evidencia científica reporta que HAdV es responsable del 1% al 20% de los casos de diarreas en niños. En este estudio se analizaron un total de 277 casos de GEA y se determinó que la prevalencia de HAdV fue de 10.1%, encontrándose con mayor frecuencia en el sexo femenino (54%) y entre las edades de 6 y 11 meses (53.7%), además no hay significancia estadística entre la infección por HAdV y factores como hacinamiento ($p = 0.16$), estación del año ($p = 0.76$), estado nutricional ($p = 0.20$), deshidratación ($p > 0.99$). Uno de los episodios de GEA positivos para HAdV concordó con episodios de diarrea en otras personas que habitaban o visitaron la vivienda dentro de los siete días anteriores al episodio de GEA en el niño. ($p > 0.99$), y en el 36% de los casos, los niños habitaban en viviendas donde el piso no tenía recubrimiento. Por otra parte las características clínicas como fiebre y vómito no fueron factores claves en la infección por HAdV.

Palabras clave: Adenovirus, Gastroenteritis aguda, Características clínico-epidemiológicas, Prevalencia.

Dedicatoria

Podría describir cada segundo en el que Dios se manifiesta en mi vida; cuando caigo y con su ayuda me levanto, cuando pierdo mi horizonte y me redirecciona, cuando he fallado y me ha perdonado, al igual que cuando me da la oportunidad de disfrutar su paz y su presencia, pero no tendría fin, porque sus maravillas son cada día, cada instante. Este logro quiero dedicárselo a él, quien es responsable de mi existencia; quien he sido, quien soy, que a pesar que soy un ser imperfecto, me amó y siempre está conmigo.

Nasarely Rayo.

Agradecimientos

A Dios, porque nos amó primero; por su gracia somos y estamos.

A nuestros padres, porque lograron que fuésemos llenos de valores, responsables y trabajadores, gracias a ellos estamos a un paso de subir un peldaño más en la vida.

A nuestra tutora, MSc. Yaoska Reyes por el apoyo, enseñanzas y guía durante el proceso. Porque inconscientemente nos enseñó a ser pacientes y amables, aprendizaje que se quedaran con nosotros para toda la vida.

Al departamento de Microbiología y Parasitología por recibirnos y darnos las herramientas necesarias para entrar a este mundo grandioso de la microbiología.

Al Dr. Filemón Bucardo por la autorización del uso de datos generados a partir del proyecto (SAGE) que lleva a cabo. Y al grupo de investigadores del CIEI por tener la disposición y paciencia de ayudarnos en el desarrollo de esta trabajo.

A todos ellos... ¡Gracias!

ÍNDICE

Dedicatoria	i
Agradecimientos	ii
1. Introducción	1
2. Antecedentes	2
3. Justificación	4
4. Planteamiento del problema	5
5. Objetivos	6
5.1 Objetivo general	6
5.2 Objetivos específicos	6
6. Marco teórico	7
7. Diseño metodológico	14
7.1 Tipo de estudio	14
7.2 Área de estudio	14
7.3 Muestras clínicas	14
7.4 Recolección de la información	14
7.5 Recolección de las muestras	14
7.6 Extracción de ácidos nucleicos	15
7.7 Criterios de inclusión	15
7.8 Condiciones de PCR – Tiempo Real	15
7.9 Análisis de datos	16
7.10 Consideraciones éticas	17
8. Resultados	20
9. Discusión	25
10. Conclusión	30
11. Recomendaciones	31
Bibliografía	
Anexos	

Abreviaturas

ADN: Ácido desoxirribonucleico.

ARN: Ácido ribunocléico.

AV: Asociado al virus.

CMP: Desoxicitosina monofosfato.

Da: Dalton.

DBP: (Siglas en inglés). DNA Binding protein.

E: (inglés: early). Temprano.

EIA: EnzimaInmunoAnálisis.

ELISA: (Siglas en inglés) Ensayo InmunoAbsorbente ligado a Enzima

GEA: Gastroenteritis Aguda.

HAdV: Adenovirus humano.

HAstV: Astrovirus humano.

IC: Intervalo de confianza.

IMC: Índice de Masa Corporal.

ITR: Terminales invertidas.

MHC: (Siglas en inglés). Complejo Mayor de histocompatibilidad.

MINSA: Ministerio de Salud.

NoV: Norovirus.

OMS: Organización mundial de la salud.

PCR: (Siglas en inglés). Reacción en Cadena de la Polimerasa.

PCR-rt: (Siglas en inglés). Reacción en Cadena de la Polimerasa en tiempo real.

PT: Proteína terminal.

RB: Producto del gen del retinoblastoma.

RoV: Rotavirus.

RP: Razón de prevalencia.

RPM: Revoluciones por minuto.

SaV: Sapovirus.

SPSS: Statistical Package for the Social Sciences.

TNF: Factor de necrosis tumoral.



1. Introducción

En el mundo, cada año se reportan 1,700 millones de casos de diarrea, resultando en la muerte de al menos 525,000 de estos; ⁽¹⁾ Lo que la convierte en la segunda causa de morbilidad y mortalidad en la niñez a nivel mundial. ^(1, 2) La diarrea puede ser síntoma de una infección bacteriana, parasitaria o vírica del tracto digestivo, causando malnutrición principalmente en niños menores de 5 años, lo que los propensa a repetidos episodios de diarrea y aumenta las probabilidades de defunción, especialmente en países en vías de desarrollo. ⁽¹⁾

En Nicaragua, el Sistema de vigilancia epidemiológica del Ministerio de Salud (MINSA), señala que durante el periodo 2005 – 2013 existió una tendencia ascendente de morbilidad por casos de diarrea solamente relacionadas con agua y durante el periodo de 1997 - 2012 contabilizaron un total de 7,879 defunciones, donde 6 de cada 10 muertes pertenecieron al grupo de edad de 0 a 4 años ⁽³⁾ y durante el año 2018 fueron hospitalizadas 12,473 personas por Gastroenteritis Aguda (GEA), sin embargo, la etiología infrecuentemente es descrita.

Los virus entéricos como rotavirus (RoV), norovirus (NoV) y adenovirus humano (HAdV), causantes de GEA han sido reconocidos como los principales responsables de diarrea en niños alrededor del mundo. ⁽⁴⁾ HAdV, fue descubierto en 1953 ⁽⁵⁾ y actualmente se dividen en 7 subgéneros (A-G), con más de 70 serotipos que son responsables de causar diversas enfermedades en el ser humano ⁽⁶⁾. De ellos, los serotipos 40 y 41, nombrados comúnmente como “adenovirus entéricos” son los que se han asociado con mayor frecuencia a GEA, ^(7, 8) y son causantes del 1 al 20% de los casos de diarrea en niños a nivel global. ⁽⁹⁻¹¹⁾

Luego de la implementación de la vacuna contra RoV en Nicaragua, se demostró que de los casos de GEA en niños, el 24% es causado por NoV, seguido del 17% por sapovirus (SaV) y en el 8% de los casos, el responsable fue RoV, ⁽¹²⁾ sin embargo, aún se desconoce la contribución de HAdV en los casos de GEA en el país. Este estudio pretende brindar información epidemiológica sobre la situación actual de HAdV causante de GEA en niños del departamento de León, Nicaragua, de esta manera contribuir a la vigilancia y control de esta enfermedad.



2. Antecedentes

Los virus entéricos causantes de GEA severa en niños han sido objeto de estudio por muchos investigadores en diferentes partes del mundo. En ello, se ha atribuido a HAdV como uno de los principales agentes causales, conllevando a la necesidad de obtener más conocimientos sobre el agente.

Chen CJ., *et al.*, realizaron un estudio en Taiwán sobre las características clínicas y epidemiológicas en niños de 2 meses a 5 años con GEA severa anteriormente inmunizados para RoV que acudieron a hospitales de enero del 2009 hasta diciembre del 2011. Un total de 2,810 muestras fecales fueron analizadas mediante Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) y los resultados fueron los siguientes: 37.5% (1055) fueron positivos para antígenos virales, donde RoV representa la causa más frecuente de GEA con 21.2%, seguido de NoV: 14.9%, HAdV: 3.74%, astrovirus (HAstV) 2.10% y virus mixtos 4.06%. La mayor prevalencia de gastroenteritis viral fue en niños menores de 2 años. Durante temporada fría (noviembre a abril) RoV continuó siendo el de mayor prevalencia con 29.8% y NoV en un 22.7%. Para HAdV y HAstV, el porcentaje de infección no fue estadísticamente significativo según temporada.⁽¹³⁾

Ye S., *et al.*, en Australia, identificaron por PCR virus causantes de GEA a niños de hasta 2 años de edad, cuando ya estaban siendo vacunados para RoV. Durante dos años de estudio recolectaron 511 muestras de heces fecales, de las cuales, el 40.7% (208) resultaron positivas para antígenos virales. La mayor frecuencia fue de HAdV con 25.6%, seguido de Enterovirus, NoV, bocavirus, RoV y coronavirus con una frecuencia de 12.3%, 5.1%, 4.1%, 1.4% y 1.0% respectivamente. Además se co-detectaron HAdV y enterovirus en 54.7% de los casos, y HAdV con NoV en 14.2%. HAdV fue genotipificado encontrando serotipo 31 y 12 del subgrupo A, serotipo 1, 2 y 5 del subgrupo C y serotipo 41 del subgrupo F.⁽¹⁴⁾

Moyo SJ, *et al.*, realizaron en Tanzania, un estudio caso control en dos periodos, de agosto del 2010 a marzo del 2011 y enero del 2011 a julio del 2011 para determinar prevalencia y caracterizar molecularmente a HAdV. Captaron 1,235 niños, 960 eran niños hospitalizados



por diarrea y 545 eran niños sin diarrea (310 fueron de origen ambulatorio y 235 fueron pacientes hospitalizados por causas diferentes a diarrea). Del total de muestras, 37 fueron positivas por ELISA para HAdV, 24 diarreicas y 13 no diarreicas, con prevalencia entre siete y doce meses de edad. Posteriormente, se analizaron mediante PCR las 24 muestras diarreicas, resultando 12 (50%) serotipo HAdV 40 y 12 (50%) del serotipo HAdV 41, otros serotipos encontrados fueron 1 (4.2%), 2 (12.5%), 7 (12.5%), 18 (8.3%), y 31 (12.5%). En cambio, de las 13 muestras no diarreicas, 6 eran de virus entéricos, prevaleciendo HAdV40 (30.8%) sobre HAdV41 (15.4%), las siete restantes fueron los serotipos 1 (15.4%), 3 (7.7%), 18 (7.7%), 19 (7.7%) y 31 (15.4%).⁽¹⁵⁾

Arcangeletti MC., *et al.*, realizaron un estudio en Italia en pacientes pediátricos que acudieron por GEA al Hospital de Parma, entre enero del 2010 y diciembre del 2012, con la finalidad de determinar la prevalencia de los serotipos 40 y 41 del subgrupo F de HAdV, utilizando la técnica de PCR. Un total de 2,325 muestras fecales fueron analizadas y 741 resultaron positivas para antígenos virales, de estas, 110 para HAdV. Los resultados demostraron alta prevalencia del subgrupo F (62.7%), predominando el serotipo 41 (89.8%), en comparación al serotipo 40 (10.2%). Las 110 muestras también fueron probadas para otros antígenos virales, donde, 5.4 % fue positivo para RoV y otro 5.4 % fue positivo para NoV.⁽¹⁶⁾

Portal TM., *et al.*, en Brasil, identificaron y genotipificaron SaV, HAstV y HAdV en niños hospitalizados por GEA, durante el periodo marzo 2012 – abril 2015. Un total de 219 muestras fecales fueron seleccionadas para el estudio y fueron testeadas mediante PCR. En 110 muestras (50.2%) se identificó que el agente causal de GEA fue HAdV. De las muestras positivas se caracterizaron genéticamente 42.7%, siendo el subgrupos F, el de mayor prevalencia (63.9%) seguido de Subgrupo A: 4.2%, B: 6.4% C: 17.1% D: 4.2% y E: 4.2%. De los 110 casos positivos, fueron seleccionados 80 para el estudio pareado de HAdV en materia fecal y suero, de los cuales el 63.7% resultó positivo en suero, siendo genotipificados los subgrupo F, A, B y C con 80.8%, 3.8%, 3.8%, y 11.5% respectivamente. Demostrando, de esta manera, la diversidad genética de HAdV en la GEA. Además, observaron que el rango de edades con mayor prevalencia fue de 12 - 24 meses de edad, con 61.9 % de casos positivos.⁽¹⁷⁾



3. Justificación

La Gastroenteritis Aguda es una de las patologías más frecuentes en niños a nivel mundial; en diversas partes del mundo ya se ha descrito la epidemiología de HAdV, la cual apunta a que es uno de los principales virus entéricos causantes de esta enfermedad.

En Nicaragua, el sistema de salud aún no contempla el diagnóstico de este agente causal de GEA, e investigaciones de vieja data en el país han utilizado técnicas diagnósticas poco específicas, además, se cuenta con pocos datos epidemiológicos, lo que limita a las autoridades el correspondiente abordaje del problema.

La Organización Mundial de la Salud (OMS), realza la importancia de la inquisición en investigaciones orientadas a desarrollar y probar nuevas estrategias de prevención y control de la diarrea. Este estudio contribuirá al conocimiento epidemiológico-molecular de GEA por HAdV entéricos en la ciudad de León.



4. Planteamiento del problema

La GEA es una enfermedad prevalente en la infancia, supone un problema de salud pública a nivel mundial, siendo rotavirus, norovirus y adenovirus los principales protagonistas. Los primeros dos agentes mencionados ya han sido incluidos en diferentes estudios en Nicaragua, pero ¿Cuál es la prevalencia de HAdV en niños menores de dos años de edad con GEA en el departamento de León durante el periodo Julio 2017 – Febrero 2019?



5. Objetivos

5.1 Objetivo general

1. Determinar la prevalencia de HAdV en niños con GEA menores de 2 años de edad en el departamento de León, Nicaragua durante el periodo Julio 2017 – Febrero 2019.

5.2 Objetivos específicos

1. Describir características epidemiológicas los niños con GEA positivos para HAdV.
2. Describir características clínicas de los niños con episodios de GEA positivos para HAdV.
3. Determinar asociación entre las características clínicas-epidemiológicas y los episodios de GEA positivos para HAdV.

6. Marco teórico

6.1 Definición de GEA

Se define GEA, como una inflamación de la mucosa gástrica e intestinal, de etiología variable (nutricional, enfermedades inflamatorias intestinales, tóxicos, etc.), pero habitualmente infecciosa, cuyo cuadro clínico se caracteriza por el aumento de número en las deposiciones de consistencia líquida que pueden contener moco y/o sangre; y acompañado de náuseas, vómitos, fiebre y dolor abdominal tipo cólico.⁽¹⁸⁾

6.2 Generalidades de Adenovirus

Los adenovirus fueron descritos por primera vez en el año 1953, por Rowe, *et al.*, quienes observaron que el tejido linfoide humano sufría una degeneración espontánea característica, al mantenerlo en cultivo durante varias semanas después de su extirpación quirúrgica.⁽⁵⁾

Los adenovirus son virus con ADN bicatenario de 90 a 100 nm de diámetro, sin envoltura. El virión está compuesto por una proteína hecha con 252 capsómeros y una nucleoproteína del core que contiene el genoma

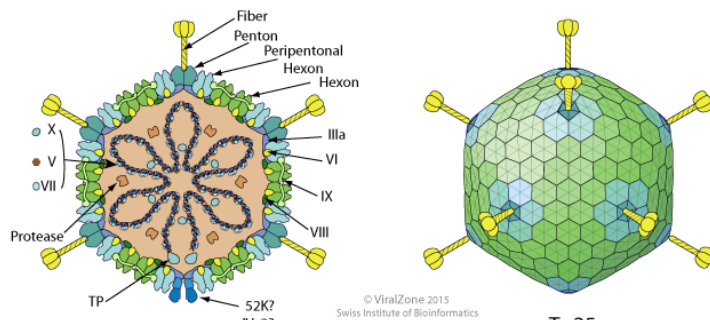


Figura 1. Estructura de Adenovirus

de ADN viral. La cápside es icosaédrica con 12 vértices, consiste en 240 hexones y 12 pentonas ubicadas en cada vértice, y constituyen una base para una fibra que se extiende hacia afuera de la cápside. El largo de las fibras varía según el serotipo. El ADN tiene un peso molecular de 23×10^6 Dalton (Da), y representa el 10-15% de la masa del virus.⁽¹⁹⁾ (Ver figura 1.)

Desde su descubrimiento, se han descrito más de 100 serotipos, de los cuales, al menos 70 serotipos son capaces de infectar al ser humano. Todos los serotipos humanos están incluidos en el género *Mastadenovirus*, de la familia *Adenoviridae*, y han sido clasificados en siete especies (A - G) de acuerdo a sus propiedades biológicas, inmunológicas y oncogénicas.⁽⁶⁾



Tabla 1: Principales proteínas de HAdV

Gen	Número	Función
E1A*		Activa la transcripción genética vírica Se une al supresor del crecimiento celular (p105Rb) para estimular el crecimiento y la transformación celular Altera la regulación del crecimiento celular Inhibe la activación de los elementos de respuesta del interferón
E1B		Se une al supresor de crecimiento celular (p53) y estimula el crecimiento y la transformación celular Inhibe la apoptosis
E2		Activa algunos promotores Proteína terminal en el ADN ADN polimerasa
E3		Impide la acción del TNF- α ; expresión del MHC I
E4		Limita el efecto citopatológico del virus
ARN AV		Inhibe la respuesta del interferón
Cápside	II III IV VI VIII IX IIIa	Contiene el antígeno de familia y algunos antígenos de serotipo Proteína de la base pentona Tóxico para las células de los cultivos tisulares Fibra Responsable de la adhesión y la hemaglutinación; contiene algunos antígenos de serotipo Proteínas asociadas al hexona Proteínas asociadas al pentona
Núcleo	V VII	Proteína nuclear 1: proteína de unión al ADN Proteína nuclear 2: proteína de unión al ADN

AV, asociado al virus; E, inicial (del inglés early); MHC I, complejo principal de histocompatibilidad I; RB, producto del gen del retinoblastoma; TNF- α , factor de necrosis tumoral α .

*Los genes iniciales codifican diversos ADN mensajeros y proteínas mediante diversos patrones de corte y empalme.

6.3 Epidemiología de HAdV

La característica de ser un virus no envuelto, le confiere a los viriones la capacidad de resistir la inactivación en el tracto digestivo, así también, la resistencia a la desecación. En GEA por HAdV, los síntomas suelen ser similares a GEA causada por otros agentes infecciosos.^(20, 21)

La transmisión es diversa entre los diferentes sitios anatómicos que puede infectar adenovirus. En la queratoconjuntivitis adenovírica se transmite por contacto directo, piscinas inadecuadamente cloradas y por fómites; mientras que en las enfermedades respiratorias agudas la transmisión se da a través de gotas de *Flügge*. Para GEA, la principal vía de transmisión es fecal-oral, y por fómites.⁽²¹⁾



La distribución de HAdV es mundial, y aún no se ha demostrado incidencia y/o prevalencia estacional. Se conoce que la incidencia de GEA por HAdV es mayor en niños menores de tres años, y los serotipos HAdV-40 y HAdV-41 son los notables causantes de esta enfermedad, sin embargo, esporádicamente se han identificado otros serotipos que provocan GEA. ^(15, 22, 23)

El periodo de incubación puede variar entre los diferentes serotipos, pero generalmente dura entre 2 a 14 días.⁽²⁴⁾ Las epidemias por HAdV se esparcen rápidamente entre personas que conviven en espacios cerrados, como hacinamiento en hogares,⁽²¹⁾ hospitales,^(25, 26) gimnasios, escuelas⁽²⁷⁾ y orfanatos.⁽²⁸⁾

6.4 Replicación de HAdV

Existen varios mecanismos por los cuales HAdV puede ingresar a la célula del hospedador, ya sea mediante la unión de la proteína de la fibra de HAdV con el receptor coxsackie-adenovirus de la célula, que es el receptor primario tanto para HAdV-5 como para el coxsackie B6. O bien, puede ingresar a las células usando proteoglicanos de heparan sulfato, como un receptor alternativo, probablemente a través de la interacción con factores sanguíneos como el factor IX, el factor X o la proteína de unión al componente C4.

HAdV se internaliza mediante endocitosis mediada por el receptor a través de fosas recubiertas con clatrina. La acidificación del endosoma altera la topología del virus y los componentes de la cápside se desmontan parcialmente.

El virión parcialmente degradado se transporta a través del citoplasma al núcleo a lo largo de la red de microtúbulos y la cápside se desmonta aún más durante la ruta. Al llegar al complejo de poro nuclear, el ADN recubierto de proteína VII ingresa al núcleo. Los hallazgos publicados actuales sugieren que es solo el ADN envuelto en proteína VII el que ingresa al núcleo, escoltado por la histona H1. La proteína VII protege al ADN viral de la activación de la respuesta al daño del ADN. La remodelación de la cromatina viral continúa a lo largo del ciclo vital. La replicación del ADN viral y el ensamblaje de los viriones de la progenie ocurren completamente dentro del núcleo de las células infectadas. El ADN viral se asocia con pVII recién sintetizado y, posteriormente, el complejo ADN-proteína se empaqueta en

cápside del virus. El ciclo de replicación de HAdV dura alrededor de 24–36 h. con una sola célula infectada por el virus, produce ~104 millones de viriones.

HAdV tiene un genoma viral de ADN de doble cadena lineal, compuesto por 36 kb, unido de forma covalente a los extremos 5' de las cadenas del ADN se encuentra la Proteína Terminal (TP),⁽²⁹⁾ seguido de esta, se encuentra la región de Repeticiones Terminales Invertidas (ITRs) (Ver figura 2) capaces de codificar entre 30 y 40 genes⁽²¹⁾. Existen dos orígenes de replicación (ori), que están localizados en las ITRs que envuelven aproximadamente de 1 – 50 pb,⁽²⁹⁾ como se muestra en la figura 3.

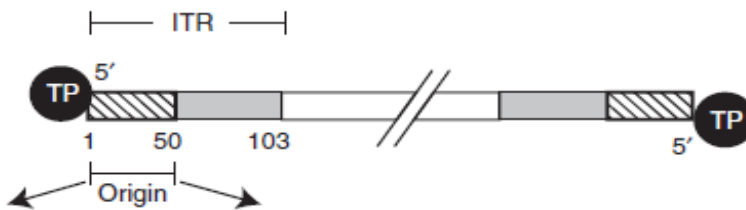


Fig. 2. Región ITRs de HAdV.

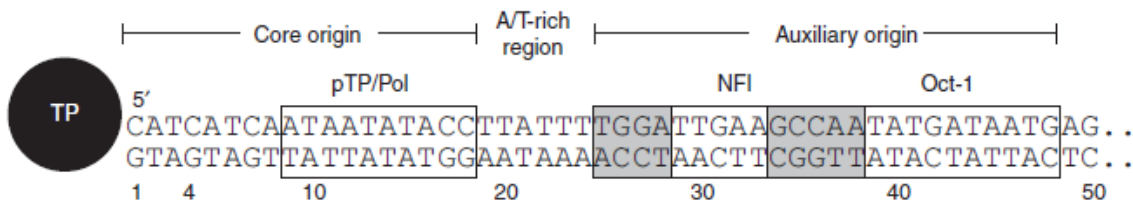


Fig. 3. Orígenes de replicación principal y auxiliar

Prevalencia de HAdV causante de gastroenteritis en niños.



Para iniciar la replicación se requiere de tres proteínas virales, PreTerminal Protein (pTP), HAdV polimerasa (HAdV pol) y DNA-binding Protein (DBP), además se necesitan dos factores de transcripción Factor nuclear I (NFI) y Factor nuclear III (NFIII / Oct-1)⁽³⁰⁾

La replicación es iniciada por la HAdV-pol, mediante

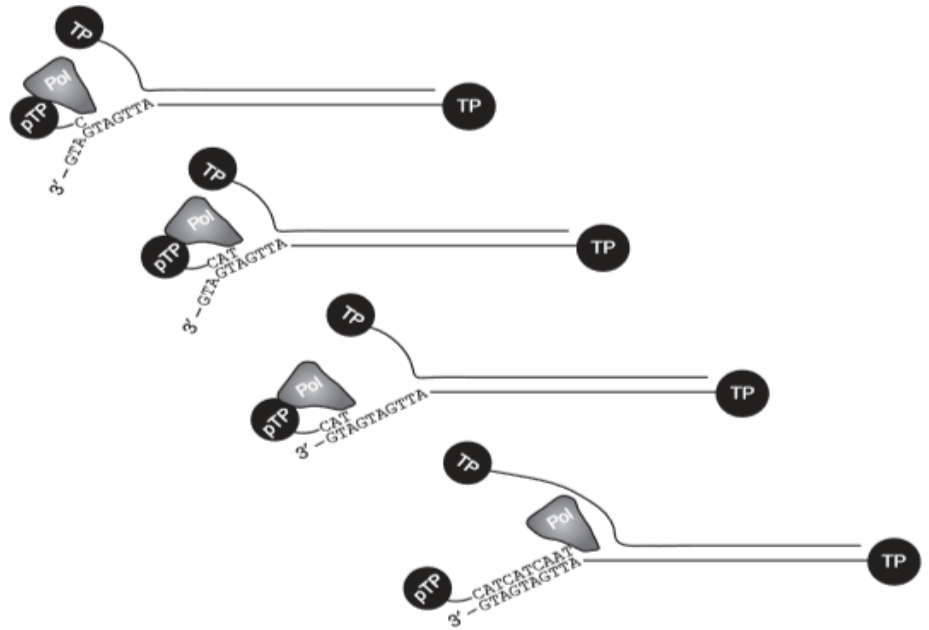


Fig. 4. Representación esquemática de la replicación de ADN de HAdV.

transferencia de Desoxicitosina monofosfato (dCMP) utilizado como cebador, entre los nucleótidos 4-6 del extremo de la pTP, La síntesis se desplaza hacia los nucleótidos 1-3 posteriormente, la síntesis del ADN es catalizada por un mecanismo de desplazamiento de cadena por la HAdV-pol, donde también se requiere la DBP⁽²⁹⁾ como se muestra en la figura 4.

El ensamblaje de partículas de virales maduras es un proceso de varios pasos que tiene lugar en el núcleo. Hay cuatro formas diferentes de partículas de HAdV identificadas:⁽³¹⁾

- Cápsides vacías desprovistas de ADN viral.
- Intermediarios de ensamblaje ligero que contienen el extremo izquierdo del genoma.
- Intermedios de ensamblaje pesado que contienen el genoma viral de longitud completa y formas precursoras de ciertas proteínas de la cápside.
- Partículas virales maduras que contienen el genoma de longitud completa con proteínas de la cápside procesadas proteolíticamente.

El virus permanece en la célula hasta que ésta degenera y se lisa.



6.5 Inmunología contra HAdV

Los anticuerpos son importantes en la resolución de las infecciones líticas por adenovirus y protegen a los individuos frente a la reinfección por el mismo serotipo, pero no por otros serotipos. La inmunidad celular es un elemento destacado en la restricción de la proliferación excesiva del virus y los individuos inmunodeprimidos padecen cuadros recurrentes y más graves de la enfermedad. Los adenovirus poseen varios mecanismos para eludir las defensas del organismo hospedador que les permiten mantenerse en el mismo. Codifican pequeñas moléculas de ARN asociadas a los virus (ver tabla 1) que impiden la activación de la inhibición mediada por la proteína cinasa R inducida por el interferón de la síntesis proteica vírica. Las proteínas víricas E3 y E1A inhiben la apoptosis inducida por las respuestas celulares frente al virus o la acción de los linfocitos T o las citocinas TNF- α . Algunas cepas de adenovirus pueden inhibir la acción de los linfocitos T citotóxicos CD8⁺ evitando la expresión adecuada de las moléculas del MHC I y, por tanto, la presentación antigénica.⁽²¹⁾


6.6 Patogénesis de HAdV

Se describen tres tipos de alteraciones de HAdV y la célula huésped:

- Infección lítica. Se da el ciclo replicativo completo. Se producen entre 10,000 y 1 millón de virus por célula, de los cuales 1-5% son infecciosos. Se da en células epiteliales.⁽²¹⁾
- Infección latente. Es una infección crónica y se da principalmente en células linfoides. Dicha infección puede reactivarse en pacientes inmunocomprometidos. La infección latente produce la transcripción de factores que favorecen la producción de citoquinas inflamatorias (IL 8, ICAM 1, TNF- α), con la consiguiente amplificación del proceso inflamatorio a dicho nivel.⁽²¹⁾

Además se ha visto que los adenovirus inducen a células quiescentes a entrar a la fase S del ciclo replicativo e inhibir la apoptosis de las células huéspedes.

- Transformación oncogénica. Se dan sólo los pasos iniciales de la replicación viral. Algunos productos de los genes tempranos virales inhiben a los antioncogenes. El ADN viral es aparentemente integrado y replicado con el ADN celular, no se

 *Prevalencia de HAdV causante de gastroenteritis en niños.*



producen viriones infecciosos. Se ha demostrado en modelos animales. La proteína E1A se une a proteínas celulares alterando sus funciones (p105-RB, p53) e inhibe apoptosis por alteraciones del bcl-2.⁽²¹⁾



7. Diseño metodológico

7.1 Tipo de estudio.

Estudio de corte transversal analítico durante el periodo Julio 2017 – Febrero 2019.

7.2 Área de estudio.

Sector del centro de salud Perla María Norori, de la ciudad de León.

7.3 Muestras clínicas.

Mediante una vigilancia epidemiológica pasiva, se recolectaron prospectivamente 277 muestras fecales de 182 niños con GEA, menores de 2 años de edad, en el departamento de León. Dicha vigilancia es parte de la cohorte del proyecto SAGE UNAN, León, cuyo objetivo es la vigilancia de casos de gastroenteritis por sapovirus 2017-2020.

7.4 Recolección de la información.

La recolección de la información estuvo a cargo del trabajador de campo del Proyecto SAGE, quien explicó los objetivos del estudio a los padres o responsables de los niños, quienes aceptaron participar en el estudio y firmaron el consentimiento informado, además se llenó un cuestionario el cual contiene datos demográficos, epidemiológicos y clínicos del paciente.

7.5 Recolección de las muestras.

Se recolectaron muestras fecales en la etapa aguda de la enfermedad. Estas fueron colocadas en frascos estériles plásticos y refrigerados a 4 °C. Posteriormente se trasladaron al Laboratorio de Microbiología, UNAN-León, donde se preparó una suspensión de las heces 1:10 con Buffer Salino Fosfatado (PBS) y se almacenaron a -20°C hasta ser analizadas.



7.6 Extracción de ácidos nucleicos.

Se extrajo ADN viral de los especímenes clínicos tomando 200 mg o 200 μ l de la suspensión de PBS y se agregaron 0.03 g de partículas de vidrio para favorecer la maceración y homogenización de la muestra durante la centrifugación con el buffer de inhibición. Se siguió el método de extracción según protocolo QIAamp DNA stool Mini Kit (Cat #5104) para obtener un total de eluido de 200 μ l de ADN aislado que fue guardado a -20°C hasta su análisis. (Ver anexo 1)

7.7 Criterios de inclusión.

- Niños menores de dos años.
- Niños activos dentro de la cohorte del proyecto SAGE UNAN, León.
- Niños con episodios de GEA a los que se le hayan analizado muestras dentro del periodo de estudio.

7.8 Condiciones de PCR – Tiempo Real.

Se utilizó el método TaqMan junto a la secuencia específica de primers para adenovirus (Ver tabla 2), la reacción fue con base al volumen final de 20 μ L (Ver tabla 3). Se siguió el programa de termociclado indicado en la figura 5, en el instrumento de termociclado en tiempo real Roche.

Tabla 2: Primers y Sonda utilizados para PCR

Nombre	Propósito	Secuencia	Referencia
AdenoQuant 1 (F)	PCR-rt	5' -GCC-ACG-GTG-GGG-TTT-CTA-AAC-TT-3'	Heim. A, <i>Et al.</i> ⁽³²⁾
AdenoQuant 2 (R)	PCR-rt	5'-GCC-CCA-GTG-GTC-TTA-CAT-GCA-CAT-C-3'	
AdenoProbe (P)	PCR-rt	5'-TGC-ACC-AGA-CCC-GGG-CTC-AGG-TAC-TCC-GA-3'.	



Tabla 3: Preparación del Master Mix para PCR de HAdV

Reactivos utilizados	Volúmenes por muestra
Bio-Rad iQ Multiplex Powermix	10 μ L
Primer Adenov Hexon F/R 5 pmol	1 μ L
Primer Adenov Hexon P 2.5 pmol	1 μ L
Agua libre de nucleótidos	5 μ L
ADN	3 μ L
Volumen total por reacción	20 μL

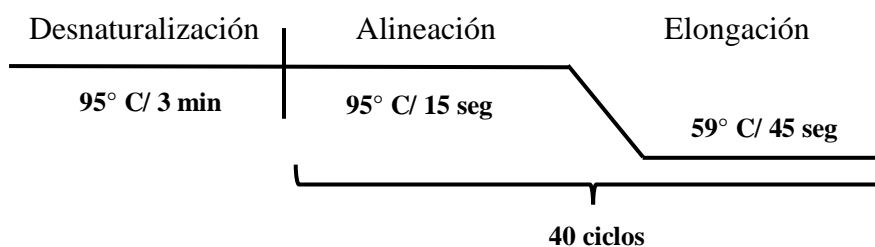


Fig. 5. Programa en termociclador *Roche LightCycler 96*.

7.9 Análisis de datos.

Los datos clínicos y epidemiológicos de los 182 niños incluidos en la vigilancia epidemiológica pasiva, fueron introducidos en una base de datos en el programa SPSS versión 19 (IBM-PC, release 19.0; SPSS Inc., Chicago, IL, US). Se calculó la prevalencia de HAdV en niños con episodios de GEA y se realizó análisis bivariado entre las características clínico-epidemiológicas y los episodios de GEA por HAdV mediante estadístico Chi cuadrado (χ^2), Razón de prevalencia (RP) y Exacto de Fisher. Además se estimó el grado de asociación entre variables dependientes e independientes mediante la significancia estadística utilizando el límite de confianza al 95%. Los datos son presentados en las tablas correspondientes que muestran valores absolutos y porcentajes.



Para determinar el estado de nutrición en los niños, se utilizó los patrones de crecimiento infantil de la OMS, en función del Índice de Masa Corporal (IMC) (Ver anexo 2), y se calcularon desviaciones estándares bilaterales, (Ver anexo 3 y 4) las que fueron comparadas e interpretadas con la tabla de estado de nutrición según IMC para niños o niñas de hasta 5 años de edad del MINSA. (Ver anexo 5)


7.10 Consideraciones éticas.

El estudio de SAGE UNAN, León, fue aprobado por el Comité de Ética local para investigaciones biomédicas en el año 2017-2020. (Acta No. 73)



Tabla 4. Operacionalización de las variables.

Nombre de la variable	Definición	Fuente	Valor
ID	Número de identificación del individuo.		Números cardinales
Episodios de GEA	Número de veces que la enfermedad afecta a un niño dentro del periodo de estudio.		D1, D2, D3, D4, D5, D7
Sexo	Sexo del niño.		Masculino Femenino
Edad	Edad del niño desde su nacimiento hasta el episodio estratificado en grupos semestrales.		0-5 meses 6-11 meses 12-18 meses
Sector	Área demográfica en que está ubicada la vivienda donde habita el niño.	Encuesta	Antenor Sandino Rubén Darío Santa Ana Guadalupe El Calvarito Laborío Arrocera Brisas de Acosasco Benito Mauricio Lacayo Walter Ferreti Emir Cabezas Fundeci Reynaldo Varela Otros
Hacinamiento	Cociente que resulta de la división entre número de cuarto de la vivienda entre cantidad de habitantes. (2 = hacinado)		Si No
Estación del año	Estación del año en que se presentó el episodio de GEA.		Lluviosa (May - Oct) Seca (Nov- Abril)
Fuente de agua	Abastecimiento de agua de consumo de la vivienda.		Potable No potable
Piso de la vivienda	Material del cual está recubierto el piso de la vivienda.		Recubierto Sin recubrimiento
Disposición de las excretas	Lugar donde los habitantes de la vivienda defecan.		Inodoro Letrina

 *Prevalencia de HAdV causante de gastroenteritis en niños.*



Diarrea intradomiciliar	Otra persona con diarrea en la casa en los siete días anteriores al episodio de GEA en el niño.	Si No
Lactancia al nacimiento	Estatus de lactancia materna momentos después del nacimiento del niño.	Si No
Estado de nutrición	Estado de nutrición del niño durante el episodio de GEA basado en puntuación Z de la OMS.	Eutrófico No eutrófico
Adenovirus	Agente causal del episodio de GEA.	Positivo Negativo
Fiebre	Presencia de fiebre durante el episodio de GEA.	Si No
Vómito	Presencia de vómito durante el episodio de GEA.	Si No
Deshidratación	Administración de líquido intravenoso durante el episodio de GEA.	Si No
Otra persona con diarrea en la casa	Habitantes con diarrea en los 7 días anteriores al caso de GEA en el niño.	Si No



8. Resultados

En el estudio se incluyeron 182 niños entre las edades de 0 a 18 meses, con síntomas de GEA durante el periodo Julio 2017 – Febrero 2019, de los cuales el 53% fueron masculino. Del sector de residencia, el mayor número de niños captados fue en el reparto Antenor Sandino con el 39.5%, y la condición de hacinamiento se evidenció en el 44% de las viviendas. El 98% contaban con agua potable, y en las viviendas de tres de cada 10 niños, el piso no tenía recubrimiento. Además, el 27% referían que para la disposición de la excretas, utilizaban letrinas. Por otra parte, se encontró que 98% de los niños fueron alimentados con leche materna a su nacimiento. (Ver tabla 5)

De los 182 niños, se analizaron un total de 277 episodios de GEA, siendo más frecuente en el sexo masculino. Con el propósito de facilitar la interpretación de los episodios de GEA por edades, se estratificaron por grupos semestrales, donde se observó que el 50.5% de los episodios se encuentran en el grupo de 6 a 11 meses seguido del grupo de 0 a 5 meses con 45.5%. Se observó una distribución semejante de los casos de GEA entre las estaciones lluviosa (51%) y seca (49%). Por otra parte, 63% de los niños se encontraban en estado nutricional eutrófico durante los episodios de GEA. Además, el 5% de los episodios de GEA concordaron con episodios de diarrea en otras personas que habitaban o visitaron la vivienda, dentro de los siete días anteriores al episodio de GEA en los niños. (Ver tabla 6)

Del total de muestra analizadas, HAdV fue encontrado en el 10.1% de los episodios, predominando en el sexo femenino (54%). El grupo de edad más afectado fue entre los 6-11 meses (53.7%), seguido del grupo de 0-5 meses con el 42.8%. El reparto con mayor porcentaje de positivos fue Antenor Sandino (46.4%) y en condición de hacinamiento se encontraban el 57%. Por otra parte, los casos se produjeron principalmente en la estación lluviosa (53%). En un 64% de las viviendas poseían piso recubierto. En cuanto al abastecimiento de agua, 92.9% de las viviendas utilizaban agua potable y para la disposición de excretas, el 71% utilizaba inodoro. (Ver tabla 7)



De los niños que no recibieron lactancia materna a su nacimiento se encontró solamente un caso de GEA por HAdV (4%). El estado nutricional según la puntuación Z, el 74% de los niños se encontraba eutrófico durante el episodio de GEA por HAdV y solo en uno de los casos positivos para HAdV, el niño convivió con personas con episodios de diarreas que habitan o visitaban la vivienda. (Ver tabla 7)

De acuerdo a los aspectos clínicos, se realizó un análisis comparando los casos positivos de HAdV (N=28) con otro grupo del mismo número de episodios de GEA que resultaron negativos para HAdV (N=28). Se obtuvo que solamente el 18% de los casos positivos para HAdV, presentó fiebre, en comparación al 46% de los episodios de GEA por otra causa, el 11% de los casos presentó vómito, sin embargo, este síntoma fue más frecuente en los episodios de GEA por otra causa con el 43%. Para la deshidratación, se observó la misma frecuencia (4%) entre ambos grupos. (Ver tabla 8).

Tabla 5. Factores epidemiológicos de los niños con GEA.

Factor	Niños con GEA
	N= 182 n (%)
Sexo	
Masculino	97 (53)
Femenino	85 (47)
Hacinamiento	
Si	80 (44)
No	102 (66)
Fuente de agua	
Potable	178 (98)
No Potable	4 (2)
Piso de la vivienda	
Con recubrimiento	127 (70)
Sin recubrimiento	55 (30)
Disposición de excretas ^a	
Inodoro	130 (73)
Letrina	48 (27)

^a n= 178

Tabla 6. Factores epidemiológicos de los episodios de GEA positivos para HAdV.

Factor	HAdV		
	Episodios de GEA N=277 n (%)	Positivo N = 28 n (%)	Negativo N = 249 n (%)
Sexo			
Masculino	151 (55)	13 (46)	138 (55)
Femenino	126 (45)	15 (54)	111 (45)
Grupo de edades (meses)			
0-5	126 (45.5)	12 (42.8)	114 (46)
6-11	140 (50.5)	15 (53.7)	124 (50)
12-18	11 (4.0)	1 (3.5)	10 (4)
Hacinamiento			
Si	123 (45)	16 (57)	107 (43)
No	154 (55)	12 (43)	142 (57)
Estación del año			
Lluviosa	141 (51)	15 (54)	126 (51)
Seca	136 (49)	13 (46)	123 (49)
Fuente de agua			
Potable	272 (98)	27 (96)	245 (98)
No Potable	5 (2)	1 (4)	4 (2)
Piso de la vivienda			
Con recubrimiento	195 (70)	18 (64)	205 (71)
Sin recubrimiento	82 (30)	10 (36)	72 (29)
Disposición de excretas ^a			
Inodoro	199 (73)	20 (71)	179 (66)
Letrina	72 (27)	8 (29)	64 (24)
Otra persona con diarrea en la casa en los 7 días anteriores ^b			
Si	13 (5)	1 (4)	12 (15)
No	248 (95)	27 (96)	221 (85)
Lactancia materna al nacimiento			
Si	270 (97)	27 (96)	243 (97.5)
No	7 (3)	1 (4)	6 (2.5)
Estado nutricional ^c			
Eutrófico	156 (63)	20 (74)*	136 (62)
No eutrófico	90 (37)	7 (26)*	83 (38)

^a n = 271; ^b n = 261; ^c n = 246; * n = 27.



Tabla 7. Asociación de variables epidemiológicas para HAdV.

Factor	HAdV		RP	IC 95%	
	Positivo N = 28 n (%)	Negativo N = 249 n (%)		LI- LS	p (>0.05)
Sexo					
Masculino	13 (46)	138 (55)	1.4	0.64-3.19	0.47
Femenino	15 (54)	111 (45)			
Grupo de edades (meses)					
0-5	12 (42.8)	114 (46)	0.90	0.11-8.07	0.96
6-11	15 (53.7)	125 (50)	0.77	0.09-6.46	0.81
12-18	1 (3.5)	10 (4)			-
Hacinamiento					
Si	16 (57)	107 (43)			
No	12 (43)	142 (57)	1.7	0.64-3.19	0.16
Estación del año					
Lluviosa	15 (54)	126 (51)			
Seca	13 (46)	123 (49)	1.1	0.79-3.98	0.76
Fuente de agua					
Potable	27 (96)	245 (98)	2.2	0.08-18.73	0.83 ⁺
No Potable	1 (4)	4 (2)			
Piso de la vivienda					
Con recubrimiento	18 (64)	177 (71)	1.5	0.67-3.56	0.26
Sin recubrimiento	10 (36)	72 (29)			
Disposición de excretas ^a					
Inodoro	20 (71)	179 (66)	1.1	0.44-2.62	0.79
Letrina	8 (29)	64 (24)			
Otra persona con diarrea en la casa en los 7 días anteriores ^b					
Si	1 (4)	12 (15)			
No	27 (96)	221 (85)	1.1	0.03-4.19	>0.99 ⁺
Lactancia materna al nacimiento					
Si	27 (96)	243 (97.5)	1.4	0.06-10.65	>0.99 ⁺
No	1 (4)	6 (2.5)			
Estado nutricional ^c					
Eutrófico	20 (74)*	136 (62)	0.57	0.21-1.38	0.20
No eutrófico	7 (26)*	83 (38)			

^a n = 271; ^b n = 261; ^c n = 246; * n = 27. Valor de p calculado por Chi cuadrado.

⁺ Valor de p calculado por Test Exacto de Fisher.

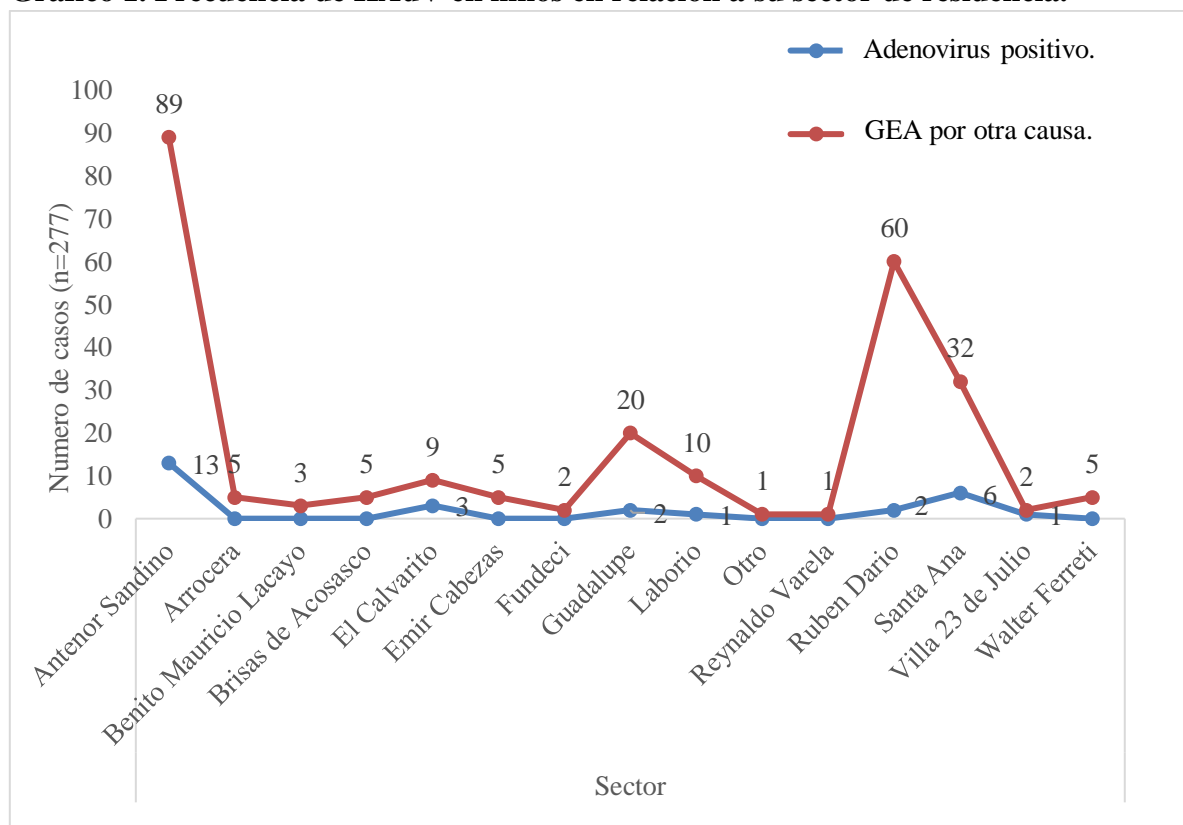


Tabla 8. Correlación de características clínicas de GEA por HAdV y GEA por otra causa.

Características clínicas	GEA positivos para HAdV N= 28	GEA negativos para HAdV N= 28	IC 95%		
	n (%)	n (%)	RP	LI- LS	p
Fiebre					
Si	5 (18)	13 (46)	0.25	0.06-0.85	0.04
No	23 (82)	15 (54)			
Vómito					
Si	3 (11)	12 (43)	0.16	0.03-0.64	0.01
No	25 (89)	16 (57)			
Deshidratación					
Si	1 (4)	1 (4)	1	0.02- 40.37	>0.99
No	27 (96)	27 (96)			

Valor de p calculado con Test Exacto de Fisher.

Grafico 1. Frecuencia de HAdV en niños en relación a su sector de residencia.





9. Discusión

Existe numerosa documentación científica que asocia a HAdV como uno de los agentes causales de GEA de origen viral más frecuentes. En este estudio, se determinó que la prevalencia de HAdV causante de GEA en niños menores de dos años fue de 10.1%, el doble de lo reportado por Lovera A., y Maquilef W., en la universidad de Chile, que determinan la prevalencia de HAdV en niños menores de cinco años con cuadro de diarrea aguda en 4.8%.⁽³³⁾ De igual manera en un estudio de prevalencia de virus entéricos, realizado por Tran A., *et al.*, en Francia, se determinó que la prevalencia de HAdV en niños de hasta 2 años de edad fue de 5%.⁽¹⁰⁾ Estos valores de prevalencia más bajas podría deberse a la técnica utilizada para su detección, ya que se utilizaron ELISA y EIA respectivamente, técnicas que demuestran tener menor sensibilidad y especificidad en comparación a PCR-rt. Sin embargo, el estudio realizado por Portal T., *et al.*, en Brasil, sobre detección y genotipificación de virus entéricos en niños menores de 9 años diagnosticados con GEA, reportaron que en el 50.2% de los casos, HAdV fue el responsable de la enfermedad.⁽¹⁷⁾ Esto puede estar atribuido a un periodo de estudio y edad de la población más amplia en relación al presente estudio. Dentro de esto, debemos tener en cuenta que a mayor edad los factores de riesgo como disminución de vigilancia tutelar, hábitos y escolaridad pueden conllevar a un aumento de la prevalencia de enfermedades infecciosas.

Con respecto a los factores epidemiológicos de los casos de GEA positivos para HAdV, en el sexo femenino se observó la mayor frecuencia (54%), sin embargo, en este estudio se determinó que no existe significancia estadística entre los grupos de sexo y la GEA por HAdV ($p = 0.47$). En el estudio realizado por Moyo S., *et al.*, en Tanzania, quienes determinaron que la prevalencia de HAdV en niños de 0 a 2 años con diarrea, fue mayor en el sexo masculino (62.5%), a pesar de ello, tampoco encontraron significancia estadística entre ambos sexos ($p = 0.89$). Observándose resultados similares a los obtenidos en este estudio.

Prevalencia de HAdV causante de gastroenteritis en niños.



El grupo de edad con mayor frecuencia de HAdV fue entre 6 y 11 meses de edad (53.7%), no obstante, no hay significancia estadística entre la GEA por HAdV y los grupo de edades ($p = 0.90$), En el estudio realizado por Moyo *et al.*, el grupo de edad de mayor frecuencia para HAdV fue entre los 7 y 12 meses de edad, sin embargo, para su estudio la infección por HAdV en ese grupo de edades fue significativamente estadístico ($p = 0.04$). Por otra parte, el estudio realizado por Portal T., refiere que el grupo de edad con mayor frecuencia de GEA por HAdV se encuentra entre 12 y 24 meses de edad.⁽¹⁷⁾ Esta discordancia podría deberse al número de niños con episodios de GEA captados entre esas edades en el presente estudio, puesto que solamente el 4% son mayores de un año de edad.

Según la estación del año, no se observó un patrón de distribución, así como significancia estadística entre las estaciones del año (Lluviosa = 53%; Seca = 46%) ($p=0.76$). En el estudio realizado por Moyo S., *et al.*, la infección por HAdV fue más frecuente en la estación lluviosa, sobre la estación seca, pero no hubo diferencia significativa entre ambas estaciones ($p = 0.29$), Además, en otro estudio realizado por Chen C., *et al*, en Taiwan, quienes estudiaron las características clínicas y epidemiológicas de la gastroenteritis viral severa en niños entre 2 a 60 meses de edad, reportaron que el 55% de 80 niños con GEA ocasionadas por HAdV, fueron durante la estación fría (Noviembre - Abril), pero no observaron significancia estadística (0.07). Los resultados obtenidos en los estudios mencionados anteriormente se relacionan con lo demostrado en el presente estudio.

Referente al sector de residencia, no existe documentación científica local con la cual se pueda hacer una comparación a lo obtenido en este estudio, no obstante, se observa que la mayor frecuencia de los casos GEA positivos para HAdV, 13 de los 28 episodios de GEA positivos para HAdV se ubican en el reparto Antenor Sandino, ubicado en el sureste del departamento de León. Demográficamente es una zona que no ha sido urbanizada por completo y la ausencia de sistema de alcantarillado en algunas zonas y calles sin recubrimiento, sumado de la diversa vegetación que los rodea por ser una zona de pequeños agricultores, son factores que podrían predisponer a las personas a enfermedades infecciosas.



Del mismo modo, el hacinamiento, encontrado en un 57% ($p = 0.16$) de los casos de GEA positivo para HAdV en este estudio, puede ser un factor que aumenta el riesgo de exposición a enfermedades infecciosas, así lo describen algunas organizaciones como la OMS.⁽³⁴⁾ Sin embargo no hay documentación científica sobre HAdV que describa el hacinamiento como factor de riesgo para la enfermedad por este agente.

Por otro lado, la proveniencia y calidad del agua previene una proporción significativa de las enfermedades diarreicas. Las aguas residuales, fosas sépticas o letrinas pueden contaminar las fuentes de agua con heces humanas, lo que representa un riesgo para la salud. En este estudio, la mayor frecuencia de casos de GEA por HAdV se obtuvo en las viviendas donde la fuente de agua era potable (96%) ($p = 0.83$), a pesar de ello, debe tenerse en cuenta que la manipulación y almacenamiento del agua de uso doméstico en condiciones carentes de seguridad, también es un factor importante a ser evaluado, además no hay documentación científica que relacione la fuente de abastecimiento de agua como un factor de riesgo para GEA por HAdV, esto puede ser debido a la dificultad de realizar estudios epidemiológicos sobre un factor como el agua, a la cual toda la población está en cierta medida, expuesta.

Los servicios adecuados de saneamientos e higiene también disminuyen la proporción de enfermedades infecciosas, ya que un mal manejo puede estar ligado a condiciones de insalubridad,⁽¹⁾ lo que podría propiciar la contaminación de fuentes abastecedoras de agua para consumo, cultivos y la multiplicación de vectores que transmiten enfermedades o transportan diferentes microorganismos patógenos. Se observó que en la mayoría de las viviendas donde resultaron casos positivos para HAdV utilizaban inodoros (71%), en comparación con otro tipo de disposición de excretas, aunque sin diferencia estadísticamente significativa ($p = 0.79$).

Conforme al material de piso de las viviendas, la frecuencia de HAdV en episodios de GEA fue mayor en las viviendas donde el piso tenía recubrimiento (64%) y no muestra significancia estadística ($p = 0.26$). La importancia del recubrimiento del piso de la vivienda recae en las condiciones higiénicas en las que los miembros de la familia se desenvuelven, como el contacto, la humedad, la propagación de vectores podrían ser factores que expongan a las familias a enfermedades infecciosas.



El 74% de los niños se encontraba en estado nutricional eutrófico durante el episodio de diarrea positivo para HAdV, sin embargo, no existe significancia estadística entre los estados nutricionales y la infección por HAdV ($p = 0.20$). A pesar de que estudios previos como el realizado por Moyo S., *et al.*, demuestran mayor frecuencia de niños malnutridos (75%), tampoco refieren significancia estadística entre los grupos ($p = 0.46$).⁽¹⁵⁾

Solamente un episodio de GEA por HAdV ocurrió mientras la vivienda fue habitada o visitada por otra persona con cuadro de diarrea, esto difiere del estudio realizado por Chen C., *et al.*, donde se encuentra que hasta en el 23.8% de los casos de GEA por HAdV, existía otro miembro de la familia con episodios de diarrea.⁽¹³⁾ Esto puede estar adjudicado a una mejor higiene entre los miembros de la vivienda, o bien, debido a que la edad de los niños dentro de este estudio, aun no les permite tener demasiado contacto con su entorno, la probabilidad de infecciones intradomiciliares es menor.

La lactancia materna es un factor fundamental para el desarrollo de la inmunidad y protección de los niños frente a enfermedades gastrointestinales, entre otras, y ayuda a la rápida recuperación de las enfermedades⁽³⁵⁾, basado en ello, la OMS sugiere la lactancia exclusiva hasta los primeros seis meses de edad, y como alimentación complementaria hasta los dos años de edad.⁽³⁶⁾ En este estudio se encontró que solamente un episodio de GEA positivo para HAdV donde el niño no había sido lactado a su nacimiento, sin embargo no se puede estimar la asociación estadística para la lactancia materna debido a que no se cuenta con la información necesaria para establecer estratos de lactancia como exclusiva o mixta.

De acuerdo a las características clínicas, En el 75% de los casos de GEA positivos HAdV estuvo ausente la fiebre (RP = 0.25) mostrando significancia estadística para el grupo de GEA negativo para HAdV ($p = 0.04$). Luna., *et al.*, en un estudio retrospectivo en niños en busca de antígenos de HAdV en heces fecales, por EIA, encontraron que el 43.7% tubo fiebre. Es conveniente mencionar que a pesar de que se incluyeron en el estudio a los enfermos menores de 16 años, solo se encontraron muestras positivas para HAdV en los niños menores de seis años, siendo los niños lactantes el grupo que predominó.⁽³⁷⁾

Por otro lado, el vómito estuvo ausente en el 84% de los casos de GEA positivos para HAdV (RP = 0.16) y muestra significancia estadística para el grupo negativo para HAdV (0.01).

Prevalencia de HAdV causante de gastroenteritis en niños.



Este resultado no concuerda con el estudio de Luna., *et al.*, donde el vómito se presentó en 83% de los niños y se caracterizó por que la duración del síntoma fue en promedio de dos días.⁽³⁷⁾

La deshidratación solamente se encontró en el 4% de los casos, además, no fue estadísticamente significativo respecto a los niños con diarrea por otras causas ($p > 0.99$), en contraste en el estudio de Moyo S., *et al.*, reportaron que el 54.2% de los niños con GEA por HAdV se encontraban en estado de deshidratación y se observa diferencia estadística ($p = 0.01$) entre ambos grupos.⁽¹⁵⁾

La poca frecuencia de los principales síntomas de GEA en los episodios positivos para HAdV en los niños podría deberse a que el virus o los serotipos circulantes durante la realización del estudio no provocan un cuadro de GEA severo, o bien, a la autolimitación de la infección, sin embargo los datos descritos en este estudio, deben interpretarse bajo cautela, debido a que si bien la prevalencia de HAdV en episodios de GEA es relativamente baja, y los factores que se asociaron con él, no muestran diferencia significativa, no se puede obviar el hecho de que se estudiaron niños con episodio de GEA donde se podrían asociar otros patógenos, de los cuales se debe hacer también investigaciones para determinar su frecuencia y factores que se le relacionan.



10. Conclusión

- Se determinó que la prevalencia de HAdV en episodios de GEA en niños menores de dos años de edad en el departamento de León, fue de 10.1%.
- De los casos positivos para HAdV, predominó el sexo femenino. El rango de edades con mayor frecuencia fue entre los 6 y 11 meses de edad. El sector con mayor número de casos positivos fue el reparto Antenor Sandino. El hacinamiento era del 57%. No se observó un patrón para las estaciones de año. La mayoría de los niños se encontraba en estado nutricional eutrófico.
- De acuerdo a las características clínicas, el 18% presentó fiebre, el 11% presentó vómito y el 4% presentó deshidratación.
- Ninguno de los factores asociados para los episodios de GEA positivos para HAdV resultó estadísticamente significativo.

Dando respuesta de esta manera, a nuestros objetivos de estudio.



11. Recomendaciones

- Estudiar más de cerca la lactancia para tener un dato más influyente en el análisis de la información.
- Realizar la cuantificación de carga viral de las muestras positivas para HAdV para estimar el grado de excreción del virus en episodios de GEA.
- Realizar genotipificación de las muestras positivas para HAdV para conocer los serotipos circulantes en un área de estudio y comparar si prevalecen los serotipos HAdV-40 y HAdV-41 como resulta en diferentes estudios.



Bibliografía

1. OMS. Enfermedades diarreicas OMS [facts sheet]2017 [cited 2019 02 Feb]. Available from: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/diarrhoeal-disease>.
2. Liu L, Johnson HL, Cousens S, Perin J, Scott S, Lawn JE, et al. 2012. Global, regional, and national causes of child mortality: an updated systematic analysis for 2010 with time trends since 2000. *The Lancet*;379(9832):2151-61.
3. OPS. Boletín informativo "El agua" OPS2015 [cited 2019 16 Feb]. Available from: https://www.paho.org/nic/index.php?option=com_users&view=login&return=aHR0cHM6Ly93d3cucGFoby5vcmcvbmJlL2luZGV4LnBocD9vcHRpb249Y29tX2RvY21hbiZ2aWV3PWRvd25sb2FkNmNhdkVnb3J5X3NsZWc9ZGF0b3MteS1lc3RhZGlzdGljYXMMmYWxpYXMM9Jkl0ZW1pZD0yMzU=&Itemid=101.
4. Akihara S, Phan TG, Nguyen TA, Hansman G, Okitsu S, Ushijima H. 2005. Existence of multiple outbreaks of viral gastroenteritis among infants in a day care center in Japan. *Archives of Virology*;150(10):2061-75.
5. Rowe WP, Huebner RJ, Gilmore LK, Parrott RH, Ward TG. 1953. Isolation of a cytopathogenic agent from human adenoids undergoing spontaneous degeneration in tissue culture. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine Society for Experimental Biology and Medicine (New York, NY)*;84(3):570-3.
6. Lynch JP, 3rd, Kajon AE. 2016. Adenovirus: Epidemiology, Global Spread of Novel Serotypes, and Advances in Treatment and Prevention. *Seminars in respiratory and critical care medicine*;37(4):586-602.
7. Chiba S, Nakamura I, Urasawa S, Nakata S, Taniguchi K, Fujinaga K, et al. 1983. Outbreak of infantile gastroenteritis due to tipe 40 Adenovirus. *The Lancet*;322(8356):954-7.



8. Qiu FZ, Shen XX, Li GX, Zhao L, Chen C, Duan SX, et al. 2018. Adenovirus associated with acute diarrhea: a case-control study. *BMC infectious diseases*;18(1):450.
9. Li L, Phan TG, Nguyen TA, Kim KS, Seo JK, Shimizu H, et al. 2005. Molecular Epidemiology of Adenovirus Infection among Pediatric Population with Diarrhea in Asia. *Microbiology and Immunology*;49(2):121-8.
10. Tran A, Talmud D, Lejeune B, Jovenin N, Renois F, Payan C, et al. 2010. Prevalence of rotavirus, adenovirus, norovirus, and astrovirus infections and coinfections among hospitalized children in northern France. *Journal of clinical microbiology*;48(5):1943-6.
11. Miles AJ, Jeffries BC, Brandt CD, Lewis C, Stallings EP, Kim HW, et al. 1985. Adenoviruses and Pediatric Gastroenteritis. *The Journal of Infectious Diseases*;151(3):437-43.
12. Bucardo F, Reyes Y, Svensson L, Nordgren J. 2014. Predominance of norovirus and sapovirus in Nicaragua after implementation of universal rotavirus vaccination. *PloS one*;9(5):e98201.
13. Chen CJ, Wu FT, Huang YC, Chang WC, Wu HS, Wu CY, et al. 2015. Clinical and Epidemiologic Features of Severe Viral Gastroenteritis in Children: A 3-Year Surveillance, Multicentered Study in Taiwan With Partial Rotavirus Immunization. *Medicine*;94(33):e1372.
14. Ye S, Whiley DM, Ware RS, Sloots TP, Kirkwood CD, Grimwood K, et al. 2017. Detection of viruses in weekly stool specimens collected during the first 2 years of life: A pilot study of five healthy Australian infants in the rotavirus vaccine era. *Journal of medical virology*;89(5):917-21.



15. Moyo SJ, Hanevik K, Blomberg B, Kommedal O, Nordbø SA, Maselle S, et al. 2014. Prevalence and molecular characterisation of human adenovirus in diarrhoeic children in Tanzania; a case control study. *BMC infectious diseases*;14(1):666.
16. Arcangeletti MC, Germini D, Martorana D, Rodighiero I, De Conto F, Medici MC, et al. 2014. High frequency of cultivable human subgroup F adenoviruses in stool samples from a paediatric population admitted to hospital with acute gastroenteritis. *Journal of medical microbiology*;63(Pt 6):812-8.
17. Portal TM, Reymao TKA, Quindere Neto GA, Fiuza M, Teixeira DM, Lima ICG, et al. 2019. Detection and genotyping of enteric viruses in hospitalized children with acute gastroenteritis in Belem, Brazil: Occurrence of adenovirus viremia by species F, types 40/41. *Journal of medical virology*;91(3):378-84.
18. Diccionario Mosby. Medicina, Enfermería y Ciencias de la Salud "Gastroenteritis". Dictionary. 6ta ed: Elsevier; 2003. Diccionario Mosby. Medicina, Enfermería y Ciencias de la Salud "Gastroenteritis"; p. 730.
19. Murray PR, Baron EJ, American Society for M. 2003. Adenoviruses. *Manual of clinical microbiology*. 2. 8va ed. Washington, D.C.: ASM Press.
20. Morn CB, Russell KL, Ryan MAK, Broderick MP, Osuna MA, Freed NE, et al. 2006. Transmission Dynamics and Prospective Environmental Sampling of Adenovirus in a Military Recruit Setting. *The Journal of Infectious Diseases*;194(7):877-85.
21. Murray P, Rosenthal K, Pfaller M. 2013. Adenovirus. In: *Microbiología médica*. 7ma ed. España: ELSEVIER. p. 454.
22. 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.



23. Afrad MH, Avzun T, Haque J, Haque W, Hossain ME, Rahman AR, et al. 2018. Detection of enteric- and non-enteric adenoviruses in gastroenteritis patients, Bangladesh, 2012-2015. *Journal of medical virology*;90(4):677-84.
24. Ison MG. 2006. Adenovirus Infections in Transplant Recipients. *Clinical Infectious Diseases*;43(3):331-9.
25. Srinivasan A, Lessa FC, Gould PL, Erdman DD, Anderson LJ, Widdowson M-A, et al. 2009. Health Care Transmission of a Newly Emergent Adenovirus Serotype in Health Care Personnel at a Military Hospital in Texas, 2007. *The Journal of Infectious Diseases*;200(11):1759-65.
26. Mandelboim M, Dror P, Azar R, Bromberg M, Mendelson E. 2011. Adenovirus infections in hospitalized patients in Israel: epidemiology and molecular characterization. *Journal of clinical microbiology*;49(2):597-601.
27. GonçAlves G, Gouveia E, Mesquita JR, Almeida A, Ribeiro A, Rocha-Pereira J, et al. 2010. Outbreak of acute gastroenteritis caused by adenovirus type 41 in a kindergarten. *Epidemiology and Infection*;139(11):1672-5.
28. Pinkerton H, Carroll S. 1971. Fatal adenovirus pneumonia in infants. Correlation of histologic and electron microscopic observations. *The American journal of pathology*;65(3):543-8.
29. Hoeben R, Uil T. 2013. Adenovirus DNA replication. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*;5(3):a013003.
30. Guimet D, Hearing P. 2016. Adenovirus Replication. New York, USA: Stony Brooks University. p. 59-84.



31. Liu H, Naismith JH, Hay RT. 2003. Adenovirus DNA replication. *Current topics in microbiology and immunology*;272:131-64.
32. Heim. A, Ebnet. C, Harste. G, Pring-Akerblom. P. 2003. Rapid and Quantitative Detection of Human Adenovirus DNA by Real-Time PCR. *Journal of medical virology*;70:228-39.
33. Lovera A, Manquilef W, Gaggero A. Detección y caracterización de adenovirus enterico en niños con cuadro de diarrea aguda en Santiago. Santiago de Chile, Chile: Universidad de Chile; 1999.
34. Directrices de la OMS sobre vivienda y salud. In: OMS, editor. Departamento de salud pública, medio ambiente y determinantes sociales de la salud. Ginebra, Suiza 2018.
35. Kramer MS, Chalmers B, Hodnett ED, Sevkovskaya Z, Dzikovich I, Shapiro S, et al. 2001. Promotion of Breastfeeding Intervention Trial (PROBIT): a randomized trial in the Republic of Belarus. *Jama*;285(4):413-20.
36. OMS. Lactancia materna exclusiva [Fact sheet]. Ginebra, Suiza [cited 2020 0215]. Available from: https://www.who.int/nutrition/topics/exclusive_breastfeeding/es/.
37. Luna M, Leboreiro J, Zapata I, Rendón-Macías M. 2013. Adenovirus como causa de Gastroenteritis aguda. *Revista Mexicana de Pediatría*;80(3):98-104.

ANEXO

Anexo 1. Protocolo de extracción de ADN. QIAGEN®

1. Extracción de ácidos nucleicos

Se extraerá ADN viral de los especímenes clínicos utilizando el método de extracción según protocolo QIAamp DNA stool Mini Kit (Cat #5104).

Procedimiento de extracción.

- Todas las muestras serán colocadas en Coolrack antes de utilizarlas, con el fin de mantener las muestras a temperaturas óptimas de viabilidad.
- Agregar 0.03 gramos de 212-300 μm glass beads en crioviales de 1.8 mL.
- Pesar 180-220 mg de la muestra de heces y añadir en crioviales de 1.8 mL (colocar en gradillas para crioviales de 1.8 mL).
- Añadir 1.0 mL de Buffer InhibitEX a cada criovial con la muestra.
- Colocar los crioviales con la suspensión, en Vortex BEAD MILL por un minuto.
- Calentar la suspensión a 70°C por 5 minutos.
- Dar Vortex por BEAD MILL por 15 segundos y centrifugar la muestra a 14,000 revoluciones por minuto (rpm) por un minuto.
- Agregar 15 μL de Proteínasa K en un nuevo criovial de 1.8 mL y agregar 200 μL del sobrenadante obtenido del paso 7.8.7.
- Agregar 200 μL de Buffer AL y dar Vortex por 15 segundos.
- Incubar a 70°C por 10 minutos. Centrifugar brevemente para eliminar gotas en el interior del tubo.
- Agregar 200 μL de etanol (96-100%) al lisado y mezclar por Vortex. Centrifugar brevemente para eliminar gotas en el interior del tubo.
- Cuidadosamente agregar 600 μL del lisado obtenido en el paso 7.8.11 a la columna mini spin previamente. Cerrar la columna y centrifugar a 14,000 rpm por un minuto. Colocar la columna en un nuevo tubo colector de 2 mL y descartar el tubo que contiene el filtrado.
- Abrir cuidadosamente la columna y agregar 500 μL de buffer AW1. Cerrar la columna y centrifugar a 14,000 rpm por un minuto. Colocar la

columna en un nuevo tubo colector de 2 mL y descartar el tubo que contiene el filtrado.

- Abrir cuidadosamente la columna y agregar 500 mL de buffer AW2. Cerrar la columna y centrifugar a 14,000 rpm por tres minutos. Colocar la columna en un nuevo tubo colector de 2 mL y descartar el tubo que contiene el filtrado.
- Centrifugar a 14,000 rpm por tres minutos. Este paso ayudará a eliminar los restos de AW2.
- Transferir la columna de QIAamp a un eppendorf de 1.5 mL previamente etiquetado. Abrir cuidadosamente la columna y añadir 200 µL de buffer ATE directamente en la membrana. Incubar un minuto a temperatura ambiente y centrifugar a 14,000 rpm por un minuto para eludir el ADN.

Anexo 2. Fórmula para calcular el IMC.

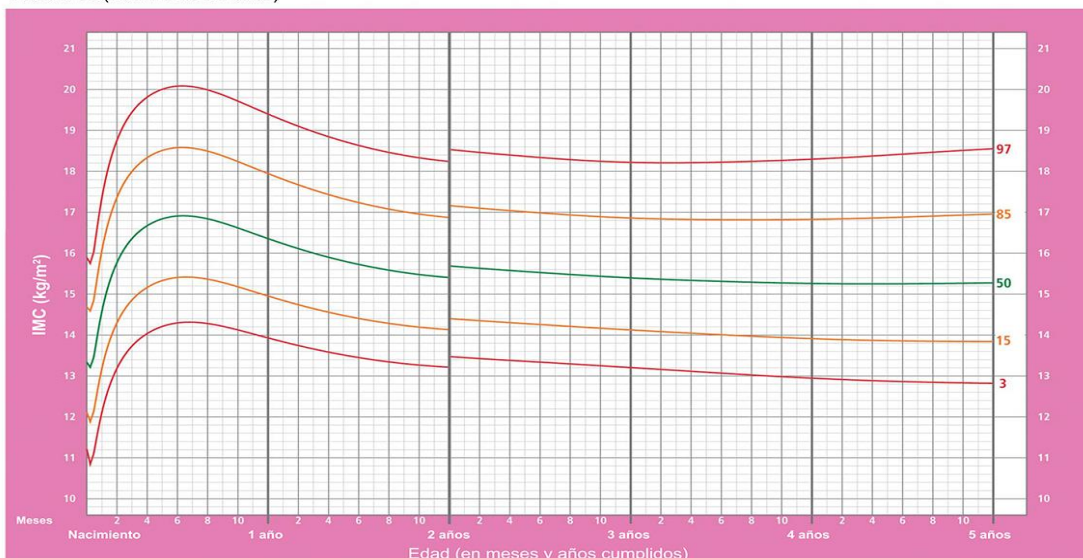
$$\text{IMC} = \frac{\text{Peso en Kg}}{(\text{Talla en metros})^2}$$

Anexo 3. Tabla de puntuación Z para niñas desde el nacimiento a los 5 años de edad.

Según OMS.

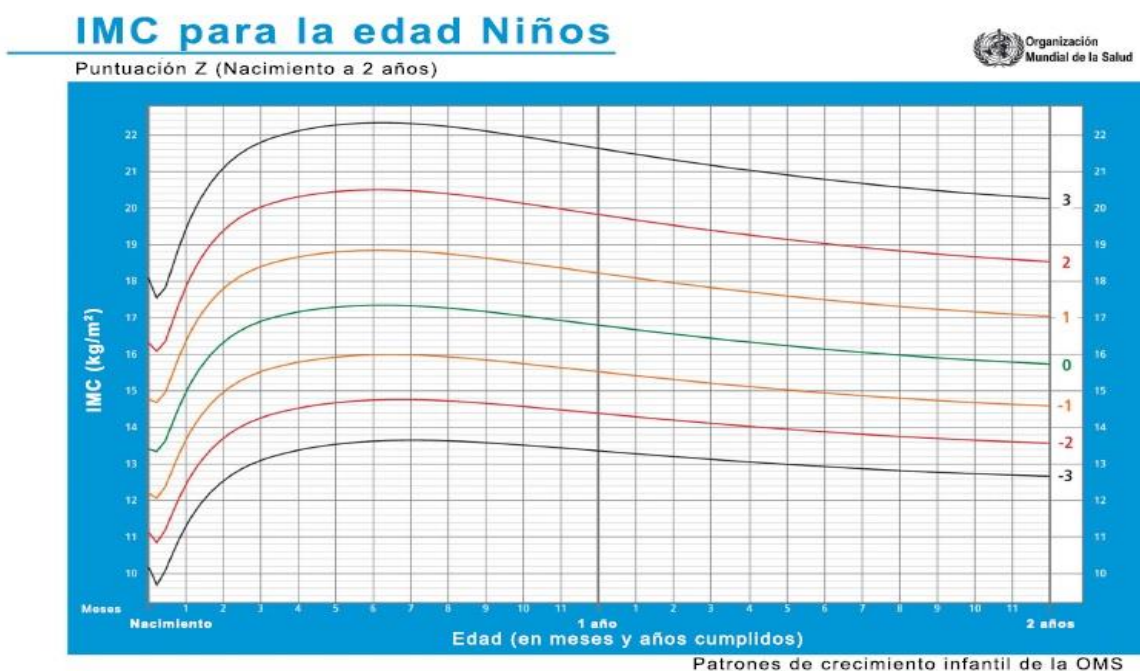
IMC para la edad Niñas

Percentiles (Nacimiento a 5 años)



Patrones de crecimiento infantil de la OMS

Anexo 4. Tabla de puntuación Z para niños desde el nacimiento a los 5 años de edad. Según OMS.



Anexo 5. Indicadores de crecimiento para menores de cinco años OMS. Interpretación del MINSA.

Rangos	Longitud/Talla para la Edad	Peso para Edad	IMC para edad Peso para talla
Por encima de 3 Mayor o igual a + 3.1	Muy Alto para la Edad (ver nota 1)	Sospecha de problema de crecimiento. (ver nota 2) Confirme clasificación con peso/talla	Obesidad
Por encima de 2 De + 2.1 a +3	Rango normal		Sobrepeso
Por encima de 1 De + 1.1 a - 1.0	Rango Normal		Posible riesgo de sobrepeso (Ver nota 3)
0 (X, mediana) De + 1 a - 1.0	Rango Normal	Rango normal	Rango normal
Por debajo de -1 De - 1.1 a - 2.0	Rango Normal	Rango normal	Rango normal
Por debajo de - 2 De - 2.1 a - 3	Talla baja (ver nota 4) (Desnutrición crónica moderada)	Peso bajo. (Desnutrición global moderada)	Emaciado (Desnutrición aguda moderada)
Por debajo de - 3 Menor o igual - 3.1	Talla baja severa (Ver nota 4). (Desnutrición crónica severa)	Peso bajo severo (Desnutrición global severa).	Emaciado severo (Desnutrición aguda severa).

Anexo 6. Instrumento de recolección de datos del proyecto SAGE.

SAGE: Visita Mensual

Versión: 1FEB2018

ID: _____

Código de Nombre: _____

Historia Natural, Inmunidad, y transmisión de patrones de Sapovirus En una cohorte de Nacimiento de Nicaragua

Visita Mensual

1. *INTRODUZCA LA FECHA DE HOY: (dd/mm/aaaa) ___/___/_____*
2. Hora: __: __
3. *INTRODUZCA EL NOMBRE DEL ENTREVISTADOR: _____*
4. *INTRODUZCA EL NUMERO DE VISITA PARA ESTE NIÑO(A): _____*
5. *INTRODUZCA LA PERSONA QUE PROVEE LA INFORMACIÓN (SI LA MAMÁ NO ESTÁ, ASEGURESE QUE ESTA PERSONA TIENE AUTORIZACIÓN DE LA MAMÁ PARA RESPONDER):*
 - Madre
 - Padre
 - Abuelo(a)
 - Hermano(a) mayor del niño(a)
 - Tío(a)
 - Otro miembro de la familia
 - Niñera no relacionada/nana
 - Otra _____
6. *¿HA CAMBIADO LA DIRECCIÓN, MIEMBROS DE LA CASA, TELÉFONO, O EL CUIDADOR(A)?*
 - SI—LLENE EL FORMULARIO APARTE PARA ANOTAR LOS CAMBIOS
 - NO
7. *¿Amamantó a su niño(a) ayer?*
 - SI
 - No — *SALTE A LA 10*
 - No sabe / Se niega a responder
8. *¿En el último mes, la madre ha recibido un nuevo diagnóstico de alguna enfermedad, incluyendo enfermedades infecciosas o crónicas?*
 - SI (ANÓTELA) _____
 - NO
 - No sabe / Se niega a responder
9. *¿En el último mes, la madre ha tenido transfusión de sangre u otro hemo-derivado?*
 - SI (ANOTE LA FECHA) ___/___/_____ (dd/mm/aaaa)
 - NO
 - No sabe / Se niega a responder
10. *¿Durante los últimos 7 días, su niño (a) recibió alimentos, fórmulas o líquidos, incluyendo agua o té o líquido en el chupón, además de leche materna?*
 - SI
 - NO
 - No sabe / Se niega a responder



SAGE: Visita Mensual

Versión: 1FEB2018

ID: _____

Código de Nombre: _____

11. ¿En el último mes, el niño (a) ha recibido un diagnóstico de alguna enfermedad, incluyendo enfermedades infecciosas o crónicas?
- SÍ (ANÓTELA) _____
- NO
- No sabe / Se niega a responder
12. ¿En el último mes, el niño (a) ha tenido transfusión de sangre u otro hemo-derivado?
- SÍ (ANOTE LA FECHA) ____/____/____ (dd/mm/aaaa)
- NO
- No sabe / Se niega a responder
13. Normalmente, cuántas veces el niño (a) defeca en un periodo de 24 horas?
- Menos de 1 4
- 1 5
- 2 6
- 3 Más de 6
14. ¿Qué animales viven en la casa? (LEA TODAS LAS OPCIONES Y MARQUE TODAS LAS QUE APLICAN)
- | | |
|--|---|
| <input type="radio"/> Ninguno | <input type="radio"/> Conejo |
| <input type="radio"/> Perro | <input type="radio"/> Loro o ave de compañía |
| <input type="radio"/> Gato | <input type="radio"/> Tortuga |
| <input type="radio"/> Gallina | <input type="radio"/> Ratones |
| <input type="radio"/> Cerdo | <input type="radio"/> Murciélagos |
| <input type="radio"/> Vaca | <input type="radio"/> Otros (ESPECIFIQUE) _____ |
| <input type="radio"/> Cabra, oveja, o pelibuey | <input type="radio"/> No sabe / Se niega a responder —SALTE A LA 16 |
15. ¿Con qué animales tiene contacto directo el niño (a) (toca, acaricia, abraza, etc.) (MARQUE TODAS LAS OPCIONES QUE APLICAN)
- | | |
|--|--|
| <input type="radio"/> Ninguno | <input type="radio"/> Conejo |
| <input type="radio"/> Perro | <input type="radio"/> Loro o ave de compañía |
| <input type="radio"/> Gato | <input type="radio"/> Tortuga |
| <input type="radio"/> Gallina | <input type="radio"/> Ratones |
| <input type="radio"/> Cerdo | <input type="radio"/> Murciélagos |
| <input type="radio"/> Vaca | <input type="radio"/> Otros (ESPECIFIQUE) _____ |
| <input type="radio"/> Cabra, oveja, o pelibuey | <input type="radio"/> No sabe / Se niega a responder |
- ¿Se lava típicamente las manos después de estas actividades? (LEA LAS OPCIONES EN VOZ ALTA)
16. Después de atender a alguien enfermo SÍ NO No sé / Se niega a responder
17. Antes de salir a la calle SÍ NO No sé / Se niega a responder
18. Antes de comer SÍ NO No sé / Se niega a responder
19. Antes de preparar comidas SÍ NO No sé / Se niega a responder
20. Después de ir al baño SÍ NO No sé / Se niega a responder
21. Después de cambiar los pañales SÍ NO No sé / Se niega a responder
22. Después de lavar la ropa SÍ NO No sé / Se niega a responder



SAGE: Visita Mensual

Versión: 1FEB2018

ID: _____

Código de Nombre: _____

23. ¿Con qué frecuencia usa un desinfectante para manos a base de alcohol cuando se lava las manos?

- Nunca
- Raramente
- A veces
- Siempre
- No sabe/ Se niega a responder

24. ¿Usted, o alguien de su casa, hace algo a su agua para que sea más seguro beber?

- SI
- NO — *SALTE A LA 35*
- No sabe / Se niega a responder — *SALTE A LA 35*

¿Con qué frecuencia usa los siguientes formas para hacer que su agua sea segura para beber? (*LEA LAS OPCIONES EN VOZ ALTA*)

- | | | | |
|-------------------------------|-----------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
| 25. Utiliza filtro de agua | <input type="radio"/> Nunca | <input type="radio"/> A veces | <input type="radio"/> Siempre |
| 26. Hierve | <input type="radio"/> Nunca | <input type="radio"/> A veces | <input type="radio"/> Siempre |
| 27. Añade lejía/cloro | <input type="radio"/> Nunca | <input type="radio"/> A veces | <input type="radio"/> Siempre |
| 28. Filtro de arena | <input type="radio"/> Nunca | <input type="radio"/> A veces | <input type="radio"/> Siempre |
| 29. Filtro de barro/cerámica | <input type="radio"/> Nunca | <input type="radio"/> A veces | <input type="radio"/> Siempre |
| 30. Desinfección solar | <input type="radio"/> Nunca | <input type="radio"/> A veces | <input type="radio"/> Siempre |
| 31. Colar a través de un paño | <input type="radio"/> Nunca | <input type="radio"/> A veces | <input type="radio"/> Siempre |
| 32. Dejarla reposar | <input type="radio"/> Nunca | <input type="radio"/> A veces | <input type="radio"/> Siempre |
| 33. Compara agua purificada | <input type="radio"/> Nunca | <input type="radio"/> A veces | <input type="radio"/> Siempre |
| 34. Otro: _____ | <input type="radio"/> Nunca | <input type="radio"/> A veces | <input type="radio"/> Siempre |

35. ¿Cuántos contenedores usa para almacenar agua en su casa? _____ (número)
(*SI ES CERO, SALTE A LA 37*)

36. ¿Qué tipos de contenedores usa? (*MARQUE TODOS LOS QUE APLICAN*):

- | | |
|---|---|
| <input type="radio"/> Baldes | <input type="radio"/> Tina |
| <input type="radio"/> Botes | <input type="radio"/> Cisterna / tanque |
| <input type="radio"/> Jarras / picheles | <input type="radio"/> Otro _____ |
| <input type="radio"/> Barril | <input type="radio"/> No sabe/ Se niega a responder |

37. ¿Cuántos inodoros tiene su casa? _____ (número)

- No sabe / Se niega a responder

38. ¿Cuántas letrinas tiene su casa? _____ (número)

- No sabe / Se niega a responder

39. Sin contar los miembros de su casa, ¿Cuántas casas utilizan estas instalaciones de baño?

- Número de casas _____
- No sabe/ Se niega a responder



SAGE: Visita Mensual

Versión: 1FEB2018

ID: _____ Código de Nombre: _____

40. Sin contar su niño(a), ¿Algún otro niño (a) en su casa, usa pañales?
- SI
- NO
- No sabe / Se niega a responder
41. ¿Cuántos espacios tiene su casa, incluyendo habitaciones, la sala, y la cocina, y excluyendo baños o pasillos?
- Número total de espacios: _____
- No sabe / se niega a responder
42. ¿Cuántas de estos espacios se usan para dormir?
- Número de espacios utilizadas para dormir: _____
- No sabe / se niega a responder
43. En la semana pasada, ¿Comió su niño alguna fruta o verdura fresca o sin cocinar?
- SI
- NO
- No sabe / Se niega a responder
44. En los últimos 7 días, ¿su niño (a) comió algún alimento que contuvo mariscos?
- SI
- NO ---SALTE A LA 46
- No sabe / Se niega a responder --- SALTE A LA 46
45. ¿Qué tipos de mariscos comió su niño en los últimos 7 días? *MARQUE TODOS LOS QUE SE APLICAN:*
- Pescado
- Camarón
- Langosta, cangrejo
- Conchas, almejas, mejillones, caracol, pulpo
- Otro _____
- No sabe / Se niega a responder
46. En los últimos 7 días, ¿su niño (a) comió algún alimento fuera de su casa?
- SI
- NO---SALTE A LA 48
- No sabe / Se niega a responder---SALTE A LA 48
47. ¿Dónde comió fuera de su casa? *MARQUE TODOS LOS QUE SE APLICAN:*
- Casa de la familiar o amigo
- Comida de la calle
- Comida del mercado
- Restaurante
- Otro _____
- No sabe/ Se niega a responder



SAGE: Visita Mensual

Versión: 1FEB2018

ID: _____ Código de Nombre: _____

48. ¿En los últimos 7 días su niño (a) compartió una botella o un vaso con otra persona?
- SI
- NO
- No sabe / Se niega a responder
49. En los últimos 7 días, ¿asistió su niño (a) a alguna reunión social, incluyendo eventos familiares, fiestas de cumpleaños, etc.?
- SI (ESPECIFIQUE): _____
- NO
- No sabe / Se niega a responder
50. En los últimos 7 días, ¿asistió su niño (a) a la guardería (un lugar que cuida a 4 o más niños)?
- SI
- NO
- No sabe / Se niega a responder
51. En los últimos 7 días, ¿cuántas veces se reunió con niños/as fuera de su casa?
- _____ veces por semana
- No sabe / Se niega a responder
52. En los últimos 7 días, ¿usó su niño (a) transporte público?
- SI
- NO
- No sabe / Se niega a responder
53. En los últimos 7 días, ¿su niño (a) fue a nadar o a bañarse?
- SI
- NO— *SALTE A LA 55*
- No sabe / Se niega a responder— *SALTE A LA 55*
54. ¿Dónde nadó o bañó? Marque todos los que aplican:
- Lago o río
- Océano
- Piscina
- Otro _____
- No sabe / Se niega a responder
55. En los últimos 7 días, ¿su niño (a) tuvo contacto con una persona que vive DENTRO DE SU CASA que estaba sufriendo de DIARREA?
- SI
- NO
- No sabe / Se niega a responder



SAGE: Visita Mensual

Versión: 1FEB2018

ID: _____ Código de Nombre: _____

56. En los últimos 7 días, su niño (a) tuvo contacto con una persona que vive DENTRO DE SU CASA que estaba con VOMITO?
- SI
- NO
- No sabe / Se niega a responder
57. En los últimos 7 días, ¿Su niño (a) tuvo contacto con una persona que vive FUERA DE SU CASA que estaba sufriendo de DIARREA?
- SI
- NO
- No sabe / Se niega a responder
58. En los últimos 7 días, ¿Su niño (a) o tuvo contacto con una persona que vive FUERA DE SU CASA que estaba con VOMITO?
- SI
- NO
- No sabe / Se niega a responder
59. En los últimos 7 días, ¿se ha interrumpido el abastecimiento de agua de su casa?
- SI
- NO—*SALTE A LA 61*
- No sabe / Se niega a responder—*SALTE A LA 61*
60. ¿Dónde consiguió su agua a tomar durante la interrupción? *MARQUE TODOS LOS QUE SE APLICAN*
- Agua municipal guardado
- De un pozo
- Agua purificado
- De camiones
- Otro _____
- No sabe / Se niega a responder
61. Muéstrame los lugares en la casa donde normalmente se lava las manos.
- OBSERVE SI EL JABÓN ESTÁ PRESENTE EN:*
- Todos
- Algunos
- Ningún
- No hay lavamanos o lavadera



SAGE: Visita Mensual

Versión: 1FEB2018

ID: _____

Código de Nombre: _____

HISTORIA DE VACUNACIÓN CONTRA ROTAVIRUS PARA NIÑOS/AS DE 2 MESES O MAYOR:

"¿Puedo mirar la tarjeta de inmunización de su niño(a)?"

COPIE LAS FECHAS DE LA TARJETA EXACTAMENTE. SI NO TIENE TARJETA, INFORME A LOS COORDINADORES DEL ESTUDIO.

NIÑO(A) YA COMPLETÓ LA ESQUEMA, O HA CUMPLIDO UN AÑO DE EDAD (SALTE A LA 64)

Rotarix dosis	¿El niño (a) recibió la vacuna?				Localidad donde él/ella fue inmunizado/a
	Si	No	No ha cumplido 2 meses	Fecha (dd/mm/aa)	
1º dosis	62-1			62-2	62-3 <input type="radio"/> Perla María Norori <input type="radio"/> Fundeci <input type="radio"/> Villa 23 de Julio <input type="radio"/> El Calvarito <input type="radio"/> Walter Ferreti <input type="radio"/> Arrocería <input type="radio"/> Rubén Darío <input type="radio"/> Salinas Grandes <input type="radio"/> Santa Ana <input type="radio"/> Otro puesto _____ <input type="radio"/> Antenor Sandino <input type="radio"/> Clínica Privada
2º dosis	63-1			63-2	63-3 <input type="radio"/> Perla María Norori <input type="radio"/> Fundeci <input type="radio"/> Villa 23 de Julio <input type="radio"/> El Calvarito <input type="radio"/> Walter Ferreti <input type="radio"/> Arrocería <input type="radio"/> Rubén Darío <input type="radio"/> Salinas Grandes <input type="radio"/> Santa Ana <input type="radio"/> Otro puesto _____ <input type="radio"/> Antenor Sandino <input type="radio"/> Clínica Privada

64. ¿Ha tenido el niño(a) diarrea en los últimos 7 días?

LA DIARREA ES CUANDO HAY UN AUMENTO HASTA 3 O MÁS DEPOSICIONES SUeltas O LÍQUIDAS EN 24 HORAS [PARA NIÑOS MENORES DE 2 MESES PUEDE REFERIRSE A PREGUNTA 20 PARA VER SI HA AUMENTADO EL NUMERO DE DEPOSICIONES EN 24 HORAS.] TAMBIEN SE CONSIDERAR SI HAY UN CAMBIO IMPORTANTE COMO SANGRE EN LAS HECEs O ABUNDANTE LIQUIDO, AUNQUE SEAN MENOS DE 3 DEPOSICIONES EN 24 HORAS.

- SÍ — CONTINUE A LA 65 Y COMPLETE EL FORMULARIO PARA DIARREA Y/O VÓMITO
 NO
 No sabe / Se niega a responder

65. ¿Ha vomitado su niño (a) (no sólo regurgitación después de comer) en los últimos 7 días?

- SÍ — COMPLETE EL FORMULARIO PARA DIARREA Y/O VÓMITO
 NO



SAGE: Visita Mensual

Versión: 1FEB2018

ID: _____

Código de Nombre: _____

No sabe / Se niega a responder

***PESE AL NIÑO(A) DOS VECES. SI LOS RESULTADOS SON DIFERENTES POR MÁS DE 100 GRAMOS, PESE AL NIÑO(A) UNA TERCERA VEZ, Y REGISTRE CADA PESO.**

INTRODUZCA EL PESO DEL NIÑO (SOLO PAÑALES LIMPIOS):

66. Primera vez: _____ g Peso en GRAMOS
67. Segunda vez: _____ g
68. Tercera vez: _____ g (SI LA DIFERENCIA ES MÁS DE 100g)

MIDE AL NIÑO(A) DOS VECES. SI LOS RESULTADOS SON DIFERENTES POR MAS QUE 1 CM, MIDE AL NIÑO(A) UNA TERCERA VEZ, Y REGISTRE CADA PESO.

INTRODUZCA LA TALLA (LONGITUD) DEL NIÑO(A) (<24 meses):

69. Primera vez: _____ cm Longitud en CM
70. Segunda vez: _____ cm
71. Tercera vez: _____ cm (SI LA DIFERENCIA ES MAS DE 1 CM)

RECOLLECTE LAS SIGUIENTE MUESTRAS:

72. Muestra de leche materna: (fecha) _____ (hora) _____
 La madre ya no amamanta a su niño(a)
 Esta muestra no se obtuvo (especifique) _____
73. Muestra de saliva del niño (a) (hisopo): (fecha) _____ (hora) _____
 Esta muestra no se aplica en esta visita por cumplir mas de 2 meses
 Esta muestra no se obtuvo (especifique) _____
74. Muestra de saliva del niño (a) (pipeta): (fecha) _____ (hora) _____
 Esta muestra no se obtuvo (especifique) _____
75. Muestra de heces del niño (a) (fecha) _____ (hora) _____
 Esta muestra no se obtuvo (especifique) _____
76. Muestra de sangre del niño/a de 6 semanas o 5/12/18/24/30/36 meses: (fecha) _____ (hora) _____
 Esta muestra no se aplica en esta visita por no cumplir la edad
 Esta muestra se aplica pero no se obtuvo (especifique) _____

FIN: AGRADEZCA AL PARTICIPANTE



Anexo 7. Instrumento de recolección de datos del proyecto SAGE.

SAGE: Formulario para diarrea y/o vómito
ID: _____

Versión: 1FEB2018
Código de Nombre: _____

FORMULARIO PARA DIARREA Y VÓMITO **COMPLETE ESTE FORMULARIO SOLAMENTE PARA EPISODIOS DE DIARREA Y/O** **VÓMITO**

1. **INTRODUZCA LA FECHA DE HOY:** (dd/mm/aaaa) ___/___/_____
2. Hora: ___:___
3. **INTRODUZCA EL NOMBRE DEL ENTREVISTADOR:** _____
4. **INTRODUZCA EL NÚMERO DE VISITA PARA ESTE NIÑO(A):** _____
4a. **PARA UN EPISODIO DE DIARREA ENTRE DOS VISITAS RUTINAS, MARQUE AQUÍ**
5. Según el cuestionario, ¿el niño(a) ha tenido diarrea y/o vómito en los últimos 7 días? (MARQUE TODOS QUE SE APLICAN)
Diarrea
Vómito
6. ¿Cuál es el estado de este episodio de diarrea y/o vómito?
Nuevo episodio (Se define por una interrupción en los síntomas por 3 días o más.)
Seguimiento de un episodio ya reportado (Se define por síntomas continuas desde el comienzo del episodio, con interrupciones de 2 días o menos.)
Seguimiento de un episodio DE SAPOVIRUS ya reportado

SI EL NIÑO/A HA TENIDO VÓMITO SIN DIARREA EN LOS ÚLTIMOS 7 DÍAS, SALTE A LA 10

7. ¿Cuál es la fecha en que comenzó la diarrea? **MOSTRAR A LOS CUIDADORES UN CALENDARIO Y MARQUE LA FECHA**
Nuevo episodio: ___/___/_____ (dd/mm/aaaa)
Seguimiento de un episodio ya reportado
8. ¿Cuál fue el número máximo de deposiciones por periodo de 24 horas que experimentó el niño (a) desde que comenzaron los síntomas?
_____ (número, rango 1-20)
No sabe / se negó a responder
9. ¿Cuál es la fecha en que terminó la diarrea? **MOSTRAR A LOS CUIDADORES UN CALENDARIO Y MARQUE LA FECHA**
___/___/_____ (dd/mm/aaaa)
La diarrea sigue en curso

SI EL NIÑO/A HA TENIDO DIARREA SIN VÓMITO EN LOS ÚLTIMOS 7 DÍAS, SALTE A LA 12