UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA

ÁREA DE LA SALUD HUMANA

CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO

DETERMINACIÓN DE ROTAVIRUS MEDIANTE EL MÉTODO INMUNOCROMATOGRÁFICO Y SU RELACIÓN CON LOS PRINCIPALES FACTORES DESENCADENANTES EN NIÑOS MENORES DE 5 AÑOS DE LA PARROQUIA BUENAVISTA DEL CANTÓN CHAGUARPAMBA.

Tesis previo a la obtención del título de Lcdo. en Laboratorio Clínico.

AUTOR:

JORGE DANIEL OREJUELA ORTIZ

DIRECTORA:

Dra. Sandra Freire

LOJA – ECUADOR

2013

DETERMINACIÓN DE ROTAVIRUS MEDIANTE EL MÉTODO INMUNOCROMATOGRÁFICO Y SU RELACIÓN CON LOS PRINCIPALES FACTORES DESENCADENANTES EN NIÑOS MENORES DE 5 AÑOS DE LA PARROQUIA BUENAVISTA DEL CANTÓN CHAGUARPAMBA.

CERTIFICACIÓN

Dra. Sandra Freire DOCENTE DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA, ÁREA DE LA SALUD HUMANA, CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO y Directora de tesis:

C E R T I F I C A:

Haber dirigido el presente trabajo de investigación titulado "**DETERMINACIÓN DE ROTAVIRUS Y SU RELACIÓN CON LOS PRINCIPALES FACTORES DESENCADENANTES EN NIÑOS MENORES DE 5 AÑOS DE LA PARROQUIA BUENAVISTA DEL CANTÓN CHAGUARPAMBA"**, propuesto por el señor Jorge Daniel Orejuela Ortiz, el mismo que ha sido desarrollado bajo mi orientación y revisión, durante todo el proceso de elaboración, por lo que apruebo su estructura y contenido, certificando su autenticidad y autorizo su presentación.

Loja, Mayo del 2013

……

Dra. Sandra Freire

DIRECTORA DE TESIS

AUTORÍA

Yo, **Jorge Daniel Orejuela** Ortíz, declaro ser autor del presente trabajo de tesis y eximo a la Universidad nacional de Loja y a sus representantes jurídicos de posibles reclamos o acciones legales, por el contenido de la misma.

Adicionalmente acepto y autorizo a la Universidad Nacional de Loja, la publicación de mi tesis en el Repositorio Institucional – Biblioteca Virtual.

Autor: Jorge Daniel Orejuela Ortíz

Firma:……

Cédula: 0803256965

Fecha: 01 de octubre de 2013

CARTA DE AUTORIZACIÓN DE TESIS

Yo, **Jorge Daniel Orejuela Ortiz,** declaro ser autor de la tesis titulada: **DETERMINACIÓN DE ROTAVIRUS MEDIANTE EL MÉTODO INMUNOCROMATOGRÁFICO Y SU RELACIÓN CON LOS PRINCIPALES FACTORES DESENCADENANTES EN NIÑOS MENORES DE 5 AÑOS DE LA PARROQUIA BUENAVISTA DEL CANTÓN CHAGUARPAMBA**, como requisito para optar al grado de: Licenciado en Laboratorio Clínico; autorizo al Sistema Bibliotecario de la Universidad Nacional de Loja, a través de la visibilidad de su contenido de la siguiente manera en el Repositorio Digital Institucional:

Los usuarios pueden consultar el contenido de este trabajo en el RDI, en las redes de información del país y del exterior, con las cuales tenga convenio la Universidad.

La Universidad Nacional de Loja, no se responsabiliza por el plagio o copia de la tesis que realice un tercero.

Para constancia de esta autorización, en la ciudad de Loja, a los treinta días del mes de septiembre del dos mil trece, firma el autor.

Firma: ……

Autor: Jorge Daniel Orejuela Ortíz

Cédula: 0803256965 Dirección: Loja

Correo electrónico: ore_jorge@hotmail.com

Teléfono: 062781247 Celular: 0981753887

DATOS COMPLEMENTARIOS

Directora de Tesis: Dra. Sandra Freire

Tribunal de Grado:

Presidenta: Dra. Marcia Mendoza

Vocal: Dra. Fabiola Barba

Vocal: Lcda. Enma Flores

AGRADECIMIENTO

Mis sinceros agradecimiento a la Universidad Nacional de Loja, al Área de la Salud Humana, y en especial a la carrera de Laboratorio Clínico por permitirme realizar mi formación universitaria.

A los docentes y autoridades de la carrera; quienes supieron guiarnos y transmitirnos sus conocimientos y experiencia durante toda la carrera.

De manera especial a la Dra. Sandra Freire directora de este trabajo investigativo quien con sus conocimientos y experiencia me orientó en el desarrollo y ejecución del presente trabajo.

Mis sinceros agradecimientos también a las autoridades del puesto de salud de la Parroquia Buenavista, población en general y a las madres de familia de los niños menores de 5 cinco años, quienes colaboraron desinteresadamente para la realización del presente estudio.

DEDICATORIA

Primero a Dios, por ser mi guía y refugio espiritual.

A mis padres: Jackson y Shirley, por ser mi apoyo incondicional en todo momento, porque confiaron en mi aún en situaciones adversas, cada sacrificio que hicieron se ve reflejado con la culminación de mis estudios universitarios.

A mis queridos hermanos Jackson y Eddy por sus consejos, confianza y apoyo moral en todo momento.

A Diana Delgado por compartir sus días conmigo; a mis hijas Daniela y Diana ustedes son mi razón de ser, gracias por su paciencia y comprensión. Las amo.

A mis abuelitas Olga (**+**) y Juana, gracias por su guía, motivación y cariño.

A mis familiares, amigos y de manera especial a mis compañeros, gracias por lo compartido en nuestra vida universitaria.

Jorge Daniel Orejuela Ortiz

RESUMEN

El rotavirus constituye uno de los agentes etiológicos virales más importantes de la diarrea infantil en todo el mundo, teniendo mayor impacto en países en vías de desarrollo. Tomando en cuenta que en la parroquia Buenavista de la provincia de Loja no se ha realizado un estudio de este tipo se vio pertinente determinar la frecuencia de rotavirus y su relación con los factores desencadenantes en niños menores de 5 años. El objetivo de este trabajo fue determinar la presencia de casos de rotavirus de acuerdo al sexo y relacionar con los principales factores desencadenantes. El presente estudio fue de tipo descriptivo, de corte transversal, desarrollado en la parroquia Buenavista del cantón Chaguarpamba, y se trabajó con una muestra de 84 niños quienes cumplieron con los criterios de inclusión, para el análisis de las muestras de heces se utilizó el test inmunocromatográfico y para los factores predisponentes se aplicó una encuesta a los padres de familia y luego de culminar el trabajo se llegó a las siguientes conclusiones: que el 15% fueron positivos con un predominio del sexo masculino, en cuanto a la relación con los factores desencadenantes se concluye que existe relación con el consumo de agua entubada y de quebrada, además no hierven el agua ni utilizan cloro para desinfectarla, es importante mencionar que la eliminación de excretas la realizan al aire libre y hay malos hábitos higiénicos como el no lavarse las manos después de hacer la deposición, factores que inciden directamente en la transmisión del rotavirus.

Palabras Clave: Rotavirus, factores desencadenantes, test inmunocromatográfico.

SUMMARY

Rotavirus is one of the most important viral etiologic agents of childhood diarrhea worldwide, with greater impact on developing countries. Taking into account that in the parish Buenavista Loja province has not made a study of this type was appropriate to determine the frequency of rotavirus and its relation to the triggers in children under 5 years. The aim of this study was to determine the rotavirus according to sex and related to the main triggers. This study was descriptive, cross-sectional study area was the parish of the canton Chaguarpamba Buenavista, and worked with a sample of 84 children who met the inclusion criteria. For the analysis of stool samples immunochromatographic test was used and predisposing factors were surveyed to parents. Reaching the following conclusions: that 15% were positive with a predominance of males, in terms of the relationship with the triggers is concluded that there is a relationship with piped water consumption and broken, also do not boil the water or use chlorine for disinfection, it is important to mention that excreta disposal is conducted outdoors and there are poor hygiene such as not washing hands after doing the deposition, factors that directly affect the transmission of rotavirus.

Key words:rotavirus, predisposing factors, immunochromatographictest.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

CONTENIDOS	Págs.
Título…….	II
Autoría……..	III
Certificación……	IV
Agradecimiento……	V
Dedicatoria……...	VI
Resumen……..	VII
Summary……..	VIII
Índice…….	IX
I.Introducción……..	10
II. Revisión de Literatura……	13
III. Materiales y Métodos……	27
IV. Resultados…….	31
V. Discusión……	44
VI. Conclusiones……	47
VII. Recomendaciones…….	49
Bibliografía…….	51
Anexos…….	54

I. INTRODUCCIÓN

Rotavirus es la principal causa de diarrea infantil grave en todo el mundo e infecta a millones de niños en los primeros cinco años de vida, la gastroenteritis por rotavirus se asocia a un mayor riesgo de deshidratación y de necesidad de hospitalización que la producida por otros microorganismos. La historia natural de la enfermedad muestra una alta incidencia de infecciones repetidas en los dos primeros años de vida, disminuyendo la gravedad del cuadro clínico con el número de infecciones debido a los anticuerpos de memoria.(1)

Según los datos de la Organización Panamericana de la Salud en su guía práctica de Vigilancia epidemiológica de diarreas causadas por rotavirus, en la Región de las Américas el rotavirus causa aproximadamente 75.000 hospitalizaciones y cerca de 15.000 muertes anuales.

El rotavirus puede provocar desde una infección asintomática en menores de 3 meses, hasta una diarrea grave con deshidratación que puede ocasionar la muerte. En los países más pobres la letalidad es mayor, producto de la desnutrición y de las dificultades para acceder oportunamente a los servicios de salud. (2)

Un estudio de prevalencia de la infección diarreica causada por rotavirus en los hospitales pediátricos del Ecuador en 1080 niños menores de 5 años realizado por el Ministerio de Salud Pública del Ecuador a cargo de la Dirección de Control y Mejoramiento de la Salud Pública, Programa Ampliado de Inmunizaciones, demostró que la prevalencia de rotavirus era del 40.8 %, con una incidencia alta, afectando a 1 de cada 3 niños menores de 5 años. (3)

La parroquia Buenavista perteneciente al cantón Chaguarpamba de la provincia de Loja presenta factores desencadenantes como: mala calidad del agua, mala eliminación de excretas, inadecuada recolección de la basura, consumo de agua no segura, malas costumbres higiénicas entre otros. Los factores antes descritos hacen de esta población un lugar apropiado para la existencia de muchos microorganismos, entre ellos el rotavirus.

Dichos microorganismos causan múltiples enfermedades especialmente en niños, los mismos que son el grupo más vulnerable de la sociedad.

Tomando en cuenta lo antes indicado se vio pertinente realizar la tesis denominada: DETERMINACIÓN DE ROTAVIRUS MEDIANTE EL MÉTODO INMUNOCROMATOGRÁFICO Y SU RELACIÓN CON LOS PRINCIPALES FACTORES DESENCADENANTES EN NIÑOS MENORES DE 5 AÑOS DE LA PARROQUIA BUENAVISTA DEL CANTÓN CHAGUARPAMBA.

Los objetivos propuestos fueron: determinar frecuencia del rotavirus en niños menores de 5 años, identificar los principales factores desencadenantes para su transmisión, relacionar los resultados positivos con dichos factores, también se propuso difundir los resultados obtenidos a la comunidad mediante charlas educativas y preventivas y además gestionar la atención médica y el tratamiento oportuno por parte del Área de Salud N° 4 de Catamayo.

Para el análisis de las muestras de heces se utilizó el test inmunocromatográfico y para los factores predisponentes se aplicó una encuesta a los padres de familia y luego de culminar el trabajo se llegó a las siguientes conclusiones: que el 15% fueron positivos con un predominio del sexo masculino, en cuanto a la relación con los factores desencadenantes se concluye que existe relación con el consumo de agua entubada y de quebrada, además no hierven el agua ni utilizan cloro para desinfectarla, es importante mencionar que la eliminación de excretas la realizan al aire libre y hay malos hábitos higiénicos como el no lavarse las manos después de hacer la deposición, factores que inciden directamente en la transmisión del rotavirus.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

1. APARATO DIGESTIVO

El aparato digestivo es el conjunto de órganos encargados del proceso de la digestión, es decir, la transformación de los alimentos para que puedan ser absorbidos y utilizados por las células del organismo. La función que realiza es la de transporte (alimentos), secreción (jugos digestivos), absorción (nutrientes) y excreción (mediante el proceso de defecación).

Estructura del tubo digestivo:

Es un órgano llamado también tracto gastrointestinalpresenta una sistematización prototípica, comienza en la boca y se extiende hasta el ano. Su longitud en el hombre es de 10 a 12 metros. El tubo digestivo y las glándulas anexas (glándulas salivales, hígado y páncreas), forman el aparato digestivo. Histológicamente está formado por cuatro capas concéntricas que son de adentro hacia afuera:

Capa interna o mucosa: Se encuentran glándulas secretoras de moco y HCl vasos linfáticos y algunos nódulos linfoides. Incluye una capa muscular internacompuesta de una capa circular interna y una longitudinal externa de músculo liso.

Capa submucosa: Compuesta de tejido conectivo denso irregular fibroelástico. Contiene el llamado plexo submucoso de Meissner, que es un componente del sistema nervioso entérico y controla la motilidad de la mucosa y en menor grado la de la submucosa, y las actividades secretorias de las glándulas.

Capa muscular externa: Presenta una capa circular interna y otra longitudinal externa de músculo liso (excepto en el esófago, donde hay músculo estriado). Esta capa muscular tiene a su cargo los movimientos peristálticos que desplazan el contenido de la luz a lo largo del tubo digestivo. Entre sus dos capas se encuentra otro componente del sistema nervioso entérico, el plexo mientérico de Auerbach, que regula la actividad de esta capa.

Capa serosa o adventicia: Se denomina según la región del tubo digestivo que reviste, como serosa si es intraperitoneal o adventicia si es retroperitoneal. La adventicia está conformada por un tejido conectivo laxo.

La serosa aparece cuando el tubo digestivo ingresa al abdomen, y la adventicia pasa a ser reemplazada por el peritoneo.

Suministra al organismo un aporte continuo de agua, electrolitos y nutrientes. Para ello, se requiere: 1) el tránsito de los alimentos a lo largo de todo el tubo digestivo; 2) la secreción de los jugos digestivos y la digestión de los alimentos; 3) la absorción de los productos digeridos, el agua y los distintos electrolitos; 4) la circulación de la sangre por los órganos gastrointestinales para transportar las sustancias absorbidas, y 5) un control de todas estas funciones por parte de los sistemas nervioso y hormonal. (4).

2. ROTAVIRUS

Los rotavirus constituyen un género de la familia Reoviridae, tiene 70 nm de diámetro y aspecto microscópico de rueda de carro. Posee 11 segmentos de ARN bicatenario. El core interno la constituyen las proteínas estructurales VP1, VP2, VP3. De las dos cápside, la interna está compuesta por la VP6. Se clasifican en grupos antigénicos del A al G, siendo el A el más frecuente en humanos.

La cápside externa está compuesta por la glucoproteína VP7 y espículas de proteínas VP4 que se proyectan al exterior del virión y son sensibles a proteasas. (5).

2.1 Historia

En el año de 1929, Zahorsky describió la “enfermedad de vómitos invernales”, la cual en forma retrospectiva probablemente correspondía casi siempre a gastroenteritis por rotavirus. Inicialmente se lo conoció con nombres como reo virus, orbivirus, duovirus y virus de la gastroenteritis infantil. (6)

Los rotavirus son microorganismos que fueron descubiertos inicialmente en 1973 por la Dra. Ruth Bishop y colaboradores, en Australia, mediante el uso de microscopia electrónica, lograron identificar el primer rotavirus humano. Se describe por primera vez cuando se estudia la mucosa duodenal de niños lactantes con gastroenteritis aguda.

Deben su nombre a que a la observación con el microscopio electrónico tienen una doble cápsidey entre la cápside interna y la externa hay unas prolongaciones. Estas le dan la apariencia de rayos de rueda de las bicicletas o de carreta.

Además son esféricos. Con estas características reciben el nombre de rotavirus, del latín rota que quiere decir rueda o virus en rueda. (7).

2.2 Enfermedad Diarreica Aguda por Rotavirus:

En todo el mundo, casi todos los niños sufren la infección por rotavirus entre los tres y los cinco años de edad.

Las infecciones de los neonatos son frecuentes, pero a menudo asintomáticas o leves, tal vez porque persiste la protección generada por los anticuerpos provenientes de la madre o transmitidos en la leche materna. Cuando la primera infección ocurre después de los 90 días de vida, suele ser sintomática y la incidencia de la enfermedad alcanza su punto máximo en niños de cuatro a 23 meses de edad. Son frecuentes las reinfecciones, pero la intensidad del cuadro disminuye con cada repetición de este. (8).

El rotavirus es un germen humano ubicuo, se encuentra en todos los climas y ocasiona infecciones frecuentes en humanos. Es el agente etiológico más frecuente encontrado en niños con diarrea aguda acuosa (hasta un 60% de los episodios), afecta a lactantes y preescolares, principalmente a niños de seis meses a dos años de edad. Es la etiología que con mayor frecuencia asocia diarrea acuosa grave y consecuentemente hospitalización.

Se excretan en grandes cantidades durante los episodios agudos y se transmiten de persona a persona por vía fecal – oral, debido a que en apariencia las partículas de rotavirus sobreviven en los aerosoles, es posible la transmisión asociada con fómites. (9).

En los brotes surgidos en instituciones tales como hospitales, guarderías y escuelas, la epidemia se caracteriza por la aparición repentina y numerosa de síntomas, normalmente de corta duración. (10).

2.3 Patogénesis

Los rotavirus infectan a las células en las vellosidades del intestino delgado. Se multiplican en el citoplasma de los enterocitos.

Una de las proteínas codificadas por el virus, la NSP4, es una enterotoxina viral que induce la secreción de líquidos y electrolitos a la luz intestinal al desencadenar una vía para la transducción de señales. Las células dañadas pueden desprenderse en la luz del intestino y liberar grandes cantidades de virus. La excreción viral dura, por lo general, 2 a 12 días en pacientes. Las diarreas a veces se deben a las absorciones defectuosas de sodio y de la glucosa conforme con las células dañadas en las vellosidades, se sustituyen por células inmaduras. Puede requerir de 3 a 8 semanas para restablecer la función normal.

La acción citolítica y tóxica sobre el epitelio intestinal provoca perdida de electrolitos e impide la reabsorción de agua. (11) (12).

2.4 Manifestaciones Clínicas

Las gastroenteritis cursan con vómitos, diarrea, fiebre moderada y dolor abdominal. El periodo de incubación de la gastroenteritis por rotavirus es de 1 – 3 días. El comienzo en general es brusco, pudiendo existir sensación de nauseas previo a la instauración de la diarrea. Los vómitos pueden proceder a la diarrea en 1 o 2 días y habitualmente desaparecen al cabo de 2 o 3 días. La diarrea suele ser acuosa y más abundante entre el segundo y tercer día de la enfermedad, disminuyendo con bastante rapidez, aunque en algunos niños puede persistir, de forma más moderada, días después.

En la mayoría de los casos dura entre cuatro y siete días. Las heces liquidas no presentan generalmente sangre, leucocitos ni moco, su color puede ser pálidos y llegar a veces a tonos blanquecinos. La fiebre suele ser moderada entre 38 y 39 °C. (13).

2.5 Factores desencadenantes

Son todos aquellos que favorecen a la aparición de cierta enfermedad, en este caso la producida por rotavirus, entre los generales tenemos:

1. No aplicar lactancia materna exclusiva durante los 4 o 6 meses primeros de vida.
2. No esterilizar los biberones para alimentar a sus hijos.

3. Guardar los alimentos a temperatura ambiente.
4. No hervir el agua de consumo.
5. No lavarse las manos después de defecar, limpiar las heces de los niños o de lavar los pañales y antes y después de manipular o servir los alimentos.
6. Higiene personal deficiente (lavado de manos).
7. Desnutrición y prácticas inapropiadas de lactancia materna.
8. Peso bajo al nacimiento.
9. Esquema de vacunación incompleto.
10. Falta de capacitación de la madre para la higiene familiar.
11. Contaminación fecal del agua y alimentos.

Contaminación fecal: La contaminación fecal del suelo y el agua es el factor más importante en la diseminación del rotavirus ya que los niños tienden a jugar a nivel del suelo teniendo contacto directo con objetos contaminantes.

Suelo: Los rotavirus pueden llegar al suelo de diversas formas:

- Defecación directa, o a través de letrinas.
- Utilización de residuos no tratados para el relleno de terrenos.
- Descarga de camiones con residuos patológicos.
- Utilización de heces como abono de vegetales.
- Uso de aguas servidas para riego.
- Defecación de animales.
- Disposición en terrenos de barros provenientes de plantas de tratamiento de afluentes cloacales, de piletas de decantación y de filtros de plantas potabilizadoras.

Agua: La importancia del agua en la diseminación del rotavirus, es un vehículo de transmisión y favorece la supervivencia de este virus. El agua se contamina de diversas maneras:

- Por medio de las heces humanas y de animales.
- Por destrucción de redes cloacales.
- Por contacto de pozos ciegos con redes de agua subterráneas utilizada para consumo.

- Por arrastre de elementos víricos de los suelos contaminados a través de las lluvias.

El agua para beber es la forma más común de infección, debido a la carencia de agua potable en muchas regiones y a veces los tratamientos de potabilización son insuficientes.

Condiciones ambientales: La humedad, temperatura, lluvias, vegetación, latitud, altura, etc. de un área geográfica determinada pueden favorecer o no el desarrollo de los virus.

Vida rural: La ausencia de letrinas en las zonas rurales es el factor importante para la alta prevalencia de virus y parasitosis en esas zonas.

Deficiencias de higiene y educación: La mala higiene personal y la ausencia de conocimientos sobre transmisión y prevención de las enfermedades producidas por virus son factores que favorecen su presencia.

Costumbres alimenticias: La ingestión de alimentos sin previo lavado y cocción es otro factor que permite la infección por rotavirus.

Migraciones: El movimiento de personas de zonas endémicas a regiones no endémicas ha permitido la diseminación del rotavirus, tomando en cuenta que este se transmite por vía fecal oral. Esto ocurre con el incremento de viajeros, migración de campesinos a las ciudades.

2.6 Diarrea por secreción de agua y electrolitos como respuesta a la irritación

Siempre que se produce una gran irritación del intestino grueso, como sucede en la enteritis debidas a infecciones bacterianas o víricas agudas, la mucosa secreta grandes cantidades de agua y electrolitos además de la solución viscosa normal de moco alcalino. De esta forma se diluyen los factores irritantes y se estimula un rápido progreso de las heces hacia el ano. El resultado es una diarrea con pérdida de grandes cantidades de agua y electrolitos. Al mismo tiempo, la diarrea arrastra factores irritantes y contribuye a una recuperación más rápida de la enfermedad. (4).

2.7 Replicación del Virus

En primer lugar se unen a la superficie del receptor beta adrenérgico. Tras la entrada del virión en la célula, la polimerasa de ARN dependiente sintetiza ARNm de cada uno de los 11 segmentos en el citoplasma. Los 11 ARNm se traducen en el correspondiente número de proteínas estructurales y no estructurales. Una ARN polimerasa sintetiza cadenas negativas que formaran parte del genoma de los virus progenie. Las proteínas de la cápside forman una cápside incompleta alrededor de las cadenas negativas, y entonces se sintetizan las cadenas positivas de los segmentos del genoma progenie. El virus se libera del citoplasma por lisis celular.

El Rotavirus inicia su ciclo de infección uniéndose a un receptor localizado en la superficie celular. Luego de la unión al receptor, el virus penetra al interior de la célula y pierde la capa externa, con lo cual se activa la transcripción. La replicación se lleva a cabo en el citoplasma de la célula hospedera. La partícula completa, que contiene las tres capas proteicas, es también llamada TLP; esta es la partícula infecciosa ya que la presencia de la capa externa formada por las proteínas VP4 y VP7 le permite unirse y penetrar a su célula huésped; la partícula que contiene dos capas proteicas o DLP no es infecciosa, pero es transcripcionalmente activa. Luego de la unión a un receptor celular ocurren los siguientes pasos en un transcurso de tiempo de 14 horas aproximadamente.

1. Adsorción de las proteínas externas del virión VP4 y VP7 a un receptor celular.
2. Penetración directa o por endocitosis.
3. La capa externa es removida como parte del proceso de entrada y permite activar la transcripción.
4. Producción de ARNm en el citoplasma por DLPs.
5. Una vez el ARNm emerge de las DLPs, el RNA de polaridad positiva es sintetizado por la RNA polimerasa viral.
6. Simultáneamente el ARNm es usado como molde para traducción de 6 proteínas virales estructurales y 5 proteínas no estructurales.

7. Ensamblaje de la capa que contiene VP1, VP2, VP3 y 11 segmentos de ARNss, formación de agregados de DLPs en una estructura electrodensa llamada viroplasma.
8. Maduración de los DLPs a TLPs:
    a. Glicosilación de VP7en el retículo endoplasmático rugoso (RER), NSP4 actúa como un receptor intracelular para DLPs.
    b. Envoltura transitoria de las partículas en el RER que contienen VP4 y VP7.
    c. Remoción de la envoltura.
9. Liberación de partículas infecciosas por lisis celular. (14)

2.8 Transmisión

El rotavirus se transmite por vía fecal – oral, aunque también se ha especulado que el contacto persona a persona, el contacto con secreciones respiratorias, o el contacto con superficies contaminadas pudieran ser potenciales fuentes de transmisión.

2.9 Inmunidad

La protección contra la enfermedad por rotavirus guarda relación con la presencia de los anticuerpos IgA secretorios y específicos del virus en los intestinos y en cierta medida, en el suero.

La producción de IgA especifica de virus en la superficie intestinal dura poco tiempo, por lo cual la protección completa contra la enfermedad es sólo temporal. Sin embargo, cada infección y cada reinfección ulterior confieren una inmunidad cada vez más sólida, de modo que el cuadro grave es más frecuente en los niños de corta edad con su primera o segunda infección. Se piensa que la memoria inmunitaria es importante en le aplacamiento de la enfermedad con cada reinfección, es decir con cada infección adicional por rotavirus disminuye la gravedad de los síntomas y aumenta la inmunidad. (8) (15).

2.10 Tratamiento y Control

El tratamiento de la gastroenteritis originada por rotavirus es de apoyo para corregir las pérdidas de agua y de electrolitos capaces de conducir a la deshidratación, acidosis, choque y muerte. El tratamiento consiste en la restitución de los líquidos y el restablecimiento de del equilibrio electrolítico por vía intravenosa u oral. La mortalidad por diarrea infantil es poco frecuente en los países desarrollados, debido al empleo rutinario de un tratamiento de restitución eficaz. (12)

3. PRUEBAS DE LABORATORIO

Existen diversos métodos en el mercado que pueden utilizarse para el diagnóstico de rotavirus, de tal forma que la técnica de elección dependerá del equipo y reactivos con que se disponga en cada Laboratorio.

3.1 Pruebas Inmunocromatográficas

Fundamento:

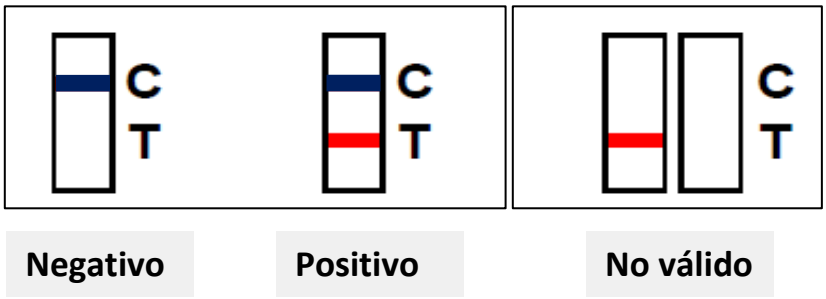
La Inmunocromatografía se basa en la migración de una muestra a través de una membrana de nitrocelulosa. La muestra es añadida en la zona de conjugado, el cual estáformado por un anticuerpo específico contra uno de los epítopos del antígeno a detectar y un reactivo de detección.

Si la muestra contiene el antígeno problema, éste se unirá al conjugado formando un complejo inmune y migrará a través de la membrana de nitrocelulosa. De lo contrario, migrarán el conjugado y la muestra sin unirse. La zona de captura está formada por un segundo anticuerpo específico contra otro epítopo del antígeno.

Al llegar la muestra a esta zona, los complejos formados por la unión del antígeno y conjugado quedarán retenidos y la línea se coloreará (muestras positivas). En el caso contrario las muestras son negativas. La zona control está formada por un tercer anticuerpo que reconoce al reactivo de detección. Cuando el resto de la muestra alcanza esta zona, el anticuerpo se unirá al conjugado libre que no ha quedado retenido en la zona de captura. Esta línea es un control de que el ensayo ha funcionado bien, porque se colorea siempre, con muestras positivas y negativas. (16)

Durante la prueba, la muestra reacciona con los conjugados coloreados (anticuerpos monoclonales de ratón anti-rotavirus-microesferas rojas) previamente secados en test. Este complejo avanza por capilaridad a través de la membrana del test.

Para dar el resultado como positivo, una linea de color ROJO aparecerá en la zona de resultados de la membrana. La ausencia de esta sugiere un resultado negativo. Independientemente de que haya presencia o no de rotavirus, la mezcla de conjugado va avanzando por la membrana hasta la región de control donde se han inmovilizado anticuerpos y siempre aparecerá una linea de color AZUL (linea de control). La aparición de esta linea se utiliza: 1) para verificar que se ha añadido el volumen de muestra suficiente. 2) que el flujo ha sido el apropiado; y 3) como control interno de los reactivos.



Sensibilidad: La detección por Rotavirus presenta una sensibilidad de un 99,9%

Especificidad: La detección de Rotavirus presenta una especificidad de un 96,6%

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS:

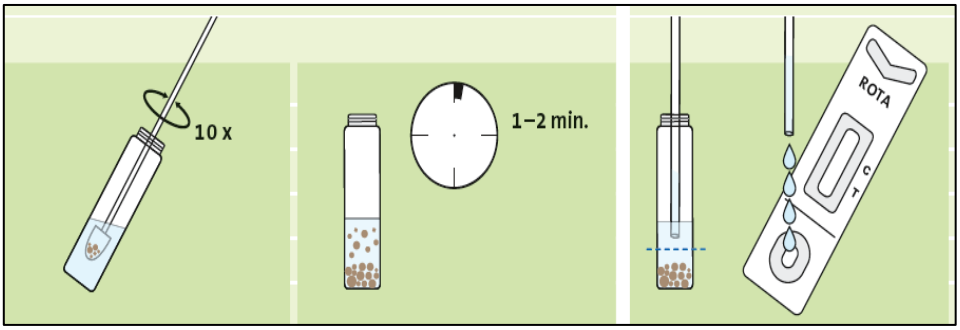
NEGATIVO: Una sola línea de color AZUL apareceen la zona marcada con la letra C (línea de control).

POSITIVO: Además de la línea de control AZUL, también aparece una línea ROJA en la zona marcada con la letra T (línea de Test o resultado).

INVÁLIDO: Cuando la línea de color AZUL no aparece independientemente de que aparezca o no la línea ROJA. Esto se puede dar por cantidad insuficiente muestra, procesamiento incorrecto o deterioro de los reactivos. Si ocurre esto se debe repetir el procedimiento con un nuevo dispositivo.

PROCEDIMIENTO:

1. Con el palito se toma una cantidad de heces.
2. Se introduce el palito en el tampón de extracción para la dilución de la muestra, agitar para facilitar la dispersión de la muestra. (Para muestras líquidas, utilizar una pipeta y añadir 100 ul en vial para muestras con diluyente.)
3. Una vez homogenizada la muestra se procede a colocar 3 a 4 gotas en el pocillo del test.
4. Se espera 1 o 2 minutos y se observa si el resultado es positivo o negativo de acuerdo a la coloración en las líneas de control y de test o prueba.



CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD:

El kit es estable hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta, a temperatura ambiente controlada de 2 – 30 °C, sellado y con desecante dentro del sobre. No congelar ni exponer a temperaturas superiores a 30 °C.

TOMA DE MUESTRA Y CONSERVACIÓN:

Tomar (1 – 2 g o ml de muestras líquidas. Las muestras deben ser almacenadas en un recipiente limpio y seco (sin conservantes o medios de transporte).

Se pueden conservar 1 o 2 días de 2 – 4 °C. En un tiempo prolongado deben ser congeladas a – 20 °C.

Precauciones:

- Seguir las instrucciones del kit para obtener resultados confiables.
- Considerar a las muestras como potencialmente infeccioso.

- Para cada muestra utilizar una pipeta desechable y una placa, no reutilizar.
- Desechar en los residuos contaminantes.

CONTROL DE CALIDAD:

- **Control de Calidad Interno:** La presencia de la línea AZUL en la zona de control indica que se ha usado un volumen correcto de muestra y el procedimiento ha sido adecuado. La claridad del fondo de la ventana, indica que el test funciona correctamente
- **Control de Calidad Externo:** Se recomiendan controles positivos y negativos para, para controlar el desarrollo del ensayo.

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO:

1. Una vez abierto el dispositivo no debe usarse después de 2 horas.
2. Un exceso de muestra puede dar resultados negativos, dando líneas no muy definidas. Diluir la muestra en más tampón y repetir el ensayo.
3. Se debe tomar la muestra dentro de la primera semana de aparición de los síntomas, ya que luego de esto la presencia del virus disminuye considerablemente.
4. Esta prueba diagnóstica una posible infección por rotavirus, esto debe confirmarse con un médico especialista.

OTRAS PRUEBAS:

3.2 Inmunofluorescencia directa (ID): Es una de las técnicas más antiguas y de uso más difundido en el laboratorio clínico.

Muestras clínicas apropiadas son recolectadas y colocadas sobre portaobjetos donde se dejan secar y fijar. Luego se agregan anticuerpos específicos marcados con isotiocianato de fluoresceína que difunden a través de la membrana celular y se combinan con losantígenos víricos en el interior de las células.

La reacción antígeno anticuerpo se visualiza con el microscopio de fluorescencia, por la aparición de fluorescencia de color verde manzana.

3.3 Test de aglutinación: El test de aglutinación es un método simple, de un solo paso, que a veces se usa para la detección de antígenos virales en muestrasclínicas. Los ensayos de aglutinación, dependen de la fijación inicial de anticuerpos antivirales específicos sobre eritrocitos o partículas de látex. Luego este reactivo se incuba con la muestra clínica en la cual se investiga el antígeno y las partículas se aglutinan si el antígeno adecuado se encuentra presente.

3.4 Enzimoinmunoanálisis (EIA): Los EIA para la detección de antígeno se basan habitualmente en la captura del antígeno por anticuerpos específicos unidos a una fase sólida, en general el pocillo de un micro placa o una pequeña esfera de plástico.

El antígeno viral presente en la muestra clínica se combina con el anticuerpo fijado a la fase sólida y el antígeno viral se detecta mediante la adición de otro anticuerpo específico conjugado a una enzima. La enzima conjugada suele ser peroxidasa o fosfatasa alcalina.

El substrato para esas enzimas varía. En la reacción con la peroxidasa el substrato es un peróxido capaz de oxidar un compuesto químico incoloro que en su forma oxidada tiene un color característico.

3.5 Reacción en cadena de la polimerasa (PCR): Tiene una sensibilidad tan alta que puede amplificar una única molécula de DNA y una sola copia de genes puede ser extraída, de mezclas complejas de secuencias genómicas y visualizada como bandas diferentes en geles de agarosa.

3.6 Western Blot (WB): La técnica de WB se basa en la separación electroforética de proteínas virales que son posteriormente inmovilizada en papel de nitrocelulosa con el objeto de determinar la presencia de anticuerpos específicos contra cada una de esas proteínas. (17).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

TIPO DE ESTUDIO:

Descriptivo, prospectivo y de corte transversal.

ÁREA DE ESTUDIO:

Parroquia Buenavista del cantón Chaguarpamba ubicada al Noroeste de la cabecera cantonal de Chaguarpamba, a 24 Km. Al Norte limita con el cantón Piñas, al Sur con la parroquia Gonzanamá, por el oriente con las parroquias urbanas de Olmedo y Chaguarpamba, y por el occidente con el cantón Paltas

UNIVERSO:

El 100% de niños menores de 5 años de la parroquia Buenavista.

MUESTRA:

84 niños menores de 5 años que cumplieron con los criterios de inclusión.

CRITERIOS DE INCLUSIÓN:

- Niños menores de 5 años que estén radicados en la parroquia Buenavista.
- Niños menores de 5 años cuyos padres firmaron el consentimiento informado.
- Niños que lleven la muestra en las condiciones idóneas, es decir que la muestra sea recolectada en un recipiente estéril y que la cantidad de la misma sea moderada.

CRITERIOS DE EXCLUSIÓN:

- Niños que no cumplieron con los criterios de inclusión.
- Niños mayores de 5 años.
- Niños que no lleven la muestra en las condiciones idóneas.
- Niños con diagnóstico confirmado de Rotavirus.

PROCEDIMIENTOS MÉTODOS Y TÉCNICAS DE RECOLECCIÓN DE DATOS:

Fase Pre-analítica:

- Se elaboraró oficios que fueron dirigidos a las autoridades de salud de Área Nº 4 Catamayo Dr. César Juca; al médico encargado del puesto de salud de la parroquia Buenavista, Dr. Iván Lima, al presidente de la junta parroquial, Sr. Nayo Balcázar. **Anexo Nº 1.**
- Se elaboraró una encuesta que fue aplicada a los padres de familia de los niños menores de 5 años para determinar los factores predisponentes para adquirir infección por Rotavirus. **Anexo Nº 2.**
- Datos estadísticos de la población certificado por el Licenciado Ricardo Tandazo, enfermero del puesto de salud de la Parroquia Buenavista. **Anexo Nº 3.**
- Se reunió a las personas seleccionadas en las instalaciones de la casa comunal de la Parroquia Buenavista, para informar sobre la actividad a realizar, sus beneficios y además las condiciones en las que deben recolectar la muestra de sus hijos el día del análisis. Finalmente se les hizo la entrega de un Tríptico, el cual contenía las condiciones en las que se debería llevar la muestra al laboratorio, estas condiciones fueron: la muestra fue recolectada en un recipiente estéril, la cantidad fue moderada, no estuvo derramada y llevar lo antes posible para su análisis. **Anexo Nº4.**
- Se elaboró un documento de consentimiento informado el cual fue entregado a cada uno de los padres representantes de los niños en estudio, para ser firmado y que sirvió de respaldo para realizar el análisis respectivo. **Anexo Nº 5.**
- Se elaboró una hoja de registro de datos, con el fin de conservar y tener un respaldo de la información obtenida de los análisis Clínicos. **Anexo Nº 6.**

Fase Analítica:

- Se realizó el análisis de las muestras de heces para determinar el rotavirus mediante un test inmunocromatográfico.

Fundamento: La Inmunocromatografía se basa en la migración de una muestra a través de una membrana de nitrocelulosa.

La muestra es añadida en la zona de conjugado, el cual está formado por un anticuerpo específico contra uno de los epítopos del antígeno a detectar y un reactivo de detección.

Si la muestra contiene el antígeno problema, éste se unirá al conjugado formando un complejo inmune y migrará a través de la membrana de nitrocelulosa. De lo contrario, migrarán el conjugado y la muestra sin unirse.

La zona de captura está formada por un segundo anticuerpo específico contra otro epítopo del antígeno.

Al llegar la muestra a esta zona, los complejos formados por la unión del antígeno y conjugado quedarán retenidos y la línea se coloreará (muestras positivas). En el caso contrario las muestras son negativas. La zona control está formada por un tercer anticuerpo que reconoce al reactivo de detección, cuando el resto de la muestra alcanza esta zona, el anticuerpo se unirá al conjugado libre que no ha quedado retenido en la zona de captura. Esta línea es un control de que el ensayo ha funcionado bien, porque se colorea siempre, con muestras positivas y negativas.

Procedimiento:

1) Con el palito se toma una cantidad de heces.
2) Se introduce el palito en el tampón de extracción para la dilución de la muestra.
3) Se procede a colocar 3 a 4 gotas en el pocillo del test.
4) Se espera 1 o 2 minutos y se observa si el resultado es positivo o negativo de acuerdo a la coloración en las líneas de control y de test o prueba.

Control de Calidad:

- **Control de Calidad Interno:** La presencia de la línea AZUL en la zona de control indica que se ha usado un volumen correcto de muestra y el procedimiento ha sido adecuado. La claridad del fondo de la ventana, indica que el test funciona correctamente.
- **Control de Calidad Externo:** Se recomiendan controles positivos y negativos para, para controlar el desarrollo del ensayo. **Anexo N° 7.**

Fase Post- analítica:

- Elaboraciónde un formato de entregaderesultados, el cual se entregó al Médico encargado del puesto de salud de la Parroquia Buenavista, para que sean retirados por cada uno de los padres de familia de los niños en estudio. **Anexo Nº 8.**
- Se difundieron los resultados a la población de Buenavista, el personal de Salud y autoridades que participaron en el presente trabajo investigativo. **Anexo N° 9**.

TABULACIÓN Y ANÁLISIS DE DATOS:

La tabulación de los datos se la realizó en el programa informático Microsoft Excel, los resultados fueron presentados en tablas de frecuencia simple y gráficos.

IV. RESULTADOS

Tabla N° 1

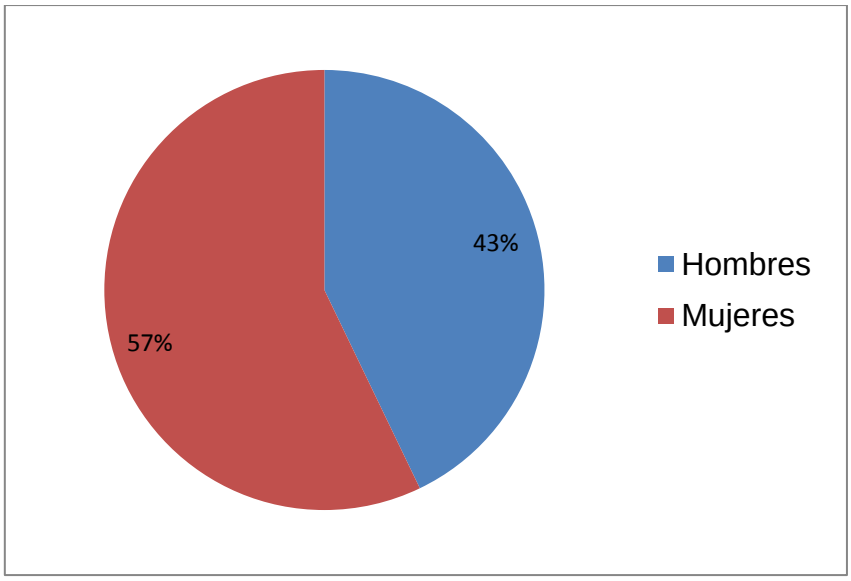
DISTRIBUCIÓN DE LA POBLACIÓN EN ESTUDIO DE ACUERDO AL SEXO

Sexo	Frecuencia	Porcentaje
Hombres	36	43
Mujeres	48	57
Total	84	100

Fuente: Registros de la Investigación
Elaborado por: Jorge Orejuela Ortiz

Gráfico N° 1

DISTRIBUCIÓN DE LA POBLACIÓN EN ESTUDIO DE ACUERDO AL SEXO



Fuente: Registros de la Investigación
Elaborado por: Jorge Orejuela Ortiz

El grafico demuestra que en la población hubo un predominio del sexo femenino con una frecuencia de 48, dando un porcentaje de 57%.

Tabla N° 2

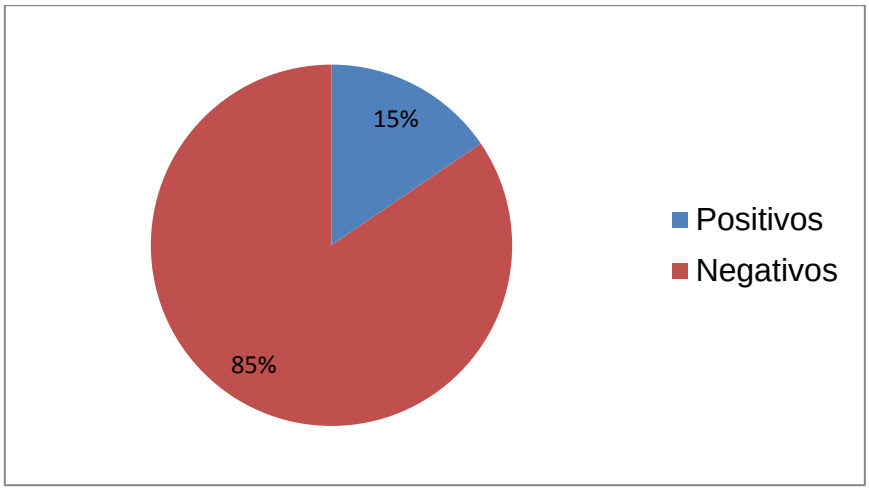
PRESENCIA DE ROTAVIRUS EN NIÑOS MENORES DE 5 AÑOS DE LA PARROQUIA BUENAVISTA DEL CANTÓN CHAGUARPAMBA

Casos	Frecuencia	Porcentaje
Positivos	13	15
Negativos	71	85
Total	84	100

Fuente: Registros de la Investigación
Elaborado por: Jorge Orejuela Ortiz

Gráfico N° 2

PRESENCIA DE ROTAVIRUS EN NIÑOS MENORES DE 5 AÑOS DE LA PARROQUIA BUENAVISTA DEL CANTÓN CHAGUARPAMBA



Fuente: Registros de la Investigación
Elaborado por: Jorge Orejuela Ortiz

El gráfico demuestra que 13 casos fueron positivos representando un 15%, mientras que los casos negativos fueron 71 correspondiente al 85%.

Tabla N° 3

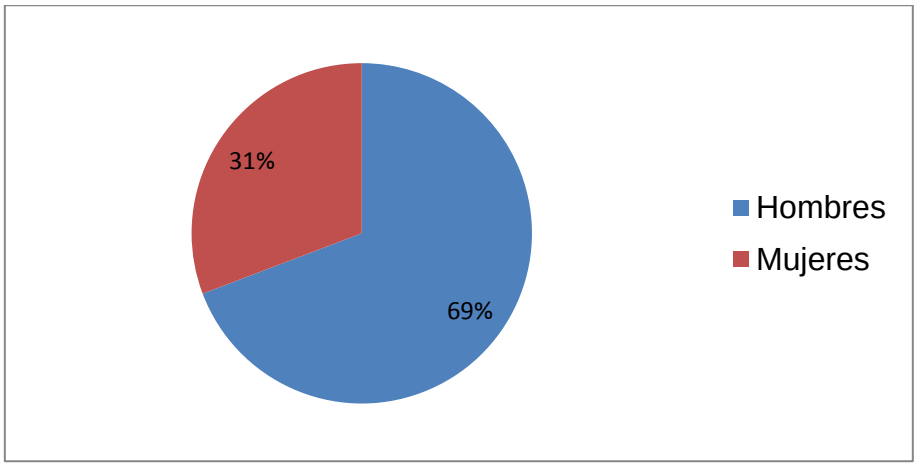
FRECUENCIA DE ROTAVIRUS EN NIÑOS MENORES DE 5 AÑOS DE LA PARROQUIA BUENAVISTA DEL CANTÓN CHAGUARPAMBA DE ACUERDO AL SEXO

Sexo	Frecuencia	Porcentaje
Hombres	9	69
Mujeres	4	31
Total	13	100

Fuente: Registros de la Investigación
Elaborado por: Jorge Orejuela Ortiz

Gráfico N° 3

FRECUENCIA DE ROTAVIRUS EN NIÑOS MENORES DE 5 AÑOS DE LA PARROQUIA BUENAVISTA DEL CANTÓN CHAGUARPAMBA DE ACUERDO AL SEXO



Fuente: Registros de la Investigación
Elaborado por: Jorge Orejuela Ortiz

El presente gráfico indica que de 13 casos positivos, 9 fueron de sexo masculino representando un 69% y 4 de sexo femenino correspondiente al 31%.

Tabla N° 4

RELACION DE CASOS DE ROTAVIRUS EN NIÑOS MENORES DE 5 AÑOS DE LA PARROQUIA BUENAVISTA DEL CANTÓN CHAGUARPAMBA CON LOS FACTORES DESENCADENANTES

Casos de Rotavirus		FACTORES DESENCADENANTES																							
		Agua para consumo						Eliminación de desechos										Hábitos higiénicos							
		Entubada y de quebrada		Sin Hervir		Sin Clorar		Excretas				Basura						Lavado de manos				Lavado de alimentos			
								Aire libre		Letrina		Carro recolector		Aire libre		Quema		Si		No		Si		No	
Frecuencia	%	F	%	F	%	F	%	F	%	F	%	F	%	F	%	F	%	F	%	F	%	F	%	F	%
13	15	13	15	13	15	13	15	9	10.4	4	4.6	1	1.15	11	12.7	1	1.15	1	1.2	12	13.8	4	4.6	9	10.4

Fuente: Registros de la Investigación
Elaborado por: Jorge Orejuela Ortiz

De los 13 casos positivos para rotavirus equivalente al 15% de la población en estudio se observa que los factores desencadenantes más importantes son el consumo de agua entubada y de quebrada, además ninguno hierve el agua ni utilizan cloro para desinfectarla, en cuanto a la eliminación de excretas 9 lo hacen al aire libre y 4 en letrina representando 10.4% y 4.6% respectivamente. En lo que respecta a los hábitos higiénicos 12 (13.8%) personas no se lavan las manos luego de hacer la deposición y 9 (10.4%) tampoco lavan los alimentos antes de consumirlos.

V. DISCUSIÓN

El rotavirus constituye uno de los agentes etiológicos virales más importantes de la diarrea infantil e infecta a millones de niños en todo el mundo, siendo el responsable de 1 por cada 20 muertes infantiles, teniendo mayor impacto en países en vías de desarrollo debido a la dificultad para acceder a los servicios de salud, además esta enfermedad constituye una de las principales causas de morbi-mortalidad infantil. La Organización Mundial de la Salud estima que en el mundo ocurren aproximadamente 100 millones de episodios diarreicos al año y cinco millones aproximadamente de fallecimientos infantiles por esta causa.

En la presente investigación se trabajó con una muestra de 84 niños menores de 5 años, los mismos que cumplieron con los criterios de inclusión, para conocer los factores desencadenantes se aplicó una encuesta a los padres de familia, se identificaron factores como: mala calidad del agua, no hervir ni clorar el agua antes de consumirla, mala eliminación de excretas, malos hábitos higiénicos como el no lavarse las manos después de hacer la deposición. En cuanto a la relación de estos factores con los casos positivos se determinó que tienen estrecha relación e inciden directamente en la transmisión del rotavirus.

Una vez analizadas las 84 muestras se determinó que 13 casos fueron positivos, representando un 15%, con predominio del sexo masculino; estos datos coinciden con los de un estudio realizado en el Área de Pediatria del Hospital Verdi Cevallos Balda de la provincia de Manabí en 2011 en donde se trabajó con una muestra de 69 niños, de los cuales 10 fueron positivos con un porcentaje de 14,5%, además todos los niños estaban diagnosticados con síndrome diarreico agudo. (22)

Por otra parte en un estudio realizado en Tunja - Colombia en el año 2004 acerca de los agentes causantes de diarrea en niños menores de 5 años, se encontró que el rotavirus ocupaba el primer lugar con un porcentaje de 48,1%. (23)
En otro estudio realizado en centros asistenciales del estado Miranda en Venezuela en el 2007, se evaluaron a 160 niños menores de 5 años con enfermedad diarreica aguda, de ellos 31 obtuvieron resultado positivo para rotavirus representando el 19,4%. (24)

Cabe mencionar que en los tres estudios citados junto con el presente trabajo investigativo hubo predominio de la infección para el sexo masculino.

En lo que respecta a los factores desencadenantes tales como la mala calidad del agua, inadecuada eliminación de excretas y deficientes hábitos higiénicos los estudios señalados anteriormente tienen relación con el presente trabajo, demostrando de esta manera que el rotavirus es dependiente de los factores antes descritos.Además en ese momento no había la incorporaron de la vacuna contra el rotavirus por parte de las autoridades de salud, no obstante en nuestro país ya está instaurada la aplicación de la vacuna contra el rotavirus de manera gratuita por parte del ministerio de Salud desde el año 2007 y es por ello que se ve una reducción del porcentaje de la infección por rotavirus aunque aún sigue persistente.

Es necesario mencionar que en la actualidad están inaugurando el servicio de agua segura para la comunidad.

VI. CONCLUSIONES

Se determinó la frecuencia de rotavirus en niños menores de 5 años de acuerdo al sexo, observándose un predominio en el sexo masculino con 9 casos positivos (69%) y 4 (31%) para el sexo femenino.

Se identificaron los principales factores desencadenantes para la transmisión de rotavirus, los mismos que fueron: la mala calidad del agua con un porcentaje de 15%, la inadecuada eliminación de excretas con 10,4%. Las malas normas de higiene entre ellas: no lavarse las manos después de salir del baño teniendo un porcentaje de 13,8%, no hervir el agua ni utilizar cloro para desinfectar la misma con 15%.

Se relacionaron los resultados positivos con los factores desencadenantes, demostrando que todos los casos positivos tenían diarrea en los últimos días, además se relacionan con los factores desencadenantes analizados y se estima que estos están estrechamente relacionados e inciden directamente en la transmisión del rotavirus.

Se entregaron y difundieron los resultados obtenidos a la parroquia de Buenavista y al personal de Salud mediante charlas educativas y preventivas.

Se gestionó la atención médica y tratamiento por parte del Área de Salud N°4 de Catamayo a los niños que obtuvieron resultado positivo.

VII. RECOMENDACIONES

Se sugiere a las autoridades del Área de salud N° 4 de Catamayo realizar estudios de esta índole con los estudiantes en las poblaciones aledañas, para establecer frecuencias reales de rotavirus de manera que sirva como un perfil epidemiológico y a la vez brindar la atención médica y el tratamiento oportuno a los niños que l requieran.

Se recomienda a las autoridades del puesto de Salud de Buenavista realizar campañas preventivas de manera continua acerca del correcto manejo y eliminación de las excretas, lavado de las manos y las formas de desinfectar el agua, esto con el fin de evitar la propagación de enfermedades.

Se propone además realizar más investigaciones de este tipo para que sea un complemento del presente trabajo y de esta manera ayudar al mejoramiento de la calidad de vida de los niños y la población en general.

VIII. BIBLIOGRAFÍA

1. OPS/OMS. CIE-10. CLASIFICACIÓN ESTADÍSTICA INTERNACIONAL DE ENFERMEDADES Y PROBLEMAS RELACIONADOS CON LA SALUD. Décima Revisión. Vol. 1 a 3. Publicación científica No. 554. Primera reimpresión. Washington D. C., 1996.
2. Enfermedades prevalentes graves de la infancia. Guía básica para el nivel de referencia hospitalaria. OPS/OMS/UNICEF. Serie HCT/AIEPI23E. Ginebra: OMS; 2001.
3. INEC. Dirección de Estadísticas Sociodemográficas. Anuario de Estadísticas Vitales 2000, en prensa. INEC. Dirección de Estadísticas Sociodemográficas. INEC. Base de datos de defunciones 2000. Quito, 2001.
4. Guyton, Hall, Tratado de Fisiología Médica. Décima Edición. Capítulo 62. Mc Graw Hill Interamericana. Pág: 865.
5. Saldaña N Macías M. Vacunas en Pediatria. Capítulo 11. Pág: 95 – 98. Mc Graw Hill Interamericana. Mexico 1999.
6. Forbes B, Sahm D. Diagnostico Microbiológico 12va Edición. Capítulo 51. Pág: 733. Editorial Médica Panamericana. Argentina 2009.
7. Harrison. Principios de medicina Interna. 17va Edición. Vol. 1. Pág: 1204 – 1208. Mc Graw Hill Interamericana. 2008.
8. Romero C, Síndrome diarreico infeccioso. Capítulo 7. Pág: 57 – 67. Editorial Panamericana. México 2002.
9. Eley R, Intoxicaciones Alimentarias de etiología Microbiana. Capítulo 6. Pág: 107 – 110. Editorial Acribia. España 2000.
10. Farreras. Rozman. Medicina Interna. 16va Edición. Vol. 2. Capítulo 315. Pág: 2541 – 2544. Editorial Elsevier. España 2009.
11. Jawetz. Melnick. Adelberg. Microbiología Médica. 19a Edición Traducida de la 24a Edicion en inglés. Capítulo 37. Pág: 527 – 530. Manual Moderno. Mexico 2008.

12. Murray P, Microbiología Médica. 6ta Edición. Capítulo 61. Pág: 601 – 606. Editorial Elsevier. España 2009.

13. Lerinson W, Microbiología e Inmunología Médicas. 8va Edición. Capítulo 40. Pág: 285 – 286. Mc Graw Hill Interamericana. España 2006.

14. Prescott M, Haley P, Klein A, Microbiología. 5ta Edición. Pág: 965. Mc Graw Hill Interamericana. España 2002.

15. Spicer W, Microbiología Clínica y enfermedades infecciosas. 2da Edición. Pág: 161. Editorial Elsevier. España 2009.

16. PAI C. H., SHAHRABADI M. S. and INCE B ., "Rapid Diagnosis of Rotavirus gastroenteritis by a comercial latex aglutination test , journal of Clinical Microbiology , vol .22 No 5, Nov.1985, pp.846-850.

17. Baron S, Medical Microbiology. 4 ed. Texas: The University of Texas Medical Branch of Galveston. Disponible en: http://gsbs.utmbredu/microbook/

18. Prats G, Microbiología Clínica. Capítulo 15. Pág: 251 – 252. Editorial Panamericana. España 2005.

19. Porth C, Fisiopatologia. Salud – Enfermedad. 7ma Edición. Editorial Panamericana. 2007.

20. Gunther B, Morgado E, Fisiopatologia Humana. Capítulo 25. Pág: 351 – 355. Editorial Mediterráneo. Chile 2007.

21. Gonzales J, Técnicas y Métodos de Laboratorio Clínico. 2da Edición. Pág: 491 – 495. Editorial Masson. España 2005.

22. Solórzano J, Santana V. Incidencia de Síndrome Diarreico Agudo por rotavirus en niños menores de 5 años ingresados en el Área de Pediatría del Hospital Verdi Cevallos Balda. Abril – Octubre 2011.

23. Manrique A, Billon D, Tigne S, Bello E, Ospina M. Agentes causantes de Diarrea en Niños Menores de 5 Años atendidos en las consultas externas del Hospital San Rafael y Clínica Saludcoop de Tunja - Colombia. Rev. Salud Pública vol.8 no.1 Bogotá Abril. 2006

24. Gonzáles R, Salas H. Estudio Epidemiológico y Clínico de las diarreas por rotavirus en niños menores de 5 años atendidos en centros asistenciales del Estado Miranda – Venezuela. Invest. Clin. 49 (4): 449-510, 2008.

IX. ANEXOS

Anexo 1

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA

ÁREA DE LA SALUD HUMANA

CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO

Loja 03 de Octubre del 2012

Sr. Nayo Balcázar

La Universidad Nacional de Loja, siendo un ente público que tiene como objetivo general realizar la vinculación con la colectividad, apoyo a los sectores vulnerables de la sociedad y centrado en los problemas existentes en la Salud Humana, se ha planteado realizar un estudio investigativo, basado en análisis clínicos completos, para la determinación de posibles patologías relevantes, entre las de mayor incidencia están: anemia, parasitosis, infecciones de vías urinarias, gastritis, obesidad y diabetes.

Para ello un grupo de estudiantes del último módulo de la Carrera de Laboratorio Clínico adecuadamente capacitados, nos hemos propuesto realizar los Análisis Clínicos en la población más vulnerable de la Parroquia Buenavista**,** a la que usted dirige muy dignamente, con en el fin de aportar con los resultados de análisis para la identificación, prevención y tratamiento de posibles patologías que afecten a dicha población.

Como seres humanos conscientes de la ardua labor que se realiza en esta Parroquia, hemos creído conveniente aportar con nuestros conocimientos éticos y capacidad científico−técnica, cumpliendo de esta manera con la visión propuesta de nuestra carrera.

Para la realización de este trabajo social nos hemos planteado los siguientes objetivos:

- ✓ Brindar charlas educativas en la institución o población con la que trabajemos, como información previa a los análisis a realizarse.
- ✓ Realizar la toma de muestra para su posterior análisis clínico.
- ✓ Entregar resultados confiables oportunamente de los análisis realizados.

Para lo cual le solicitamos muy respetuosamente su colaboración, en el aspecto logístico y para gestionar los permisos necesarios en la institución que centremos nuestro estudio.

Seguros de contar con su apoyo para la realización de este proyecto de trascendental importancia social, de ante mano le agradecemos la atención brindada.

Lcda. Juliana Iñiguez	**Máryury León y Jairon Carrera**
DOCENTECOORDINADORA	REPRESENTANTES DEL MACROPROYECT

Anexo 2

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA
ÁREA DE LA SALUD HUMANA
LABORATORIO CLÍNICO

Sr(a) Padres de familia le pido de la manera más respetuosa se digne a contestar las siguientes preguntas con toda sinceridad ya que estas nos servirán de apoyo para la realización del presente trabajo investigativo.

DETERMINACIÓN DE ROTAVIRUS EN NIÑOS MENORES DE 5 AÑOS EN LA PARROQUIA BUENAVISTA DEL CANTÓN CHAGUARPAMBA Y SU RELACIÓN CON LOS PRINCIPALES FACTORES PREDISPONENTES.

DATOS DE SU HIJO O REPRESENTADO:

Edad en meses: ☐ **Edad en años:** ☐

Género: HombreMuje☐ ☐

1. **El agua que Ud y su familia consumen es:**

Potable ☐ Entubada ☐

Cisterna ☐ Quebrada ☐

2. **Ud hierve el agua antes de consumirla:**

Si ☐ No ☐

3. **Utiliza cloro para desinfectar el agua:**

Si ☐ No ☐

¿Qué cantidad por litro?

……

4. Qué utiliza para la eliminación de excretas:

Alcantarillado Sanitario ☐ Letrina ☐ Entierra ☐

Pozo Séptico ☐ Aire Libre ☐

5. Se lava las manos antes de comer y después de salir del baño:

Si ☐ No ☐

6. Lava sus alimentos antes de consumirlos:

Si ☐ No ☐

7. De qué manera realiza la eliminación de la basura:

Carro recolector ☐ Entierra ☐

Quema ☐ Aire libre ☐

8. En los últimos días sus niños han tenido problemas de diarrea:

Si ☐ No ☐

9. Los lleva al puesto de Salud cuando tienen alguna afección Médica:

Si ☐ No ☐

10. Comparte los utensilios su niño:

Si ☐ No ☐

11. Quién cuida a su niño en el día:

Usted ☐ Guarderías ☐ Abuelos ☐

GRACIAS POR SU COLABORACIÓN

Anexo 3

SUNCENTRO DE SALUD N°4

PARROQUIA BUENAVISTA LOJA – ECUADOR

Buenavista 24 de Octubre del 2012.

Yo **Lcdo. Ricardo Tandazo,** Enfermero del puesto de Salud de la Parroquia Buenavista del cantón Chaguarpamba, perteneciente al Área de Salud Nº 4 de Camayo, certifico haber brindado datos estadísticos de la población, los mismo que reposan en el archivo y base de datos de la institución; al grupo de jóvenes integrantes del Macroproyecto de Análisis Clínicos de la Universidad Nacional de Loja.

Es todo cuanto puedo certificar en honor a la verdad.

……

Lcdo. Ricardo Tandazo

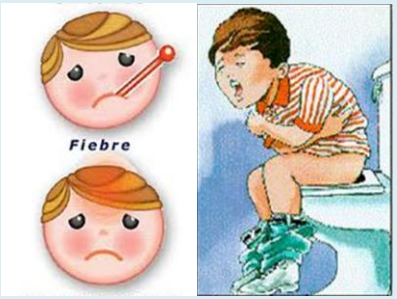
ENFERMERO DEL SUBCENTRO DE SALUD BUENAVISTA

Anexo 4

¿CUÁLES SON LOS SÍNTOMAS?

- Diarrea acuosa
- Vómito
- Deshidratación
- Fiebre
- Dolor abdominal

El período de incubación es de 1 a 3 días.



FACTORES PREDISPONENTES

- Contaminación fecal del suelo y agua.
- Deficiencia de higiene y educación.
- Contaminación ambiental.
- Migración.
- Compartir utensilios.
- Guarderías.

Rotavirus

Es un virus que tiene forma de rueda y afecta a niños menores de 5 años.

¿CÓMO SE TRANSMITE?

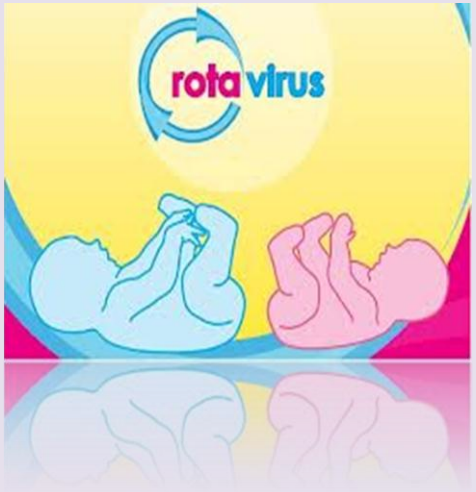
- La forma principal de transmisión es por vía oral – fecal.
- Al ingerir alimentos o agua contaminada.
- Al tener contacto con superficies de objetos, utensilios o juguetes contaminados.

1859

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA

ÁREA DE LA SALUD HUMANA

LABORATORIO CLÍNICO



TRATAMIENTO

- Tomar abundante agua para evitar la deshidratación.
- Llevar a su hijo lo más pronto posible al médico.

LO QUE NECESITO SABER DEL ROTAVIRUS

- La infección por rotavirus causa una enfermedad grave que puede provocar la muerte de niños menores de 5 años.
- La primera infección después de los 3 meses de edad es la más severa.
- El virus está presente en todos los climas.

¿CÓMO PUEDO PREVENIR LA INFECCIÓN POR ROTAVIRUS?

- Lavar los alimentos antes de consumirlos.
- Hervir el agua antes de ingerirla.
- Darle de lactar a sus hijos por lo menos hasta el primer año de edad.
- Educar a sus hijos en el lavado de manos antes de comer y después de salir del baño.
- Llevar a sus hijos constantemente al médico.

¿CÓMO DEBO LLEVAR LA MUESTRA AL LABORATORIO?

- Recolectar la muestra de heces fecales en una caja de plástico limpia.
- Colocar una cantidad moderada de muestra.
- Llevar la muestra lo más pronto posible.

NOTA: La caja para la recolección de las muestras será entregada por la persona encargada del análisis de las mismas.

Anexo 5

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA
ÁREA DE LA SALUD HUMANA
CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO.

CONSENTIMIENTO INFORMADO DIRIGIDO A LAS PERSONAS DE LA PARROQUIA BUENAVISTA

Buenavista, ____ de 2012

En forma libre y voluntaria yo _____ identificado(a) con la cédula de ciudadanía Nº _____ manifiesto que:

1. Al someterme a este estudio no entraña riesgo alguno para mi salud ni la de mis familiares.
2. Mi participación puede resultar beneficiosa para mi persona o mis familiares, así como aportar nuevos conocimientos útiles a otros individuos.
3. He recibido información y explicación sobre las condiciones en las que me debo encontrar, para la recolección del espécimen.
4. Me han preparado con relación a mis conocimientos, sobre la importancia del respectivo análisis.
5. Me garantizaron el derecho a la privacidad del examen, la información y datos, así como los resultados del análisis, los cuales estarán sometidos a confidencialidad.

Declaro que he leído y conozco el contenido del presente documento, comprendo los compromisos que asumo y los acepto expresamente. Y, por ello, firmo este consentimiento de forma voluntaria para participar en la realización de los respectivos análisis clínicos.

FIRMA……

C.C……..

Anexo 6

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA
ÁREA DE LA SALUD HUMANA
LABORATORIO CLÍNICO

PROTOCOLO PARA REALIZAR EL ANÁLISIS DE ROTAVIRUS

PRINCIPIO DEL MÉTODO:

Durante la prueba, la muestra reacciona con los conjugados coloreados (anticuerpos monoclonales de ratón anti-rotavirus-microesferas rojas) previamente secados en test. Este complejo avanza por capilaridad a través de la membrana del test. Para dar el resultado como positivo, una linea de color ROJO aparecerá en la zona de resultados de la membrana. La ausencia de esta sugiere un resultado negativo. Independientemente de que haya presencia o no de rotavirus, la mezcla de conjugado va avanzando por la membrana hasta la región de control donde se han inmovilizado anticuerpos y siempre aparecerá una linea de color AZUL (linea de control). La aparición de esta linea se utiliza: 1) para verificar que se ha añadido el volumen de muestra suficiente. 2) que el flujo ha sido el apropiado; y 3) como control interno de los reactivos.

MATERIAL PROPORCIONADO:

- 20 placas en un sobre sellado incluyendo desecante
- 20 tubos para la toma de muestra, cada tubo contiene el tampón de extracción.

MATERIAL NECESARIO NO SUMINISTRADO:

- Contenedores para la toma de muestra
- Guantes
- Cronómetro

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD:

El kit es estable hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta, a temperatura ambiente controlada de 2 – 30 °C, sellado y con desecante dentro del sobre. No congelar ni exponer a temperaturas superiores a 30 °C.

TOMA DE MUESTRA Y CONSERVACIÓN:

Tomar (1 – 2 g o ml de muestras líquidas. Las muestras deben ser almacenadas en un recipiente limpio y seco (sin conservantes o medios de transporte). Se pueden conservar 1 ó 2 días de 2 – 4 °C. En un tiempo prolongado deben ser congeladas a – 20 °C.

Preparación de la Muestra:

- Con el palito se toma una cantidad de heces.
- Se introduce el palito en el tampón de extracción para la dilución de la muestra, agitar para facilitar la dispersión de la muestra.
- Para muestras líquidas, utilizar una pipeta y añadir 100 ul en vial para muestras con diluyente.

Precauciones:

- Seguir las instrucciones del kit para obtener resultados confiables.
- Considerar a las muestras como potencialmente infeccioso.
- Para cada muestra utilizar una pipeta desechable y una placa, no reutilizar.
- Desechar en los residuos contaminantes.

PROCEDIMIENTO:

1. Atemperar las muestras y el Kit antes de realizar el ensayo.
2. Rotular el tubo de dilución de muestras y el dispositivo, identificar cada uno con los datos de la muestra.
3. Agitar el tubo de dilución para lograr una buena dispersión, romper el extremo superior del tubo.

4. Extraer el dispositivo y utilizarlo inmediatamente. Depositar 5 gotas o 150 ul de líquido de extracción en la zona de descarga del dispositivo, evitando añadir partículas sólidas. Si fuera el caso retirarlas y añadir una gota de tampón hasta que el líquido migre hacia las zonas de reacción y control.
5. Leer el resultado del Test a los 10 minutos tras la adición de la muestra.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS:

NEGATIVO: Una sola línea de color AZUL apareceen la zona marcada con la letra C (línea de control).
POSITIVO: Además de la línea de control AZUL, también aparece una línea ROJA en la zona marcada con la letra T (línea de Test o resultado).
INVÁLIDO: Cuando la línea de color AZUL no aparece independientemente de que aparezca o no la línea ROJA. Esto se puede dar por cantidad insuficiente muestra, procesamiento incorrecto o deterioro de los reactivos. Si ocurre esto se debe repetir el procedimiento con un nuevo dispositivo.

CONTROL DE CALIDAD:

- **Control de Calidad Interno:** La presencia de la línea AZUL en la zona de control indica que se ha usado un volumen correcto de muestra y el procedimiento ha sido adecuado. La claridad del fondo de la ventana, indica que el test funciona correctamente
- **Control de Calidad Externo:** Se recomiendan controles positivos y negativos para, para controlar el desarrollo del ensayo.

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO:

5. Una vez abierto el dispositivo no debe usarse después de 2 horas.
6. Un exceso de muestra puede dar resultados negativos, dando líneas no muy definidas. Diluir la muestra en más tampón y repetir el ensayo.

7. Se debe tomar la muestra dentro de la primera semana de aparición de los síntomas, ya que luego de esto la presencia del virus disminuye considerablemente.
8. Esta prueba diagnóstica una posible infección por rotavirus, esto debe confirmarse con un médico especialista.

CARÁCTERÍSTTICAS DEL MÉTODO:

SENSIBILIDAD:

La detección por Rotavirus presenta una sensibilidad de un 99,9%

ESPECIFICIDAD:

La detección de Rotavirus presenta una especificidad de un 96,6%

Anexo 7

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA
ÁREA DE LA SALUD HUMANA
LABORATORIO CLÍNICO

REGISTRO DE RESULTADOS

N°	Nombres y Apellidos	Edad en meses/años	Género	Resultados		Observaciones
				POSITIVO	**NEGATIVO**	

Anexo 8

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA
ÁREA DE LA SALUD HUMANA
LABORATORIO CLÍNICO

FORMATO DE ENTREGA DE RESULTADOS

Nombres y Apellidos:……

Edad en Meses/Años:……

Género:…….

Fecha:…….

MÉTODO INMUNOCROMATOGRÁFICO

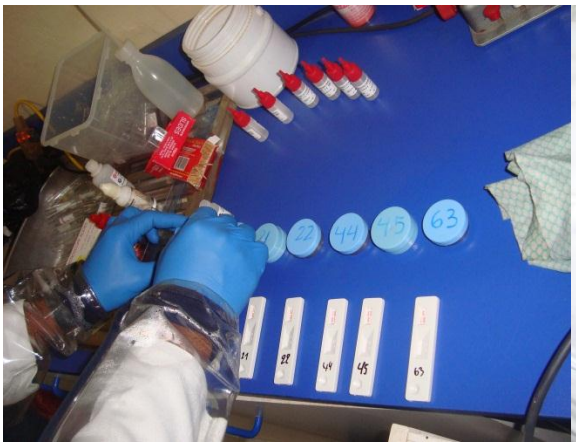
RESULTADO

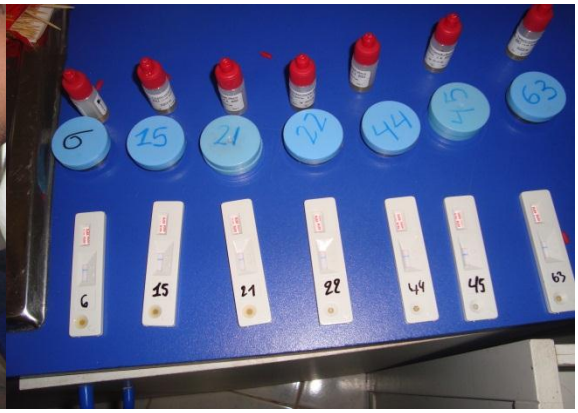
POSITIVO	NEGATIVO
☐	☐

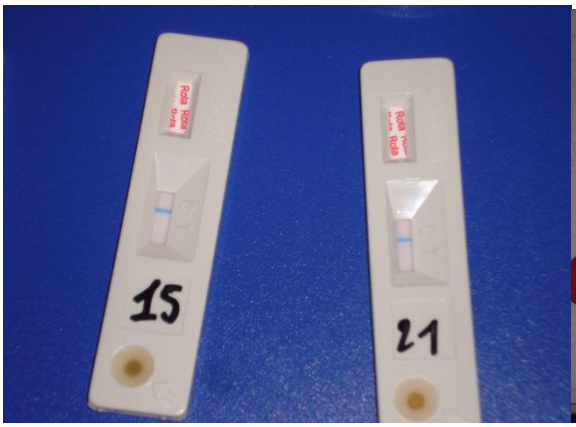
OBSERVACIONES:……
……

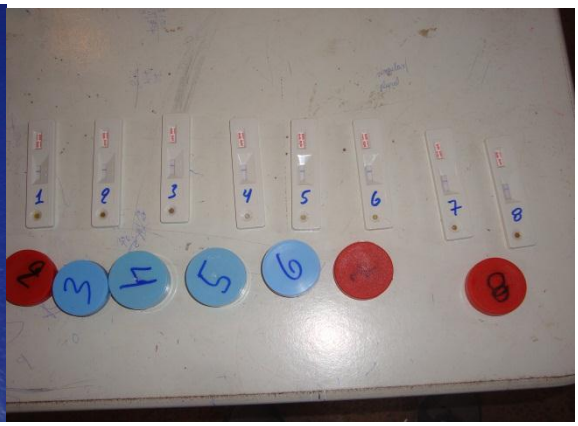
……

FIRMA


22
44
15
63
21
22
44
45
63


6
15
21
22
44
45
63
6
15
21
22
44
45
63


15
21


1
2
3
4
5
6
7
8

Buenavista, 06 de Marzo del 2013

Yo, Nayo Balcázar, presidente de la junta parroquial de Buenavista, certifico que todos los integrantes del Macro proyecto, realizaron una charla preventiva e informativa a todos los habitantes de la parroquia Buenavista, acerca de los diversos análisis clínicos a realizarse en dicha población, para lo cual hicieron uso de las instalaciones de la Junta Parroquial.

Es todo cuanto puedo certificar en honor a la verdad.

Atentamente,

Sr. Nayo Balcázar

PRESIDENTE DE LA JUNTA PARROQUIAL DE BUENAVISTA

Buenavista, 06 de Marzo del 2013

Yo Glenda Ponce, directora del puesto de salud de Buenavista, certifico que la **Sr. JORGE DANIEL OREJUELA ORTIZ** con numero de cedula **0803256965**, integrante del Macro proyecto, con tema de tesis " **DETERMINACIÓN DE ROTAVIRUS MEDIANTE EL MÉTODO INMUNOCROMATOGRÁFICO Y SU RELACIÓN CON LOS FACTORES DESENCADENANTES EN NIÑOS MENORES DE 5 AÑOS DE LA PARROQUIA BUENAVISTA DEL CANTÓN CHAGUARPAMBA** " realizo la toma de muestras y posterior entrega de resultados en este puesto a todos los pacientes que asistieron a realizarse la toma de muestra durante el mes de Febrero.

Es todo cuanto puedo certificar en honor a la verdad.

Atentamente,

Md. Glenda Ponce C.
MEDICA GENERAL

Dr. Glenda Ponce
DIRECTORA DEL PUESTO DE SALUD

Chaguarpamba, 2 de Mayo del 2013

Dra. Bioq. Gladys Monge Salvador

PROPIETARIA DEL LABORATORIO CLÍNICO BIOGEMS - CHAGUARPAMBA

C E R T I F I C A:

Que el señor: JORGE DANIEL OREJUELA ORTIZ con CI. No. 0803256965, ha realizado su trabajo de campo dentro del laboratorio que tengo a mi disposición, con su tema de Tesis **"DETERMINACIÓN DE ROTAVIRUS MEDIANTE EL MÉTODO INMUNOCROMATOGRÁFICO Y SU RELACIÓN CON LOS PRINCIPALES FACTORES PREDISPONENTES EN NIÑOS MENORES DE 5 AÑOS DE LA PARROQUIA BUENAVISTA DEL CANTÓN CHAGUARPAMBA"** en las fechas correspondientes al 1ro hasta el 15 de febrero del 2013, bajo mi estricta y plena dirección, cumpliendo de esta manera con las normas de Bioseguridad establecidas dentro del laboratorio y trabajando con ética y responsabilidad cada una de las muestras.

Esto es todo en cuanto puedo certificar en honor a la verdad y autorizo a la persona antes señalada para que haga uso de este documento para fines legales.

Atentamente

.....

Dra. Bioq. Gladys Monge Salvador

Dra. Gladys Monge Salvador
Nº Reg. HCHMT
07-07-0398-11

PROPIETARIA DEL LABORATORIO CLÍNICO BIOGEMS – CHAGUARPAMBA