UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA

ÁREA DE LA SALUD HUMANA

CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO

TÍTULO

ESTUDIO COMPARATIVO ENTRE EL TEST INMUNOCROMATOGRÁFICO SIMPLE Y COMBINADO PARA LA DETECCIÓN DE ROTAVIRUS Y ADENOVIRUS EN INFANTES QUE ACUDEN AL HOSPITAL REGIONAL ISIDRO AYORA DE LA CIUDAD DE LOJA

TESIS PREVIA A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE LICENCIADA EN LABORATORIO CLÍNICO

AUTORA

María Gabriela Ordóñez Jiménez

DIRECTORA

Dra. Alba Pesantez González

LOJA – ECUADOR

2013

CERTIFICACIÓN

Dra. Alba Pesantez

DOCENTE DEL ÁREA DE LA SALUD HUMANA DE LA U.N.L

C E R T I F I C A:

Que la presente tesis titulada: *ESTUDIO COMPARATIVO ENTRE EL TEST INMUNOCROMATOGRÁFICO SIMPLE Y COMBINADO PARA LA DETECCIÓN DE ROTAVIRUS Y ADENOVIRUS EN INFANTES QUE ACUDEN AL HOSPITAL REGIONAL ISIDRO AYORA DE LA CIUDAD DE LOJA*; de autoría de la estudiante egresada María Gabriela Ordoñez Jiménez, ha sido dirigida y revisada detenidamente y autorizo su publicación.

Atentamente:

Dra. Alba Pesantez

DIRECTORA DE TESIS

AUTORÍA

Yo, MARIA GABRIELA ORDOÑEZ JIMENEZ, declaro ser autor(a) del presente trabajo de tesis y eximo expresamente 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: María Gabriela Ordóñez Jiménez

Firma: _____

Cédula: 1105049827

Fecha: 27/11/2013

CARTA DE AUTORIZACIÓN DE TESIS POR PARTE DEL AUTOR, PARA LA CONSULTA, REPRODUCCIÓN PARCIAL O TOTAL, Y PUBLICACIÓN ELECTRÓNICA DEL TEXTO COMPLETO.

Yo, **MARIA GABRIELA ORDOÑEZ JIMENEZ** declaro ser autora de la tesis titulada "**ESTUDIO COMPARATIVO ENTRE EL TEST INMUNOCROMATOGRÁFICO SIMPLE Y COMBINADO PARA LA DETECCIÓN DE ROTAVIRUS Y ADENOVIRUS EN INFANTES QUE ACUDEN AL HOSPITAL REGIONAL ISIDRO AYORA DE LA CIUDAD DE LOJA**", como requisito para optar al grado de Licenciada en Laboratorio Clínico; autorizo al Sistema Bibliotecario de la Universidad Nacional de Loja para que con fines académicos, muestre al mundo la producción intelectual de la Universidad 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 veintiséis días del mes de Noviembre del dos mil trece, firma la autora.

Firma: _____

Autora: María Gabriela Ordóñez Jiménez

Cédula: 1105049827

Dirección: Yahuarcuna **Correo Electrónico:** gaby_oj@ymail.com

Teléfono: 2103398 **Celular:** 0988014170 / 0994449028

DATOS COMPLEMENTARIOS

Director de tesis: Dra. Alba Pesantez González.

Tribunal de grado:

Presidente: Dr. Richard Jiménez.

Vocal: Dra. Patricia Guerrero.

Vocal: Dr. Héctor Velepucha.

DEDICATORIA

A DIOS…

Por su infinito amor y por tantas bendiciones otorgadas.

A MIS PADRES…

Porque con tanto amor, esmero y confianza en mí, supieron sacarme adelante y brindarme su apoyo incondicional en todo momento, por ser ejemplo digno de superación haciendo de mí una buena persona y por estar siempre conmigo en los momentos más difíciles de mi carrera, gracias a ellos puedo ver esta meta alcanzada.

A MI FAMILIA…

Especialmente a mis hermanas que siempre están presentes en cada paso que doy, predispuestas en todo en cuanto las necesito, por sembrar en mí un espíritu de superación mediante sus consejos y ejemplo de vida. A toda mi familia en general por ser mi impulso a seguir adelante y cumplir mis metas.

La Autora.

AGRADECIMIENTO

A Dios, por ser mi guía y luz en mi camino, por darme el amor, las fuerzas y valor que necesito para cumplir mis metas.

A mis Padres, Hermanas y demás familiares, por ser mi pilar, sustento y mi inspiración.

A la Universidad Nacional de Loja, a todos mis profesores y doctores que supieron brindarme sus conocimientos y contribuyeron a mi formación académica durante el transcurso de mi carrera.

Al Hospital Provincial Isidro Ayora, a los médicos tratantes del Área de Pediatría, al personal del Laboratorio Clínico y al personal del Departamento de Estadística del hospital, quienes me abrieron las puertas para llevar a cabo la presente investigación.

Al personal del Centro de Diagnóstico Médico del Área de la Salud Humana – UNL, en el cual recibí apertura para el procesamiento de muestras y apoyo incondicional del personal que ahí labora.

A la Dra. Alba Pesantez, directora de tesis, por su valiosa asesoría, paciencia, y conocimientos impartidos, para el desarrollo eficaz de la presente investigación.

A todas las personas que me incentivaron, me apoyaron y colaboraron de una u otra forma a la realización de la presente investigación.

La Autora.

1. TÍTULO

ESTUDIO COMPARATIVO ENTRE EL TEST INMUNOCROMATOGRÁFICO SIMPLE Y COMBINADO PARA LA DETECCIÓN DE ROTAVIRUS Y ADENOVIRUS EN INFANTES QUE ACUDEN AL HOSPITAL REGIONAL ISIDRO AYORA DE LA CIUDAD DE LOJA

2. RESUMEN

Los principales agentes virales causantes de enfermedades diarreicas agudas en niños(as) menores de 5 años son el rotavirus y adenovirus entérico, los cuales son detectados por métodos diagnósticos rápidos y confiables, por lo tanto, tomando en consideración que actualmente existen test rápidos de diferentes presentaciones que permiten la detección de ambos virus en un solo test y que la mayoría de laboratorios clínicos utilizan solamente el test simple para la detección de Rotavirus, se realizó la presente investigación, cuyo objetivo principal fue efectuar un estudio comparativo entre el Test Inmunocromatográfico Simple y Combinado para la detección de Rotavirus y Adenovirus, estudio de tipo descriptivo y de corte transversal que fue aplicado a 100 niños(as) menores de 5 años, el cual permitió verificar la fiabilidad de dichos test para la práctica laboratorial en el diagnóstico de esta infección.

Al finalizar el presente estudio se obtuvo como resultado que los dos tipos de test puestos a prueba son confiables ya que el Test Combinado Rota-Adeno detectó 21 casos positivos, de los cuales 16 fueron de rotavirus y 5 de adenovirus; igualmente ocurrió con el Test Simple para Rotavirus con 16 casos positivos y con el Test Simple para Adenovirus con 5 casos positivos, lo cual demostró que el Test Combinado alcanza igual relevancia que el Test Simple, destacándose el Test Combinado por su ventaja de detectar los dos virus en un solo test.

PALABRAS CLAVES: Gastroenteritis Aguda, Rotavirus, Adenovirus Entérico, Test Inmunocromatográfico.

2. 1 SUMMARY

The main viral agents causing acute diarrhea in children under 5 years are the rotavirus and enteric adenovirus, which are detected by fast and reliable diagnostic methods, therefore, taking into consideration that there are currently rapid tests with different presentations that allow the detection of both viruses in a single test and that most clinical laboratories use only the simple test for the detection of Rotavirus, was conducted this research, whose main objective was to make a comparative study between Simple and Combined Immunochromatographic Test for detection of rotavirus and adenovirus, descriptive and cross-sectional study that was applied to 100 children under 5 years, which allowed to verify the reliability of such test for laboratory practice in diagnosing infection.

At the end of the present study was obtained as a result that the two types of rapid tests are reliable since the Rota-Adeno Combined Test detected 21 positive cases, of which 16 were of rotavirus and 5 were of enteric adenovirus; exactly the same happened with the Simple Test for Rotavirus with 16 positive cases and the Simple Test for Adenovirus with 5 positive cases, which showed that the Combined Test has equal relevance that Simple Test, highlighting the Combined Test by their advantage to detect the two viruses in a single test.

KEYWORDS: Acute gastroenteritis, Rotavirus, Enteric Adenovirus, Immunochromatographic Test.

3. INTRODUCCIÓN

La diarrea aguda constituye una de las principales causas de morbilidad y mortalidad en los niños menores de 5 años de edad, según la OMS. [1]

A nivel mundial, el rotavirus es el principal agente responsable de diarrea aguda en los niños, convirtiéndose en uno de los frecuentes problemas con el cual deben enfrentarse los pediatras; pues hasta hace unos años se producían epidemias de niños con cuadros de diarrea y deshidratación severa, siendo numerosos los ingresos hospitalarios por este motivo. [2,3] Hoy en día la cifra de casos ha disminuido considerablemente debido a la aparición de la vacuna, a las mejoras en los sistemas de abastecimiento y saneamiento de agua y al desarrollo de campañas a nivel mundial acerca de la terapia de rehidratación oral y lactancia materna; sin embargo, a pesar de éstos logros su prevalencia y morbilidad se ha mantenido, debido básicamente a la falta de apertura o cobertura de alguno de estos programas en algunos países. [3-5]

Por otro lado, el adenovirus entérico se ha manifestado en 2% al 22% de los casos de diarrea aguda infantil en el mundo; siendo éste por tanto, después del rotavirus la segunda causa más frecuente para esta afección. Hasta el momento no existe una vacuna eficáz contra este virus como en el caso del rotavirus.[6, 7] Otros virus entéricos como los astrovirus y los calicivirus se detectan con menos frecuencia en los cuadros severos de infecciones entéricas a nivel mundial. [6, 8]

El diagnóstico rápido de este tipo de infecciones permite instaurar el tratamiento adecuado e implantar medidas preventivas para evitar la transmisión comunitaria y/o nosocomial. La incorporación progresiva de técnicas más sensibles para la detección de antígenos virales en heces, basadas en técnicas de inmunodiagnóstico y biología molecular mejoraron el diagnóstico; sin embargo, muchas de ellas no son fácilmente aplicadas debido a que toman tiempo, requieren reactivos especiales y equipamiento sofisticado, lo cual resulta complicado sobre todo en tiempo de epidemias. La

necesidad de realizar un diagnóstico rápido de gastroenteritis aguda por virus y de instaurar un tratamiento eficaz de la diarrea ha impulsado el desarrollo de técnicas que acorten el tiempo de obtención de los resultados y que tengan altos niveles de fiabilidad, siendo la inmunocromatográfica la técnica que más se acerca a estos requerimientos. [10]

En la actualidad la inmunocromatografía es una de las técnicas más modernas y más aplicadas en los establecimientos de salud, debido a que es una prueba rápida de baja complejidad que no requiere instrumental especial para su realización y presenta valores de sensibilidad y especificidad muy similares a los mostrados por el enzimoinmunoensayo; [11-13] aunque estas pruebas rápidas no pueden competir con los grandes equipos sofisticados, pero en determinadas situaciones que requieren la toma de decisiones médicas inmediatas a modo de urgencia, es inevitable recurrir a este tipo de pruebas.

Debido a la gran demanda de las pruebas rápidas cada vez son más los avances de la técnica inmunocromatografía, tanto en el campo clínico, pues se puede detectar cada día más variedad de virus además de rotavirus como: adenovirus, astrovirus, calicivirus, etc.; como en el ámbito de los test, así por ejemplo surgió el test combinado en el que se puede detectar un virus junto a otros virus (dos o tres) en un solo test, este es por tanto un avance crucial en la detección de virus por inmunocromatografía.

Por otra parte, es oportuno mencionar que a pesar de que el test inmunocromatográfico combinado o también llamado “test dos en uno” o “test combo” para la detección de rotavirus, adenovirus y otros existe desde hace varios años, no consta su disponibilidad en los establecimientos de salud de nuestra ciudad; la mayoría dispone de pruebas rápidas para la detección de rotavirus en heces, pero no cuentan con pruebas rápidas para el detección de otros agentes virales entéricos como: adenovirus, astrovirus, calicivirus, etc., por la falta de pedidos o solicitudes de la prueba por parte de los pediatras quienes han subestimado algunos virus entéricos del cuadro diarreico agudo debido posiblemente a los bajos de índices de prevalencia que dichos virus presentan en otros países, así como también por la falta de investigaciones epidemiológicas de virus entéricos en nuestro país y ciudad. Por lo que

en casos de sospecha de diarrea viral se solicita habitualmente la prueba para detección de rotavirus; cuando esta prueba es negativa, en la mayoría de casos el clínico prescribe antibióticos, asumiendo que la causa es bacteriana, cuando en realidad podría tratarse de otro agente viral entérico para el cual el tratamiento no requiere uso de antibióticos; por lo tanto un diagnóstico acertado de estos virus impide la administración innecesaria de antibióticos en los niños. [10]

Dada la importancia, la presente investigación tuvo como objetivo principal efectuar un estudio comparativo entre el Test Inmunocromatográfico Combinado Rotavirus+Adenovirus, el Test Inmunocromatográfico Simple para Rotavirus y el Test Inmunocromatográfico Simple para Adenovirus con el fin de aprobar o rechazar la fiabilidad de los mismos en la práctica laboratorial en el diagnóstico de esta infección, lo cual servirá para poner a conocimiento del personal de salud y de igual forma dar a conocer la importancia de la solicitud de la prueba de detección no solamente de rotavirus sino también de adenovirus entérico por parte de los pediatras en caso de sospecha de diarrea viral.

Por otro lado, la importancia del rotavirus en la gastroenteritis aguda infantil es muy conocida en todo el mundo, sin embargo, todavía hace falta estudios al respecto de los adenovirus entéricos en nuestro país y ciudad; por lo cual otros de los objetivos de esta investigación fueron: establecer el índice de prevalencia de infección por rotavirus y/o adenovirus, identificar los principales factores desencadenantes de infección diarreica viral que contribuyen a su aparición y efectuar una propuesta educativa que fomente las practicas higiénico–sanitarias, con el fin de disminuir la incidencia de diarreas agudas virales alertando a la población e impulsando medidas preventivas convenientes que beneficien a la comunidad en general.

Al concluir la investigación, el Test Inmunocromatográfico Combinado Rotavirus+Adenovirus alcanzó igual relevancia que el Test Inmunocromatográfico Simple, mostrando una concordancia del 100% entre ambos, destacándose el combinado por su ventaja de detectar los dos virus en un solo test. Además se detectó una prevalencia del 0.16 (16%) en Rotavirus y 0.05 (5%) en Adenovirus en niños(as) menores de 5 años con cuadro diarreico que acudieron al Hospital Regional Isidro

Ayora. Así mismo se identificó que los principales factores de riesgo asociados a gastroenteritis aguda causada por dichos virus fueron: la edad, siendo los niños(as) de 12 a 24 meses los más afectados, cuidados del niño(a) en guarderías, abastecimiento de agua entubada no tratada en la vivienda del niño(a), prácticas inapropiadas de lactancia materna, pues predominó la lactancia a base de fórmula infantil y la eliminación de heces de los niños(as) en letrinas por falta de alcantarillado público en áreas suburbanas y rurales de nuestra ciudad.

Finalmente se llevó a cabo una propuesta educativa de prevención con el fin de impulsar medidas higiénico-sanitarias, aportando a la disminución de la frecuencia de gastroenteritis aguda causada por dichos virus.

4. REVISIÓN DE LITERATURA

GASTROENTERITIS AGUDA VIRAL

1. ANTECEDENTES HISTÓRICOS

En el año 1929, el pediatra John Zahorsky describió la -enfermedad emética del invierno- que se acompañaba de diarrea en la mayoría de los pacientes. Tal denominación no era informativa en cuanto a su etiología, pero daban fe de su contagiosidad los experimentos con voluntarios así como los brotes que se producían.

En 1963, uno de esos brotes surgió en una escuela de Gran Bretaña en donde enfermaron 142 de 830 escolares. Los intentos por desvelar la causa infecciosa fueron infructuosos, pero, por si acaso, muestras fecales de un joven de 18 años (W) fueron congeladas a -70º C. Casi 8 años después, esas muestras se descongelaron para llevar a cabo un nuevo intento de identificar al supuesto virus en un experimento en el laboratorio de salud pública de Bristol con voluntarios, a los cuales se les administró un vaso de bicarbonato sódico diluido en agua y enseguida otro vaso con zumo de naranja al que se le había añadido la emulsión fecal abacteriana. Con ello se verificó algo que ya era conocido, la transmisibilidad de la enfermedad; sin embargo, respecto a la etiología sólo se pudo afirmar que el “agente W” era una partícula estable al calor, menor de 50 nm.

En 1968 surgió un nuevo brote epidémico de gastroenteritis en una escuela de una localidad llamada Norwalk, en Ohio (EEUU), donde enfermaron 116 de 232 personas. El episodio fue diagnosticado como brote de la enfermedad emética del invierno, el agente causal, “agente Norwalk” quedó sin identificar entonces, a pesar de los esfuerzos de los investigadores. Las muestras fecales abacterianas fueron guardadas y entregadas pocos años después a otro grupo de investigadores dirigidos por Albert Kapikian. En esta ocasión la muestra fue sometida a procedimientos de investigación nuevos en este campo, mediante inmuno-microscopía electrónica (IME) se

identificaron en las heces unos conglomerados de partículas redondas estructuradas de pequeño tamaño (27 nm) que resultaron ser el agente causal de aquel brote.

Este original y meticuloso estudio fue publicado en 1972 en el Journal of Virology, y aunque con anterioridad se habían identificado virus en heces, ha pasado a la historia como el primero en que se logró demostrar el papel causal de un virus en cuadros de gastroenteritis humana. El propio Kapikian relató en un artículo del año 2000 los puntos clave de aquel descubrimiento, el problema radicaba en que estos virus no se dejaban cultivar, y no había forma de identificarlos in vitro. De ahí que tuviera que emprender un camino distinto, mediante la utilización del microscopio electrónico combinado con técnicas inmunológicas.

En 1973, en Australia, Ruth Bishop encontró viriones en biopsias de mucosa duodenal extraídas de niños hospitalizados por gastroenteritis aguda. En esta ocasión fueron técnicas de patofisiología las aplicadas; en la identificación de aquel reovirus.

Hoy las cosas han cambiado mucho. Tanto las técnicas de investigación como la taxonomía de los virus, sobre la cual se sigue debatiendo. El "agente Norwalk" es desde 2002 denominado norovirus (nor, de Norwalk) y aquel reovirus primitivo consolidó su nombre como rotavirus (por su aspecto de rueda).

Desde entonces aumentó de manera constante la cantidad de virus asociados a GEA, en la actualidad se conocen: calicivirus, adenovirus entéricos, astrovirus, coronavirus y otros. [19]

2. EPIDEMIOLOGÍA

Las enfermedades diarreicas son la segunda mayor causa de muerte de niños menores de 5 años en el mundo y ocasionan la muerte de 760 000 millones de niños cada año. [1] El origen de las diarreas es básicamente por agentes infecciosos como virus, bacterias y parásitos de hábitat intestinal; siendo las más comunes la gastroenteritis aguda de etiología viral junto con gastroenteritis aguda producida por Salmonella o Campylobacter según el país. [20]

Los principales agentes etiológicos virales asociados a la gastroenteritis aguda son rotavirus, adenovirus, astrovirus, y calicivirus, a los que en los últimos años se han sumado otros, como coronavirus, pestivirus, torovirus, etc. [19, 21, 22]

Los rotavirus son la principal causa de diarrea grave en los niños produciendo más alrededor de 527,000 muertes anuales y aproximadamente 36% de las hospitalizaciones por diarrea en menores de 5 años de edad en el mundo. [2] En cuanto a adenovirus existen 47 serotipos asociados a enfermedad en humanos; el 40 y 41 del subgénero F son causa importante de gastroenteritis; hasta el momento no existe una vacuna eficaz contra este virus. Estudios epidemiológicos detectaron adenovirus en 2% a 22% de los casos de diarrea aguda infantil en hospitales y dispensarios clínicos; por lo tanto, después de los rotavirus son la segunda causa más frecuente para esta afección en los niños. [6-8]

En Ecuador, de acuerdo al MSP el 6% de las muertes de los niños menores de 5 años, es por causa de diarrea aguda; y el 40,8 % de estos casos que ascienden a más de 500.000 es causado por el rotavirus. [9] Hoy en día la cifra de casos de rotavirus ha disminuido considerablemente básicamente gracias a la aparición de la vacuna. [4] Respecto al adenovirus entérico hacen falta el desarrollo de más estudios en nuestro país.

3. CONCEPTO

La gastroenteritis aguda, como su nombre lo indica, es la inflamación de la mucosa gástrica e intestinal, producida por un agente infeccioso (virus, bacterias o parásitos entéricos) o sus toxinas.

4. SÍNTOMAS

La gastroenteritis aguda, se caracteriza por la aparición de un síndrome diarreico agudo con frecuencia acompañado de otras manifestaciones clínicas, como náuseas, vómitos, fiebre y dolor abdominal. [14]

La diarrea aguda consiste en la disminución de la consistencia de las heces (blandas o líquidas) y/o un incremento en la frecuencia de evacuación (más de 3 en 24 horas). El

término agudo viene dado de ser habitualmente un proceso de carácter autolimitado, con una duración habitualmente menor de 7 días y nunca superior a 14 días. [15]

5. COMPLICACIONES

En los países de recursos limitados, entre otras consecuencias de la diarrea infantil viral se incluyen: deshidratación, desnutrición, disminución del crecimiento, inmunodeficiencia y trastornos del desarrollo cognitivo; que al no ser tratadas oportunamente predisponen a la muerte por otras enfermedades oportunistas. [19]

6. PRINCIPALES AGENTES VIRALES DE GEA

ROTAVIRUS

El rotavirus (del lat. Rota: rueda) tiene una apariencia característica parecido a una rueda, cuando es visualizado mediante microscopio electrónico. Es un virus RNA que pertenece a la familia Reoviridae. Fueron descubiertos observando al microscopio electrónico biopsias de duodeno en niños con diarrea aguda. Subsecuentemente fueron detectados en heces por microscopia electrónica. [23]

Son la causa más importante de diarrea en menores de 5 años, con cuadro clínico que varía desde la forma asintomática hasta la deshidratación en diferentes grados, choque hipovolémico, secuelas como insuficiencia renal crónica y muerte. [24]

Estructura

- Virión: Simetría Icosaédrica de 60 a 80 nm de diámetro, con una cápside de doble cubierta con proyecciones. García y Picazo
- Composición: RNA (15%), proteína (85%)
- Genoma: RNA bicatenario, lineal con 11 segmentos.
- Envoltura: Ninguna
- Replicación: Citoplasma.
- Proteínas: El genoma viral codifica 6 proteínas estructurales (VP, del inglés "*viral protein*") y 6 no estructurales (NSP, del inglés "*non structural protein*"):

- VP1: Situada en el núcleo del virus, es una enzima necesaria para la transcripción endógena (RNA polimerasa).
- VP2: Se encuentra en la capa interna del Virión unida al genoma de ARN.
- VP3: También forma parte de la capa interna del virión, es una enzima necesaria para la encapsidación (glutamil transferasa de ARNm).
- VP4: Se encuentra en la parte externa del virión. Es una hemaglutinina que se inserta en la matriz formando proyecciones en forma de "espigas" lo cual es importante para la penetración del virus a la célula.
- VP6: Forma la capa intermedia del virión. Es una glicoproteína altamente antigénica, contiene tanto el antígeno de grupo como el de subgrupo por lo cual puede usarse para determinar la especie del rotavirus.
- VP7: Forma la capa externa del virión o cápside; junto con la VP4 inducen anticuerpos neutralizantes (respuesta inmunitaria). [23]

Las proteínas no estructurales (NSP1 - NSP6) colaboran en la replicación viral, morfogénesis, restricción del hospedero, secuestro de la maquinaria biosintética celular y en la patogenia. NSP4 es una enterotoxina viral que induce diarrea y fue la primera enterotoxina viral que se descubrió. [23, 25, 26]

Clasificación

Los rotavirus se clasifican en grupos y serotipos según las propiedades antigénicas de las proteínas de la cápside.

- La clasificación en grupos se hace según las propiedades antigénicas de la proteína VP6. Actualmente se reconocen 7 grupos (A-G) siendo el grupo A el que produce principalmente infección en el ser humano.
- La clasificación en serotipos se hace según las proteínas de la cápside externa: VP7, glicoproteína que determina la especificidad de tipo G; y VP4, que por su sensibilidad a la proteasa determina la especificidad de tipo P.

En la actualidad se han descrito 15 serotipos G y al menos 26 serotipos P. Aunque los genes que los codifican se segregan de forma independientemente, las asociaciones

predominantes en rotavirus humanos son los tipos G1, 3 y 4 con el serotipo P[8], el tipo G2 con el serotipo P[4] y más recientemente el G9 con P[8] y P[6]. [19]

Patogenia

Los rotavirus infectan las células de las vellosidades del intestino delgado (respetan la mucosa gástrica y la colónica). Se multiplican en el citoplasma de enterocitos y lesionan sus mecanismos de transporte. Una de las proteínas codificadas por rotavirus, la NSP4, es una enterotoxina viral que activa la secreción al desencadenar una vía de transducción de señal. Las células lesionadas se desprenden hacia la luz del intestino y liberan grandes cantidades de virus, que aparecen en las heces (hasta 1012 partículas por gramo de heces).

En ocasiones la diarrea por rotavirus se debe a alteraciones de la absorción de sodio y glucosa a medida que las células lesionadas en las vellosidades son remplazadas por células inmaduras de las criptas que no absorben. El establecimiento de la función puede tardar tres a ocho semanas. [25]

Cuadro Clínico

El mecanismo de transmisión es el contacto directo de una persona a otra por vía fecal-oral. La diseminación a partir de las heces puede tener lugar mediante diversos vehículos, principalmente las manos, donde se ha documentado la supervivencia del virus durante varias horas. Se han descrito brotes asociados a aguas contaminadas, habiéndose evidenciado la supervivencia del virus durante varios días tanto en aguas residuales como en las utilizadas para el consumo. [26]

Por otro lado, la rápida adquisición de Ac frente al virus en los primeros años de vida en todas las poblaciones estudiadas independientemente de sus condiciones higiénicas, ha sugerido que el rotavirus puede ser transmitido por vía aérea. Sin embargo, los estudios llevados a cabo no han sido concluyentes a la hora de demostrar la presencia de rotavirus en secreciones respiratorias.

Período de incubación: El período de incubación medio es de 3 días, con un rango entre 1 y 4 días. [19]

Período de transmisibilidad: Un gran número de pacientes excreta partículas virales en las heces en los días previos a la aparición del cuadro clínico, con una máxima eliminación viral en los 2-5 días siguientes al inicio de la diarrea. La mayoría dejan de eliminar estas partículas en los 10 días siguientes al comienzo de los síntomas, aunque estudios con técnica de RT – PCR han demostrado excreción viral durante casi dos meses en pacientes con cuadros clínicos graves. [27]

Capacidad infectiva: Este virus presenta una baja dosis infectiva (entre uno y diez virones) así como a una elevada excreción, lo que explicaría la alta frecuencia de infección entre los contactos de un caso.

Respuesta Inmune

Tras una infección por rotavirus la inmunidad local intestinal protege frente a episodios severos sucesivos. Las proteínas VP7 y VP4 dan lugar a una respuesta inmune, independiente para cada una de ellas, mediante la producción de Ac neutralizantes. La primoinfección induce una respuesta homotípica (frente a un serotipo) con posteriores respuestas heterotípicas (reacciones cruzadas con otros serotipos) en infecciones subsiguientes.

Así, en la 1° semana de la enfermedad se detecta IgM específica de rotavirus en el líquido duodenal y en suero. Al 1° y 4° mes después de la infección se detecta en suero y en líquido duodenal IgG e IgA específicas de rotavirus. Un año después se detecta en el suero IgG, pero no IgA, por lo que la IgA es un excelente marcador de infección reciente (tanto primaria como reinfección) debido a su rapidez de desaparición de la superficie de la mucosa intestinal. Si bien está descrita la reinfección sintomática un año después de la infección primaria (aún con el mismo serotipo), no es habitual la reinfección dentro de los 4 meses. El nivel elevado de IgA específica de rotavirus en las heces se correlaciona con la protección contra la enfermedad.

Por otro lado, la respuesta inmune provocada por la proteína VP7 (tipos G) ha sido aprovechada para el desarrollo de vacunas que confieren protección homotípica (un tipo G concreto) o heterotípica (múltiples tipos G). No obstante, en la evolución de los rotavirus pueden generarse nuevas cepas por el intercambio de material genético

entre distintos tipos (resortantes) que coinfectan una misma célula. Otra posible forma de introducción de nuevos tipos es la adaptación directa de un virus animal al hombre (salto inter-especies).

Finalmente, cabe la posibilidad de que un virus humano poco circulante irrumpa violentamente en una población susceptible. Por estos motivos, según algunos autores, quizá sea conveniente incluir en futuras vacunas frente a rotavirus nuevos antígenos no contemplados en las actuales.

Tratamiento

El tratamiento es sintomático, se corrige la pérdida de agua y electrólitos. Consiste en la reposición de líquidos y del equilibrio electrolítico con soluciones de rehidratación por vía oral o por vía intravenosa, como sea factible. Las soluciones de rehidratación oral contienen glucosa y sodio (el transporte de ambos estimula la absorción de agua); además llevan cloro, potasio, citrato, bicarbonato, lactato, glucosa, sacarosa, aminoácidos, etc., favoreciendo la acción de la bomba de sodio y disminuyendo las pérdidas por heces en las primeras 24 horas de tratamiento. La persistencia de vómitos no constituye una contraindicación absoluta de la rehidratación oral, situación en la que es aconsejable pequeños volúmenes de 5-10 ml cada 2-3 minutos con cuchara o jeringa e ir aumentando la cantidad de suero según la tolerancia. La realimentación será lo más pronto posible y una vez que se sobrepase la fase de rehidratación, ya que se promueve la regeneración del enterocito y se disminuye la permeabilidad intestinal.

Debido a que los múltiples ciclos de replicación del rotavirus se producen antes del inicio de la enfermedad clínica, la administración de Ac en el momento del inicio de la enfermedad sea muy tardía para alterar su curso clínico. Por el contrario, en los casos crónicos e inmunodeprimidos los preparados con Ig específicas del rotavirus administradas por vía oral pueden disminuir la eliminación de partículas virales por las heces y mejorar la enfermedad. Aunque se ha visto que la ribavirina altera la replicación viral in vitro no existen evidencias de que modifique la enfermedad clínica in vivo. Los fármacos antiperistálticos o antisecretores deben evitarse ya que pueden causar en los niños efectos secundarios importantes. [19]

ADENOVIRUS

Los Adenovirus deben su nombre a que inicialmente fueron aislados a partir de adenoides. Pertenecen a la familia Adenoviridae; dentro de éstos, los serotipos que están más frecuentemente asociados con la producción de gastroenteritis son el 40 y 41, que pertenecen al subgénero F. [19]

Los adenovirus son endémicos en la población pediátrica, han sido reportados como causantes de gastroenteritis entre un 7 y un 17 % de todas las infecciones intestinales en niños, habiendo poblaciones donde el 50 %, a los 4 años de edad tienen Ac contra adenovirus entéricos, siendo superados solamente por los rotavirus como causa de diarreas en infantes. [29]

Estructura

- Virión: Simetría Icosaédrica de 70 a 90 nm de diámetro, con cápside que consta de 252 capsómeros. La fibra se proyecta desde cada uno de los 12 vértices, o bases de pentona, el resto de la cápside consta de 240 capsómeros de hexonas.
- Composición: DNA (13%), proteína (87%)
- Genoma: DNA bicatenario lineal.
- Proteínas: Las principales proteínas estructurales son hexona, base de pentona y fibras son las principales proteínas externas de la cápside; importantes en la clasificación de los virus y el diagnóstico de las enfermedades.
- Envoltura: Ninguna
- Replicación: Núcleo [25]

<u>Proteínas Estructurales</u>

- Hexón: Limita con 6 capsómeros y se encuentra en las caras triangulares del virión; contiene antígenos comunes a los adenovirus humanos.
- Pentón: Limita con 5 capsómeros y se localiza en los vértices y la fibra, que es una hemaglutinina. Es común a la familia Adenoviridae.
- Fibras: Son los antígenos de tipo-específicos, con especificidad de grupo.

Proteínas No Estructurales

Estas proteínas no son ensambladas en los viriones intactos, y entre ellas se encuentran una proteína tardía necesaria para el ensamblaje del trímero de la hexona a partir de monómeros; la proteína de unión al ADN (DBP), que constituye un producto temprano y necesario para la elongación del ADN viral; y la ADN polimerasa esencial para la replicación. Otros péptidos importantes son, por ejemplo, una proteína que interviene en la regulación de otras funciones génicas tempranas y constituye además un antígeno tumoral.

Clasificación

Los adenovirus pertenecen a la familia Adenoviridae; la cual se divide en cuatro géneros; los adenovirus humanos corresponden al género Mastadenovirus. [25] Se han aislado por lo menos 51 serotipos de adenovirus humanos que producen diferentes enfermedades (infecciones del tracto respiratorio superior, enteritis, conjuntivitis, cistitis y meningoencefalitis), [19] los cuales han sido agrupados en seis subgéneros (A a F) en base a diferencias en la capacidad hemaglutinante, propiedades oncogénicas, al tipo y tamaño de las proteínas estructurales y al grado de homología a nivel de la secuencia de nucleótidos en el ADN genómico. [23]

Los serotipos más frecuentes en las muestras clínicas son los de tipo respiratorio (1, 2, 3, 5 y 7) y los de tipo de gastroenteritis (40 y 41) del subgénero F; también aunque en menor número, otros serotipos del subgénero A (12, 18 y 31) y del subgénero C (1, 2, 5 y 6) han sido asociados a gastroenteritis. [19]

Patogenia

Estos virus se replican en células epiteliales de la faringe, conjuntiva, intestino delgado y en ocasiones otros sistemas orgánicos. Después pasan a los ganglios linfáticos cervicales, preauriculares y mesentéricos. Este virus establece tres tipos de interacciones con las células del huésped:

a) Lítica: Hay muerte celular como resultado de la infección viral (células muco epiteliales). Se da el ciclo replicativo completo con liberación de viriones (se producen

entre 10.000 y 1.000.000 de virus por célula, de los cuales 1-5% son infecciosos). Se da en células epiteliales.

b) Latente: El virus permanece en la célula huésped, la cual no es eliminada (tejido linfoide como adenoides, placas de Peyer). Dicha infección puede reactivarse en pacientes inmunocomprometidos. Los del grupo C persisten en infecciones latentes durante años en adenoides y amígdalas, y salen en las heces durante muchos años después.

c) Transformación oncogénica: El tercer tipo de infección, no descrita en seres humanos, pero sí en animales de experimentación, consiste en la integración del ADN viral al ADN celular y posterior replicación; sin producción de viriones infecciosos pero relacionado a la capacidad oncogénica del virus. [30, 31]

Los adenovirus entéricos ingresan directamente al tubo digestivo y se localizan a nivel del intestino delgado donde producen alteraciones en la pared que se traducen en un cuadro diarreico. [32]

Existe muy poca información acerca de los mecanismos fisiopatológicos involucrados; según estudios in vitro e in vivo se vio que dichas cepas del virus tenían predilección por células epiteliales con microvellosidades, concentrándose a nivel de las mismas, produciendo una alteración en el borde en cepillo. Sin embargo, aún no se conoce cómo la infección afecta decididamente la función intestinal. [23]

Cuadro Clínico

Se presenta diarrea que dura de 8 a 13 días y hasta 21 días, fiebre de poca intensidad, vómitos escasos, dolor abdominal; la enfermedad normalmente es leve y autolimitada, pero puede ser persistente y grave en pacientes inmunodeprimidos y puede presentar datos de intolerancia a la lactosa que persisten por 5 a 7 meses después de la infección por adenovirus entéricos.

- Mecanismo de Transmisión: El contacto directo vía fecal - oral es la principal vía de contagio. La transmisión por vehículo común a través del agua o los alimentos no ha sido demostrada.

- Período de Incubación: De 8-10 días, más largo que el de otros virus.
- Período de Transmisibilidad: Se prolonga mientras dura la enfermedad.
- Susceptibilidad del individuo: Se afectan principalmente niños menores de 2 años, aunque también niños más mayores y adultos. Los anticuerpos específicos que se producen confieren protección tanto frente a la infección actual como en las reinfecciones por el mismo serotipo. No existe el predominio estacional.

Respuesta Inmune

Aunque se considera que los anticuerpos neutralizantes frente a adenovirus entérico son tipos específicos (es decir, confieren protección frente a reinfecciones por el mismo serotipo), recientemente se ha documentado un elevado efecto de neutralización cruzada entre algunos serotipos. Este hecho abre nuevas perspectivas sobre la posible utilidad de la vacunación frente a estos agentes.

Tratamiento

No hay ningún tratamiento antiviral específico, debido a ello, las enfermedades graves por adenovirus entérico pueden resolverse únicamente tratando los síntomas y las complicaciones de la infección, es decir, el tratamiento es sintomático, se corrige la pérdida de agua y electrólitos, al igual que el rotavirus. [19]

7. FACTORES PREDISPONENTES DE GEA VIRAL

Medidas Higiénicas

El principal vehículo de transmisión implicado son las manos contaminadas. El rotavirus puede sobrevivir en las manos por lo menos 4 horas, en tejidos y materiales como la ropa o instrumentos médicos durante varios días y hasta 10 días en superficies no porosas en un ambiente seco de baja humedad. Así como también puede sobrevivir en el agua y alimentos contaminados varios días.

Factores del Huésped

Edad Infantil: En los neonatos la infección es frecuente y cuando aparece suele ser asintomática. Existiría protección en los menores de seis meses por transferencia de anticuerpos maternos por vía pasiva transplacentaria, así como por la lactancia materna.

Los niños entre 6 meses y 2 años constituyen un colectivo con mayor susceptibilidad a la infección. Durante este período se produce, por un lado, la disminución de la inmunidad pasiva transferida desde la madre y la maduración del tracto gastrointestinal, y por el otro, la posterior adquisición de la inmunidad activa relacionada con la infección natural.

Lactancia Materna: En la etapa neonatal el sistema inmune al igual que otros órganos y sistemas se encuentra incompletamente desarrollado debido a la inexperiencia antigénica y la prevalencia de factores supresores durante la vida fetal. Sin embargo, el neonato debe ser capaz de defenderse contra los microorganismos hostiles del ambiente, pero al carecer de un mecanismo de defensa competente es alta la incidencia de enfermedades infecciosas en el período perinatal.

Las inmunodeficiencias son aminoradas por mecanismos compensatorios que ocurren de forma natural, como el paso transplacentario de Ac e Ig G con alta avidez de la madre al feto durante la vida intrauterina. Después del nacimiento, la leche materna es la responsable de mantener el nexo inmunológico madre-hijo, al suministrarle a este los nutrientes necesarios y elementos protectores para hacer frente a las adversidades del medio externo al cual se incorpora a vivir, para su buen desarrollo y crecimiento, puesto que la leche humana es una emulsión de grasas en una solución azucarada que contiene carbohidratos, lípidos, proteínas, calcio, fósforo, vitaminas, células, inmunoglobulinas, lactoferrina, cloro, sodio, seroalbúmina, y otras sustancias que la hacen el alimento ideal para el niño.

En la leche materna no solo se encuentran las proteínas nutrientes, existen otras cuyas funciones principales no son las de nutrir al recién nacido, entre las que se encuentran las limosinas, con funciones antimicrobianas no específicas, con acción bactericida

contra enterobacterias y bacterias grampositivas que producen cuadros diarreicos en los lactantes, lo cual trae como consecuencias ingresos reiterados de los infantes.

La leche materna contiene a su vez IgA, IgG y IgM, cuya función es proteger las mucosas y proporcionar protección local intestinal contra poliovirus, *Escherichia coli, V. cholerae*, capaces de enfermar a los niños con la repercusión social que esto trae implícito. La IgG y la IgM protegen contra virus sincitial respiratorio como el citomegalovirus, la rubéola, entre otros. La lactoferrina que contribuye a la absorción del hierro en el intestino del niño, tiene efecto bacteriostático importante contra estafilococos, *Escherichia coli*, *Cándida albicans* mediante la privación del hierro que requieren para su crecimiento, además estos niños amamantados no padecen de anemia por la concentración de este vitamineral contenido en la leche materna, por tanto enferman con menos frecuencia.

La relación entre la infección por rotavirus y la protección transferida a través de la lactancia materna es controvertida. Estudios de cohortes y observacionales han revelado que la lactancia materna exclusiva puede ofrecer algún grado (40%) de la protección contra la gastroenteritis por rotavirus durante los primeros meses de vida. Una proteína IgSc o inmunoglobulina anti-rotavirus contenida en el componente secretor parece proteger contra la infección sintomática por rotavirus y recientemente se atribuido a la lactaderina una glicoproteína contenida igualmente en la leche materna, cuya función es fijar específicamente la partícula viral e inhibir su replicación y desde el punto de vista clínico la disminución o ausencia de síntomas y sus complicaciones y la rápida recuperación de los pacientes.

Sin embargo, no hay evidencia de que la protección sea a más largo plazo una vez que la alimentación con lactancia materna culmina. [46-48]

<u>Edad geriátrica e Inmunosupresión</u>: Constituye también uno de los colectivos más susceptibles por la disminución general de la inmunidad, así como el grupo de riesgo de niños y adultos inmunocomprometidos, ya sea por inmunodeficiencias congénitas, trasplante de médula ósea o trasplante de órganos sólidos.

Migrantes: Debido a que en cada región circulan virus diferentes, aquellos viajeros que visitan zonas donde no se encuentran las mismas variedades de virus para las que disponen de inmunidad, son un grupo que dispone de un nivel de defensa menos eficaz frente a la infección.

- **Factores Ambientales**

La convivencia de los niños en guarderías, de adultos en hospitales y de ancianos en residencias, permite la difusión de factores causales de gastroenteritis.

- **Factores Climáticos**

La estacionalidad de la enfermedad producida por rotavirus es un factor tan importante como un tanto desconocido. La incidencia de la enfermedad en países de clima tropical suele ser continua a lo largo del año sin un patrón claramente definido, mientras que en los países templados sigue un patrón estacional aumentando en la estación invernal y raramente identificado en los meses de verano, a diferencia de las diarreas de causa bacteriana y parasitaria que serían más frecuentes en los meses cálidos.

Algunas revisiones han destacado que esta descripción de la realidad estacional de la infección podría complementarse y ampliarse, de manera que, globalmente, el rotavirus a) estaría presente durante todo el año en países tropicales, b) descendería de forma importante en los meses calurosos en países de clima templado, c) sería más frecuente en los meses fríos tanto en zonas templadas como en las cercanas al trópico, y d) los picos invernales en los países de climas más templados se extenderían más allá de los meses de invierno a meses de otoño y primavera. Esta ampliación del patrón estacional podría indicar que además de la temperatura existirían otros factores relacionados con la distribución anual de la enfermedad.

Factores socio - económicos

- Hacinamiento
- Falta de acceso al agua potable
- Falta de posibilidades de refrigeración de los alimentos

- Sistema de eliminación de excretas ineficiente.
- Falta de acceso a información.
- Dificultad de acceso a los servicios de salud.
- Analfabetismo. [19, 25]

8. PREVENCIÓN Y CONTROL DE GEA VIRAL

- Medidas higiénicas estrictas como lavado de manos frecuente y la limpieza de objetos y superficies con desinfectantes adecuados (hipoclorito o una solución de etanol al 70%) son de importancia en la interrupción de la transmisión de la infección.
- Mantener la higiene en el hogar, vigilar el buen manejo de los desechos, lavar bien los muebles del sanitario y desinfectarlos con cloro.
- Lavarse las manos antes de alimentar al niño, después de ir al baño y después de cada cambio de pañal.
- Después del cambio, envolver los pañales y colocarlos en una funda plástica amarrada, y tirar inmediatamente en botes que se mantengan cerrados y alejados de los alimentos. Es útil la colocación de material absorbente alrededor de los pañales para evitar la extensión de la infección.
- Evitar la exposición a personas enfermas de gastroenteritis aguda con niños de corta edad, inmunosuprimidos e instituciones cerradas.
- Consumir agua hervida, lavar bien los alimentos y evitar el contacto de los alimentos con insectos.
- En ámbitos grupales, son recomendables las toallas de papel, pues las toallas sucias pueden ser una fuente de infección de los brotes epidémicos.
- Otro punto importante es la promoción de la lactancia materna, aunque no impide la infección, parece atenuar la enfermedad, por lo que estimular su empleo en la alimentación de los niños podría disminuir la incidencia de deshidratación y la consecuente hospitalización.
- **Vacunas:** En el caso de rotavirus, **a**lgunos estudios sostienen que la inmunidad inducida por la infección natural del virus protege a los niños de episodios

subsecuentes de diarrea grave por dicho virus o por rotavirus de un tipo G distinto. En la mayoría de los casos de inmunidad homotípica desarrollada tras la primera infección por un virus salvaje, sucesivas reinfecciones con rotavirus (incluso por el mismo serotipo) incrementan la carga de la respuesta inmune específica de protección heterotípica. Por otra parte, se ha demostrado que las infecciones asintomáticas confieren la misma inmunidad protectora que las sintomáticas. Esto confirmaría el beneficio hipotético de una vacunación. En el momento actual existen dos vacunas, Rotarix que utiliza una cepa de rotavirus G1 humano atenuada y Rotateq que emplea 5 cepas bovino-humanas. Por otro lado, no se cuenta con vacunas contra adenovirus entérico a nivel poblacional. [15, 19, 28]

9. DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL

El diagnóstico diferencial de una gastroenteritis vírica se hace atendiendo a:

• Los antecedentes epidemiológicos, como edad, la forma de presentación de los casos (esporádicos o como parte de un brote), el tipo de alimento sospechoso y el período de incubación (teniendo en cuenta que éste depende tanto de la dosis infectiva como de la resistencia del huésped).

• La existencia de factores predisponentes, como la inmunosupresión.

• El tipo de diarrea (acuosa, mucosa o sanguinolenta). Los virus, a diferencia de las bacterias invasivas, producen una diarrea sin sangre ni pus. Sin embargo, esta diarrea no se diferencia de la producida por bacterias toxigénicas como *Staphylococcus aureus, Escherichia coli* enterotoxigénico o *Clostridium perfringens*. Cabe añadir que un porcentaje de niños con gastroenteritis puede presentar una infección mixta, virus-virus o virus-bacteria,

• La presencia de signos y síntomas clínicos, como fiebre, dolor abdominal, náuseas, vómitos y diarrea. [19]

10. DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO

Métodos Directos

1. Cultivos Celulares: El virus como agente infeccioso

El aislamiento del virus era la técnica standard de oro sobre la cual se medían todas las pruebas de diagnóstico viral, pero hoy en día con el desarrollo de las nuevas técnicas de Biología Molecular ya no es la más sensible. De igual forma el aislamiento de virus tiene una alta sensibilidad y especificidad debido a que sólo se amplifica el virus; sin embargo, existen desventajas: el proceso suele ser laborioso, caro y lento, demanda días a semanas para la identificación, y en consecuencia puede no estar disponible a tiempo para influir en la atención del paciente. Por otra parte requiere el uso de sistemas de cultivos adecuados.

Un cultivo celular es obtenido, de explantes de órganos o de embriones de animales. Estas células obtenidas asépticamente se disocian tratándolas con una enzima (tripsina) que rompe el cemento intercelular. La suspensión de células libres así obtenidas se coloca en la superficie plana de un recipiente de vidrio o plástico en donde las células se adhieren y multiplican formando una fina capa de células denominada monocapa celular. Esta monocapa de células crece en un medio de cultivo complejo que contiene albúmina, vitaminas, sales, glucosa, etc., en un sistema buffer. Se previene la contaminación bacteriana adicionándole al medio antibiótico adecuado.

Luego de inoculado el cultivo celular, se incuba a 35-37°C hasta 14 días promedio, esperando la aparición de efecto citopático (visualización de cambios morfológicos en las células inoculadas producidas por la acción del virus sobre el cultivo celular), toxicidad o degeneración celular, observando el cultivo al microscopio a las 24, 48, 72 hs y luego 2 veces por semana. [35]

2. Técnicas Inmunológicas: Detección de Antígenos Virales

Inmunofluorescencia (IF)

Esta técnica emplea Ac conjugados a fluorocromos. Los fluorocromos son moléculas que al ser excitadas con la energía de una determinada longitud de onda son capaces de emitir luz.

La muestras clínica que presuntamente contiene el virus, es colocada sobre portaobjetos donde se dejan fijar. Luego se agregan Ac específicos marcados con isotiocianato de fluoresceína que se dirigen contra los Ag víricos. Si el Ag esperado está presente se formará un complejo Ag-Ac, el cual se visualiza con el microscopio de fluorescencia (emite luz ultravioleta de una determinada longitud de onda), por la aparición de fluorescencia de color verde manzana.

Radioinmunoensayo (RIA)

Se basa en la competencia existente entre el Ag no marcado (muestra problema) y una cantidad conocida del Ag marcado con un isótopo radioactivo, para formar los complejos AgAc o Ag*Ac. Con estos 3 componentes (Ag, Ag* y Ac) puede realizarse el ensayo en el que manteniendo constante la cantidad de Ag* y Ac se observará que a mayor cantidad de Ag menos Ag* queda unido a la cantidad fija de Ac (por tanto menos radiactividad), lo que permitirá relacionar la radiactividad con la concentración de Ag.

Se añaden Ac específicos previamente obtenidos a una placa y quedan unidos al soporte sólido, tras lo que se agrega el Ag* en cantidad conocida y el Ag de la muestra problema, luego se elimina el Ag no unido por decantación y lavado, y se determina mediante la radioactividad la cantidad de marcaje unido. Finalmente se intercala el valor obtenido en la recta de calibración (realizado con anterioridad) para calcular la concentración de Ag en la muestra problema.

Enzimoinmunoanálisis (EIA)

El Ag viral presente en la muestra clínica se combina con el Ac específico fijado a la fase sólida (pocillo de micro placa o una pequeña esfera de plástico). El Ag viral se detecta

mediante la adición de otro Ac* específico conjugado a una enzima. La enzima conjugada suele ser peroxidasa o fosfatasa alcalina. 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 y en el caso de la fosfatasa la desfosforilización es la responsable directa de la aparición del color. Los resultados se leen por medio de espectrofotómetros especialmente diseñados.

Test de Aglutinación en Látex

Es un método simple, de un solo paso, que se basa en la fijación inicial de Ac antivirales específicos sobre partículas de látex. Luego este reactivo se incuba con la muestra clínica en la cual se investiga el Ag y las partículas se aglutinan si el Ag esperado se encuentra presente. Estas pruebas en general se confirman por otros ensayos debido al elevado porcentaje de reacciones inespecíficas.

Test de Inmunocromatografía

Es un método en fase solida donde se fijan los Ac específicos para el virus en la superficie de una matriz, tubo o microplaca.

La muestra con el Ag a analizar se coloca en la zona de siembra de la tira o dispositivo cassette, y fluye por capilaridad hasta la zona del conjugado, en donde se encuentra el Ac* específico marcado y en caso de haber Ag en la muestra forma inmunocomplejo (Ac*-Ag), los cuales siguen migrando lateralmente hasta la zona de detección en la cual se hallan fijados a la membrana Acs específicos contra otro epitope del Ag, de manera que los inmunocomplejos (Ac*-Ag-Ac), son fijados en esta zona de detección, formando una banda coloreada, rosa o azul dependiendo del metal utilizado en el conjugado.

La muestra fluye por capilaridad hasta la zona de control. Aquí el conjugado es capturado por un Ac anti-conjugado, formándose una banda coloreada tanto si el Ag está presente en la muestra como si no lo está. Este control indica que la prueba ha sido realizada correctamente y todos los reactivos funcionan bien. Finalmente el resto de la muestra es absorbida en la región absorbente. [35, 36]

3. Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR): Detección de ácidos nucleicos virales.

Esta técnica, fue desarrollada para incrementar el número de moléculas de ADN blanco en las muestras. Tiene una sensibilidad tan alta que puede amplificar una única molécula de ADN y una sola copia de genes puede ser extraída, de mezclas complejas de secuencias genómicas y visualizada como bandas diferentes en geles de agarosa. Por lo tanto, la PCR es una amplificación de secuencias específicas del ADN.

Se basa en la utilización de secuencias cortas de nucleótidos sintéticos llamados cebadores, que se hibridan de forma específica con cada una de las cadenas de DNA, previamente desnaturalizadas, llamadas moldes. Para que la reacción tenga lugar se usa una enzima, Taqpol (ADN Polimerasa termoestable de la bacteria Thermusaquaticus) y deoxinucleótidostrifosfatos.

La función natural de la DNA polimerasa consiste en replicar el DNA. Los desoxinucleótidos trifosfatos se necesitan como ladrillos para la construcción. El nucleótido al cual se une la polimerasa será complementario de la base en la posición correspondiente de la cadena templada. Se sintetiza así una cadena simple de DNA, complementaria y alineada a cada cebador.

Se realiza una serie repetida de ciclos cada uno compuesto por 3 pasos básicos:

a. Desnaturalización del ADN doble cadena por la elevada temperatura (95°C).

b. Acoplamiento de los primers, desciende la temperatura (entre 55°C-72°C).

c. Elongación del primers, aquí se eleva la temperatura a 72°C permitiendo la incorporación de los deoxinucleótidos.

Mientras tanto se van seleccionando los primers y los desoxinucleótidos, y se van sintetizando nuevas cadenas de DNA. Al final se consiguen miles de copias de DNA del fragmento de DNA limitado por los "cebadores”. Los fragmentos de DNA así obtenidos se pueden identificar por varias técnicas: visualización en geles de agarosa o poliacrilamida mediante tinción con bromuro de etidio y examen con luz ultravioleta, o hibridación con una sonda marcada.

4. Microscopía electrónica: El virus como partícula viral

Mediante el microscopio electrónico es posible observar la morfología de los viriones presentes en muestras clínicas. La limitación del método además del costo del microscopio, es que necesita de una alta concentración de viriones (aproximadamente 109 partículas virales/ml, dependiendo del virus) presentes en la muestra, por ello es inespecífica.

Si la concentración de virus en la muestra clínica es baja, y por tanto no visible directamente por microscopio electrónico, se pueden utilizar técnicas que aumenten la visualización, por ejemplo, la inmunoelectromicroscopía, que consiste en el agregado de anticuerpos específicos antivirales y la formación de agregados de partículas que son más fácilmente visibles que las partículas solas.

Métodos Indirectos

Son aquellos que reconocen la respuesta inmune (humoral o celular) por parte del huésped: Detección de Ac específicos antivirales por técnicas inmunológicas (EIA, IFI, WB, etc.).

En el curso de una infección varían las poblaciones de Ac frente al agente infectante. En una primera fase la clase predominante suele ser IgM, mientras que con el transcurso del tiempo las IgM disminuyen hasta desaparecer o quedar a baja concentración residual y, en cambio, aumentan las IgG. La búsqueda de Ac clase IgM es de utilidad para hacer diagnóstico de infección reciente en una sola muestra de suero extraída en el período agudo de la enfermedad. Este método se emplea para el diagnóstico de enfermedades como: Rubéola, Citomegalovirus, Hepatitis a virus A, etc.

La seroconversión es el aumento del título de Ac cuatro veces o más observado en dos muestras emparejadas de suero. La primera muestra se obtendrá en el período agudo de la enfermedad y la segunda, 15 a 21 días después de la primera, en el período de convalecencia. La seroconversión es útil para establecer el diagnóstico retrospectivo, pero no para el diagnóstico temprano de una infección, puesto que debemos esperar al período de convalecencia para obtener la segunda muestra del suero.

Las determinaciones serológicas también nos pueden informar sobre el estado inmune del paciente frente a muchas infecciones virales, como paperas, sarampión y rubéola, donde la presencia de Ac específicos indica que el individuo ha estado expuesto previamente al virus y que es inmune para una nueva infección.

A veces el diagnóstico serológico tiene dificultades, por ejemplo: cuando se realiza en recién nacidos para identificar la causa de una infección congénita. La evaluación de los resultados en este caso es difícil porque los ensayos serológicos detectan ante todo IgG, y mucha de la IgG presente en el suero del niño provino de la madre por vía transplacentaria y no es posible diferenciar la IgG del niño de la IgG de la madre.

Tradicionalmente, el diagnóstico de las enfermedades virales congénitas se realiza mediante determinaciones seriadas de IgG en el suero. El descenso del título de anticuerpos indica que los Ac eran maternos y que el niño no está infectado. El aumento en el título de Ac indica que el niño está produciendo Ac y por lo tanto está infectado. Sin embargo, hoy en día el diagnóstico serológico viral se ha simplificado con las nuevas técnicas que detectan IgM, ya que la detección de IgM específica en el suero del niño confirma que el niño está infectado, porque la IgM no atraviesa la placenta y por tanto no puede ser de origen materno.

Los métodos para el diagnóstico serológico de las infecciones virales incluyen:

1. Inmunofluorescencia Indirecta (IFI)

Se basa en la unión de Ac antivirales presentes en el suero del paciente a los Ag virales expresados en la superficie y citoplasma de células infectadas, que han sido fijadas a un portaobjeto de vidrio. Como control de especificidad se usan células no infectadas.

Se incuba el suero del paciente con las células infectadas y no infectadas. Luego se realiza un lavado con Phosphate Buffer Saline y se agrega posteriormente Ac anti IgG humana conjugado con isotiocianato de fluoresceína

El conjugado se unirá a los Ac del paciente si la reacción es positiva, leyéndose la prueba en un microscopio de fluorescencia. La presencia de Ac se evidencia por la

aparición de fluorescencia en el citoplasma y superficie de las células infectadas, mientras que las células control no fluorescente.

2. Enzimoinmunoanálisis Indirecto (EIA)

Los Ag virales se inmovilizan sobre una fase sólida (pocillo de micro placa) y se agregan los sueros en estudio; se incuban, se lavan y se revela la reacción Ag-Ac por el agregado de una Ig anti especie conjugada con una enzima, seguida por el substrato apropiado para esta. Los resultados se pueden leer con un espectrofotómetro y en algunos casos de forma visual.

3. Test de Aglutinación

El fundamento de esta técnica fue descrito para el estudio de Ag viral (método directo). Ahora lo que buscamos es detectar Ac antivirales, por eso se usan partículas de látex recubiertas con Ag viral.

4. Test de Inmunocromatografía

Esta prueba puede ser utilizada también para la detección de Acs. En este caso, el conjugado es el Ag específico marcado. En la zona de detección está fijado un Ac anti Ig (dependiendo de la especie en la cual se buscan los Acs), el cual capturará los complejos inmunes formados si la muestra posee Acs específicos. En la zona de control un Ac específico para el conjugado (en este caso el Ag marcado) captura el exceso de Ag solubilizado por la muestra.

5. Western Blot (WB)

Las técnicas inmunológicas de Inmunoblot están encontrando amplias aplicaciones en el diagnóstico virológico. Se basa en la separación electroforética de proteínas virales que son posteriormente inmovilizadas en papel de nitrocelulosa con el objeto de determinar la presencia de Ac específicos contra cada una de esas proteínas.

Esta técnica se realiza esquemáticamente en 3 pasos:

1. Se produce en cultivos celulares grandes cantidades de virus que luego son tratados químicamente para su desintegración e inactivación. Los Ags resultantes del lisado viral se separan por electroforesis en gel de poliacrilamida.

2. Se realiza una transferencia (blotting o electrotransferencia) de los Ags separados a membranas de nitrocelulosa.

3. Se coloca el suero del paciente sobre la membrana de nitrocelulosa. Posteriormente se añaden Ac anti-Ig humana unida a una enzima (peroxidasa o fosfatasa alcalina) y, por último, se agrega el substrato enzimático para la visualización de las bandas reactivas con un producto final coloreado.

En la práctica sólo el 3er paso es el que se realiza en los laboratorios de diagnóstico, ya que los equipos comerciales proveen de las tirillas con los antígenos.

6. Producción de Anticuerpos In Vitro

Se trata de una técnica nueva que ha sido aplicada para el diagnóstico de la infección perinatal. Este procedimiento revela la presencia de Ac antivirales producidos in vitro a partir de los linfocitos B extraídos de sangre total, lo que indicaría que el sistema inmune del paciente ha sido estimulado por el virus.

La producción de Ac antivirales in vitro promete ser de gran valor en el diagnóstico temprano de niños infectados por VIH. [6, 26]

5. MATERIALES Y MÉTODOS

TIPO DE ESTUDIO

La presente investigación es un estudio de tipo descriptivo y de corte transversal, el cual se realizó en el Hospital Regional Isidro Ayora de la ciudad de Loja, en niños(as) menores de 5 años ambulatorios, hospitalizados y de la sala de emergencias, en cuyas muestras de heces diarreicas se evaluó la inmunocromatografía de dos tipos de test, el Combinado y el Simple para la detección de Rotavirus y Adenovirus.

UNIVERSO Y MUESTRA

Se trabajó con 100 muestras de heces de niños(as) menores de 5 años con síndrome diarreico, que acudieron al Hospital Regional Isidro Ayora de la ciudad de Loja, durante los meses de Febrero y Marzo del 2013.

CRITERIOS DE INCLUSIÓN

- Niños(as) con diarrea persistente menor a 5 días de duración.
- Niños(as) Inmunizados y No Inmunizados contra el Rotavirus.

CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

- Niños(as) mayores de 5 años de edad.
- Niños(as) diagnosticados con gastroenteritis aguda causada por otras etiologías diferentes a las virales o causado por otro tipo de enfermedades.
- Niños(as) que recibieron tratamiento antibiótico en la última semana.
- Muestras de heces recogidas en recipientes inadecuados.
- Muestras emitidas hace más de dos horas y no han sido refrigeradas.

INTRUMENTOS, TÉCNICAS Y PROCEDIMIENTOS

Obtención de Permisos

- Se realizó solicitudes dirigidas al director del Hospital Regional Isidro Ayora, Dr. Jorge Guapulema y a la Dra. Clara Bravo jefa del Laboratorio de dicha institución, con el fin de obtener la respectiva autorización para llevar a cabo el presente estudio en los niños(as) que acuden a dicha institución. (Anexo 1)

- Seguidamente se dirigió una petición al Dr. Jorge Reyes Director del Área de Salud Humana de la UNL, solicitando el permiso respectivo para hacer uso de las instalaciones del Laboratorio del Centro de Diagnóstico Médico, para llevar a cabo el respectivo análisis de las muestras de heces. (Anexo 2)

- Así mismo, se solicitó la autorización respectiva del Dr. Jorge Guapulema – Director del Hospital Regional Isidro Ayora para acceder a las historias clínicas de los niños(as) que presentaron resultados positivos, con el fin obtener información acerca del sexo, edad, antecedentes clínicos, manifestaciones clínicas y factores de riesgo con el fin de elaborar una lista estadística que pretende la investigación. (Anexo 3)

- Se diseñó una encuesta sustentada por encuestas de estudios similares, la cual se aplicó a la madre de familia del niño(a), con el fin de obtener datos importantes que se tendrá en cuenta para los criterios de inclusión y exclusión y factores predisponentes, necesarios para el estudio.

- Se elaboraron y entregaron trípticos, con información acerca de los síntomas, factores predisponentes y medidas preventivas de la enfermedad diarreica aguda por Rotavirus y Adenovirus. (Anexo 4)

Procesamiento de la Muestra Clínica

Fase Pre-Analítica: La recolección de muestras (remitidas del Departamento de Pediatría, Emergencias y Ambulatorios) se realizó en el Laboratorio Clínico del Hospital Provincial Isidro Ayora; para ello previamente se dio indicaciones para la obtención adecuada de la muestra de heces diarreica. (Anexo 5)

- Registro de datos del niño(a).
- Recepción de la muestra e identificación.
- Aplicación del consentimiento informado por escrito al familiar encargado del niño(a). (Anexo 6)
- Aplicación de la encuesta al familiar encargado del niño(a). (Anexo 7)

Fase Analítica: El análisis clínico de las muestras se realizó en las instalaciones del Laboratorio del Centro de Diagnóstico Médico ASH-UNL; el cual se basó en la detección de la presencia de antígenos virales de Rotavirus y Adenovirus en heces mediante el método inmunocromatográfico. Cada una de las muestras de heces fueron analizadas mediante los dos tipos de Test en estudio, siguiendo estrictamente las instrucciones del fabricante *CerTest BioTec* y valiéndose de ambos test a la vez como métodos de referencia el uno respecto al otro:

- Test Inmunocromatográfico Combinado Rota + Adenovirus (Anexo 8)
- Test Inmunocromatográfico Simple Rotavirus CerTest BioTec (Anexo 9)
- Test Inmunocromatográfico Simple Adenovirus CerTest BioTec (Anexo 10)

Fase Post-analítica

- Elaboración de un registro de resultados obtenidos. (Anexo 11)
- Elaboración de formato de reporte de resultados. (Anexo 12)
- Reporte y respectiva entrega de resultados obtenidos.

Técnicas de Diagnóstico de Laboratorio

Test Inmunocromatográfico Combinado Rota+Adeno

Fundamento: En la membrana de la zona de resultados del test previamente se fijaron Ac monoclonales de ratón contra Ag virales. Durante la prueba, la muestra reacciona con los conjugados coloreados (Ac monoclonales de ratón anti-rotavirus-microesferas rojas y Ac monoclonales de ratón anti-adenovirus-microesferas azules) previamente secados en la membrana del test. La muestra con las partículas coloreadas avanza por capilaridad a través de la membrana del test.

Para un resultado positivo los Ac específicos presentes en la membrana capturarán las partículas coloreadas con Ags. Pueden aparecer diferentes líneas de color en la zona de resultados dependiendo del virus presente en la muestra, rotavirus (línea roja) y adenovirus (línea azul). Este conjugado continúa su recorrido por la membrana hacia los Ac inmovilizados en la zona de control, en donde siempre tiene que aparecer la línea de control (línea verde) la cual sirve: 1) para verificar que el volumen de muestra añadido ha sido suficiente, 2) que el flujo ha sido apropiado y 3) como control interno de los reactivos. Cuando la línea de control no aparece independientemente de las líneas de resultado (roja y/o azul), la prueba es considerada inválida.

Procedimiento: Abrir el tubo para dilución de muestra, y con ayuda del palito se toma una muestra de las heces (aprox. 100mg), si la muestra fuera líquida se recogerá 100 µL- de la misma con una pipeta. Se introduce el palito en el tampón cerrando el tubo y se agita para facilitar la dispersión de la muestra, luego cortar la punta del tapón y colocar 4 gotas o 100 µL del líquido en la ventana circular marcada con una flecha o una S en el cassette. Leer el resultado a los 10 min.

Test Inmunocromatográfico Simple para la Detección de Rotavirus

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

Para dar el resultado como positivo, una línea de color ROJO aparecerá en la zona de resultados de la membrana. La ausencia de esta línea 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 línea de color VERDE (línea de control), la cual se utiliza: 1) para verificar que se ha añadido el volumen de muestra suficiente y 2) que el flujo ha sido el apropiado; y 3) como control interno de los reactivos.

Procedimiento: Abrir el tubo para dilución de muestra, y con ayuda del palito se toma una muestra de las heces (aprox. 100mg), si la muestra fuera líquida se recogerá 100 µL- de la misma con una pipeta. Se introduce el palito en el tampón cerrando el tubo y se agita para facilitar la dispersión de la muestra, luego cortar la punta del tapón y colocar 5 gotas o 150 µL del líquido en la en la zona blanca del extremo del test marcada con una flecha. Leer el resultado a los 10 min.

Procedimiento por inmersión: Una vez diluida la muestra (en el tubo de dilución); cortar la punta del tapón y añadir 5-10 gotas en un tubo de ensayo e introducir el test verticalmente de forma que la parte blanca contacte con la muestra. No sobrepasar el límite de inmersión marcado con las flechas. Leer el resultado a los 10 minutos.

Test Inmunocromatográfico para la Detección de Adenovirus

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

Procedimiento: Abrir el tubo para dilución de muestra, y con ayuda del palito se toma una muestra de las heces (aprox. 100mg), si la muestra fuera líquida se recogerá 100 µL- de la misma con una pipeta. Se introduce el palito en el tampón cerrando el tubo y se agita para facilitar la dispersión de la muestra, luego cortar la punta del tapón y colocar 5 gotas o 150 µL del líquido en la en la zona blanca del extremo del test marcada con una flecha. Leer el resultado a los 10 min.

Procedimiento por inmersión: Una vez diluida la muestra (en el tubo de dilución); cortar la punta del tapón y añadir 5-10 gotas en un tubo de ensayo e introducir el test verticalmente de forma que la parte blanca contacte con la muestra. No sobrepasar el límite de inmersión marcado con las flechas. Leer el resultado a los 10 minutos.

PLAN DE TABULACION Y ANALISIS DE DATOS

Los datos recopilados en las encuestas y los resultados obtenidos en los análisis clínicos se presentaron en distribuciones de frecuencia y porcentaje en tablas y gráficos, para lo cual toda esta información se procesó electrónicamente a través de la hoja de cálculos del programa Microsoft Excel 2010, una vez obtenidos los datos estadísticos se finalizó con un análisis completo e interpretativo de los resultados obtenidos.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Prevalencia.- Tal como diferentes autores definen las distintas medidas de prevalencia, puede decirse que ésta no es más que la frecuencia (absoluta o relativa) con la que se presenta un determinado fenómeno en una población (entendido este término en su sentido estadístico). En epidemiología los fenómenos a los que suele aplicarse el concepto son enfermedades y la población es humana.

Prevalencia Puntual.- Se habla de prevalencia puntual para referirse a dos cosas: a) al número o la frecuencia absoluta de personas que presentan una cierta característica –normalmente una enfermedad- en un instante dado y b) a la proporción o a la frecuencia relativa de individuos de la población que presentan dicha característica en ese momento.

Fórmula:

Prevalencia Puntual = Número Total de casos de la enfermedad durante un periodo específico / Población Total

Prevalencia de rotavirus: De las 100 muestras analizadas se detectó 16 muestras positivas para rotavirus captadas en el periodo de febrero y marzo del 2013, lo que indica que habrán 16 casos positivos de rotavirus por cada 100 niños (as) con diarrea.

$$P = 16/100$$

$$P = 0,16$$

$$P = 16\%$$

Prevalencia de adenovirus: De las 100 muestras analizadas se detectó 5 muestras positivas para adenovirus captadas en el mismo periodo, lo que indica que habrán 5 casos positivos de adenovirus por cada 100 niños (as) con diarrea.

$$P = 5/100$$

$$P = 0,05$$

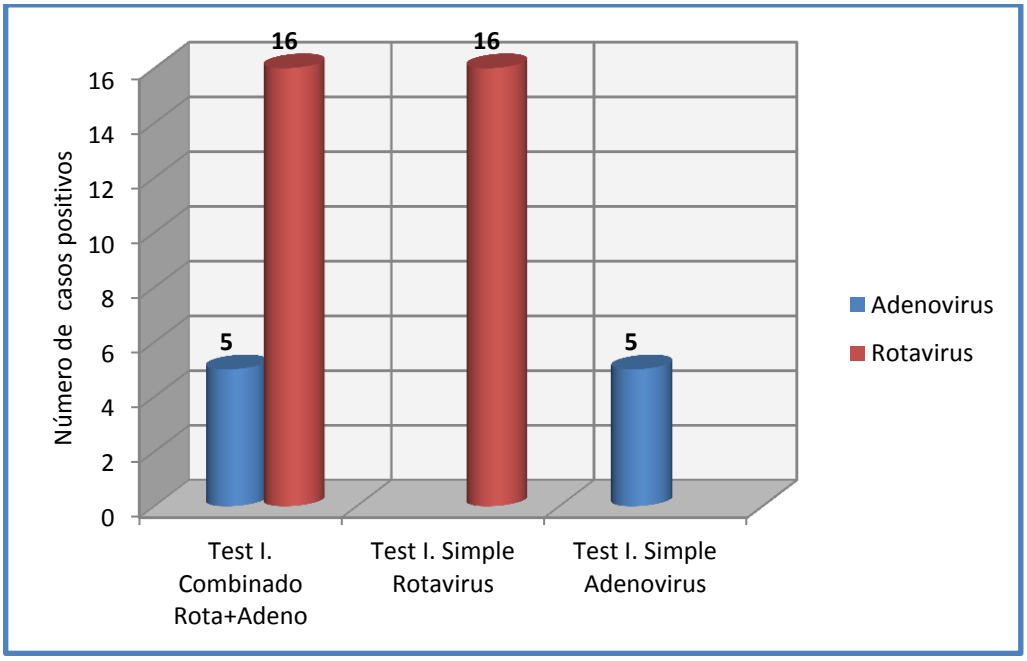
$$P = 5\%$$

Cabe mencionar que 3 niños mostraron resultados positivos para ambos virus, con una prevalencia de 0,03 (3%) lo que indica que por cada 100 niños (as) con diarrea aguda 3 presentarán infección por ambos virus.

6. RESULTADOS

GRÁFICO N° 1

COMPARACIÓN DE RESULTADOS OBTENIDOS POR EL TEST INMUNOCROMATOGRAFICO SIMPLE RESPECTO AL TEST COMBINADO EN LA DETECCIÓN DE ROTAVIRUS Y ADENOVIRUS

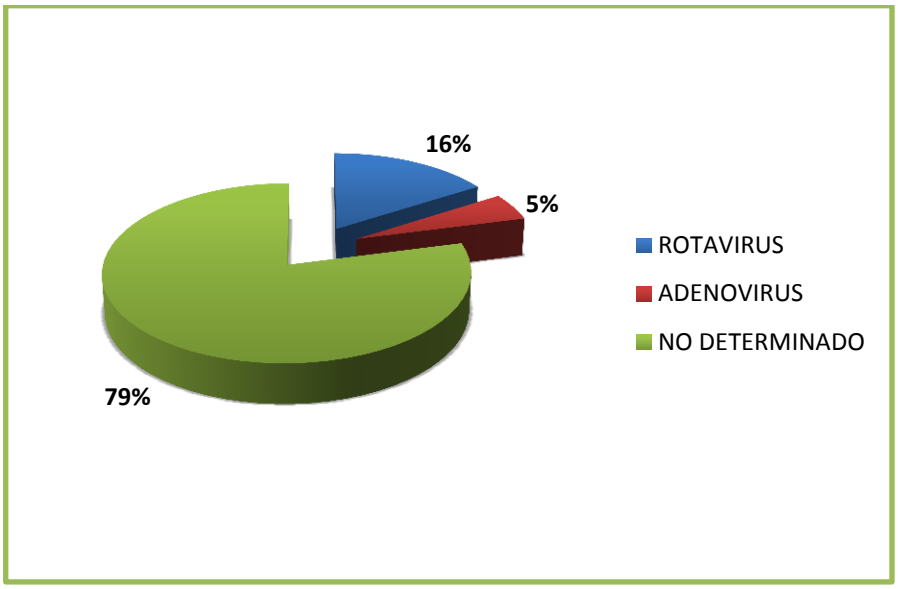


Fuente: Registro de análisis realizados.
Elaboración: M. Gabriela Ordóñez

INTERPRETACIÓN: En el grafico N°1 podemos observar que de las 100 muestras de heces analizadas, el Test Inmunocromatográfico Combinado Rota+Adeno detectó 21 casos positivos, de los cuales 16 fueron de Rotavirus y 5 de Adenovirus (de ellos 3 muestras presentaron ambos virus) los 79 restantes fueron negativos para ambos virus. Por otro lado el Test Inmunocromatográfico Simple para Rotavirus detectó igual proporción que el Test Combinado con 16 casos positivos, de igual manera sucedió con el Test Inmunocromatográfico Simple para Adenovirus el cual detectó 5 casos positivos al igual que el Test Combinado. Lo cual comprobó que el Test Combinado alcanza igual relevancia que los Test Simples.

GRÁFICO N° 2

PREVALENCIA DE ROTAVIRUS Y ADENOVIRUS EN NIÑOS(AS) MENORES DE 5 AÑOS QUE ACUDIERON AL HOSPITAL ISIDRO AYORA DE LA CIUDAD DE LOJA

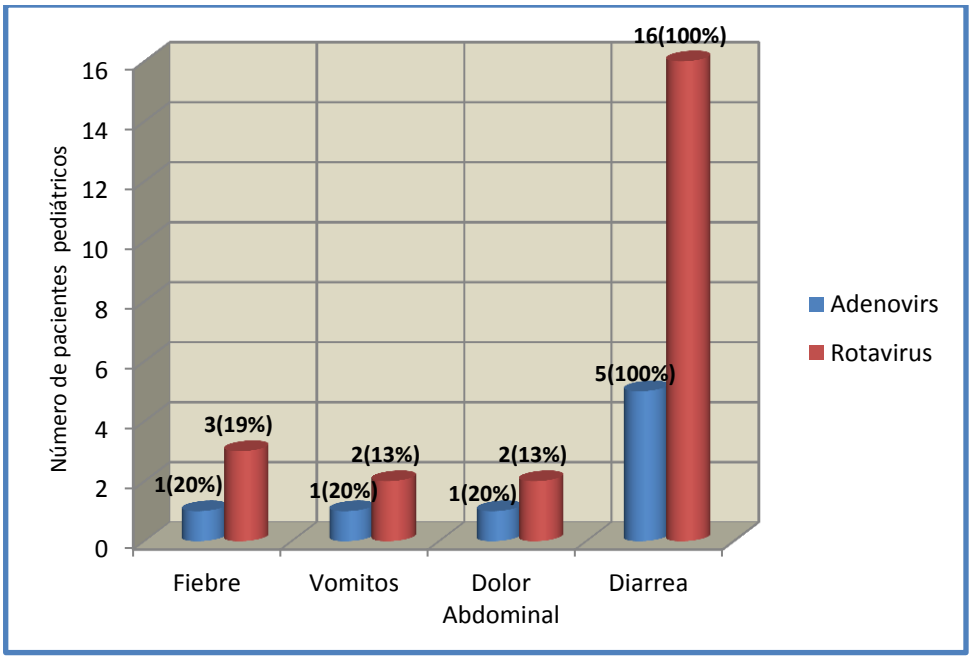


Fuente: Registro de análisis realizados.
Elaboración: M. Gabriela Ordóñez

INTERPRETACIÓN: De las 100 muestras analizadas, el índice de prevalencia de infección por rotavirus es del 0,16 (16%) y de Adenovirus Entérico del 0,05 (5%) en nuestra ciudad. Cabe mencionar que 3 niños mostraron resultados positivos para ambos virus, presentándose una prevalencia del 0,03 (3%) para ésta infección mixta.

GRÁFICO N° 3

SÍNTOMAS CLÍNICOS DE LOS NIÑOS(AS) QUE PRESENTARON ROTAVIRUS/ADENOVIRUS

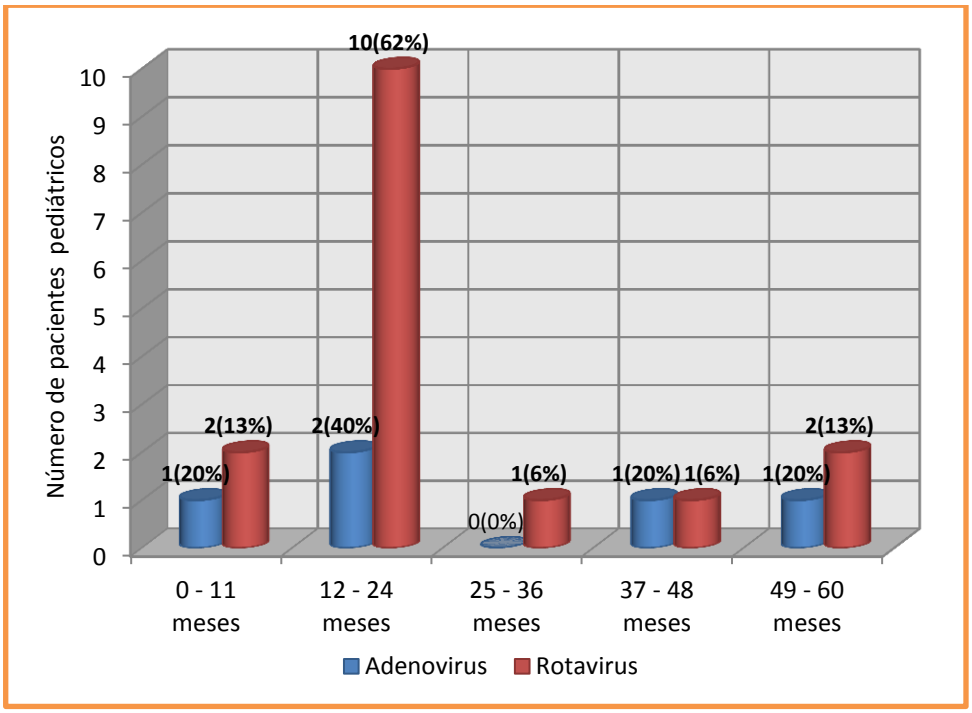


Fuente: Encuestas aplicadas.
Elaboración: M. Gabriela Ordóñez

INTERPRETACIÓN: El 100% de niños con rotavirus positivo manifiestan diarrea como síntoma principal de la infección, resultados iguales se muestran en el caso de adenovirus entérico.

GRÁFICO N° 4

GRUPO ETARIO DE LOS NIÑOS(AS) QUE PRESENTARON ROTAVIRUS/ADENOVIRUS

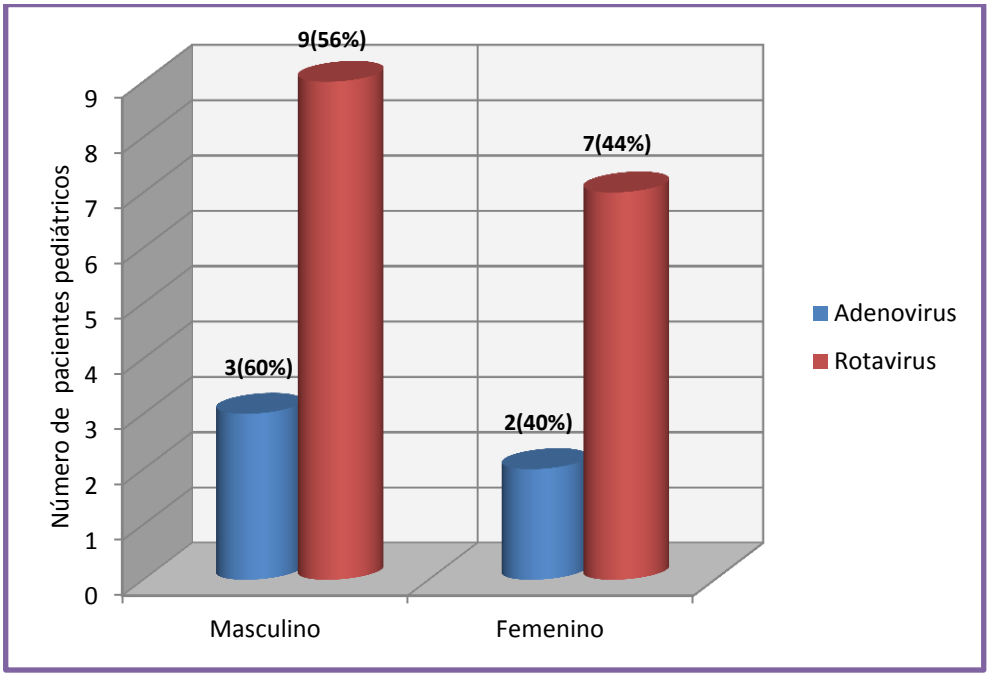


Fuente: Encuestas aplicadas.
Elaboración: M. Gabriela Ordóñez

INTERPRETACIÓN: El rotavirus afecta mayormente a niños(as) de 12 a 24 meses de edad con un 62%, igualmente en el caso del adenovirus entérico la población mayormente afectada fueron niños(as) de 12 a 24 meses de edad con un 40%.

GRÁFICO N° 5

GÉNERO DE LOS NIÑOS(AS) QUE PRESENTARON ROTAVIRUS/ADENOVIRUS

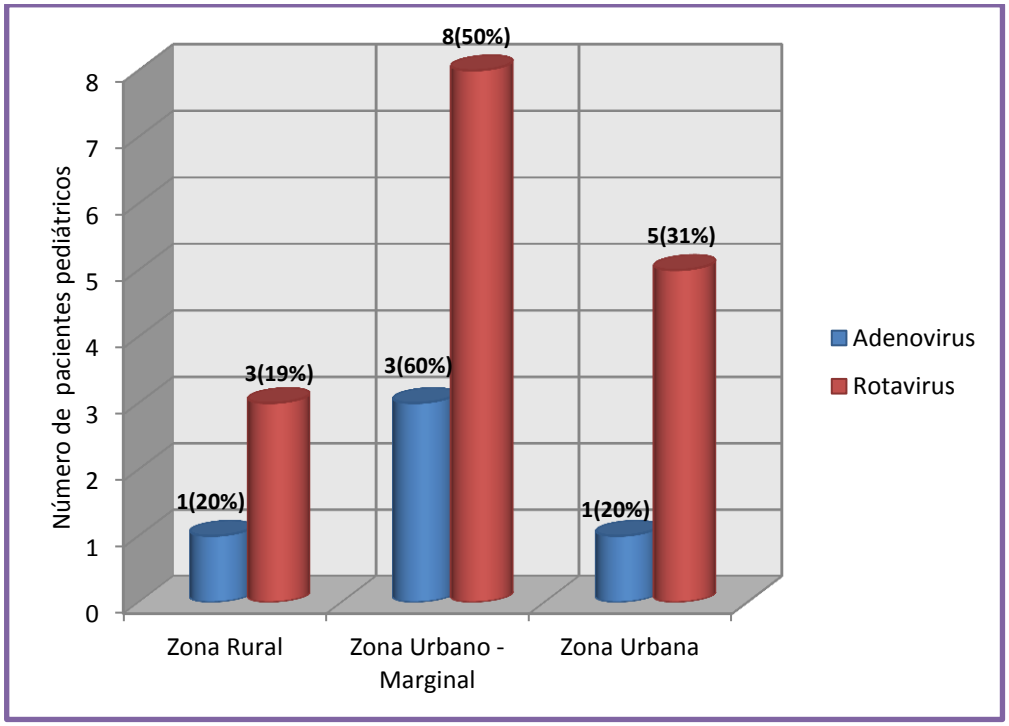


Fuente: Encuestas aplicadas.
Elaboración: M. Gabriela Ordóñez

INTERPRETACIÓN: En el caso del rotavirus la población infantil mayormente afectada corresponde al sexo masculino con el 56%; de manera similar ocurre con el adenovirus entérico, el cual afecta con más frecuencia al sexo masculino con el 60%.

GRÁFICO N° 6

ZONA DE PROCEDENCIA DE LOS NIÑOS(AS) QUE PRESENTARON ROTAVIRUS/ADENOVIRUS

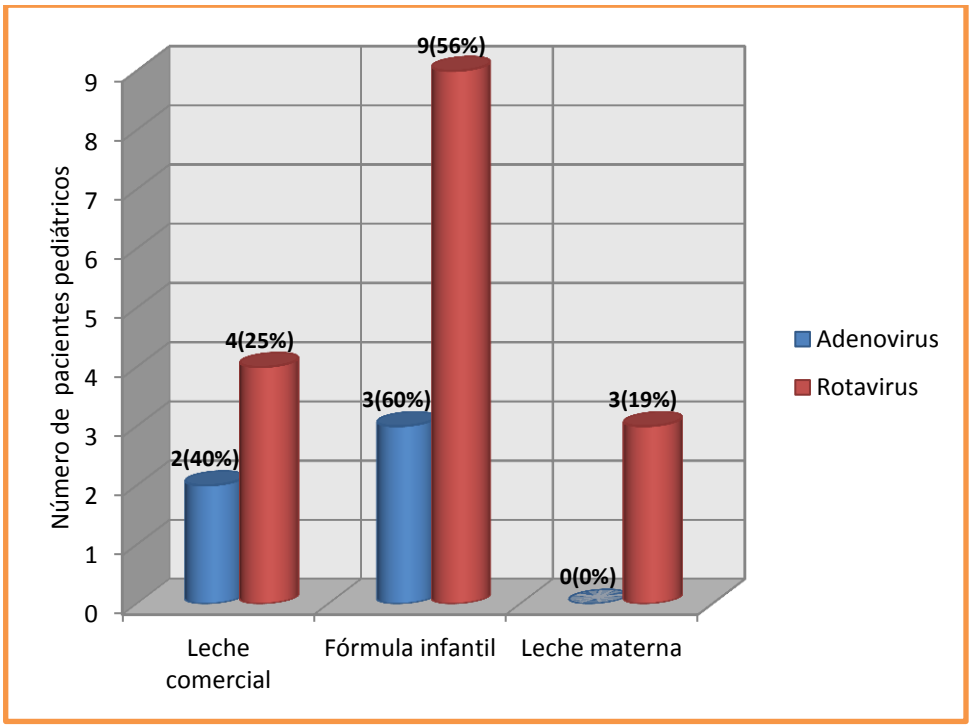


Fuente: Encuestas aplicadas.
Elaboración: M. Gabriela Ordóñez

INTERPRETACION: El 50% de los niños(as) que presentaron infección por rotavirus tienen su vivienda en la zona urbana - marginal de nuestra ciudad. De igual forma ocurrió en el caso del adenovirus entérico, el 60% de niños(as) afectados por este virus habitan en la zona urbana - marginal de la ciudad.

GRÁFICO N° 7

TIPO DE LACTANCIA DE LOS NIÑOS(AS) QUE PRESENTARON ROTAVIRUS/ADENOVIRUS

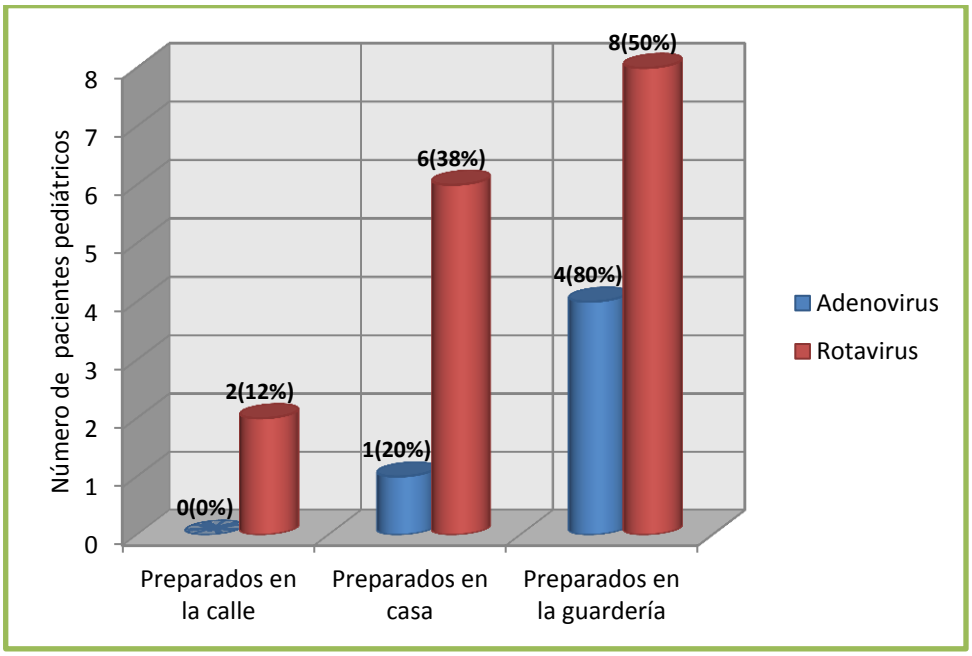


Fuente: Encuestas aplicadas.
Elaboración: M. Gabriela Ordóñez.

INTERPRETACIÓN: En el caso de rotavirus el 56% de los niños(as) infectados son alimentados con fórmula infantil y 19% reciben alimentación a base de leche materna exclusiva. De igual forma ocurrió con el adenovirus entérico, el 60% consume fórmula infantil y el 40% restante opta por leche comercial.

GRÁFICO N° 8

PROCEDENCIA DE ALIMENTOS QUE CONSUMIÓ EL NIÑO(A) UN DÍA ANTES DE PRESENTAR SÍNTOMAS DE LA INFECCIÓN ROTAVIRUS/ADENOVIRUS

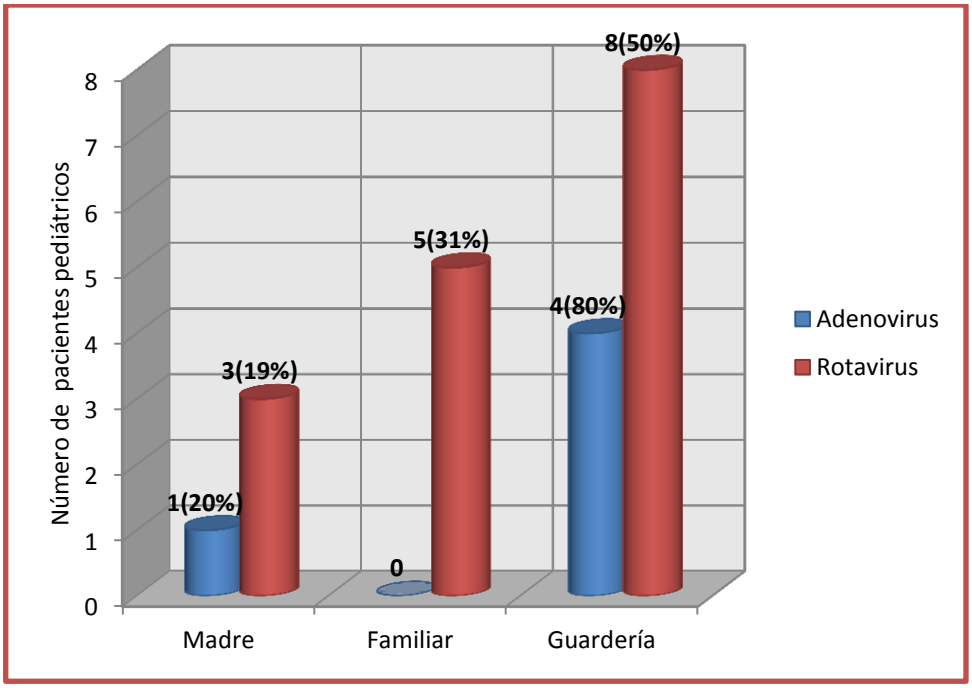


Fuente: Encuestas aplicadas.
Elaboración: M. Gabriela Ordóñez

INTERPRETACIÓN: El 50% de los niños(as) afectados por rotavirus ingirió alimentos preparados en la guardería un día antes de presentar síntomas de ésta infección, igualmente ocurrió en el caso de niños(as) afectados con adenovirus entérico de los cuales el 80% ingirieron alimentos preparados en la guardería antes de presentar los síntomas.

GRÁFICO N° 9

CUIDADO DIARIO DE LOS NIÑOS(AS) QUE PRESENTARON ROTAVIRUS/ADENOVIRUS

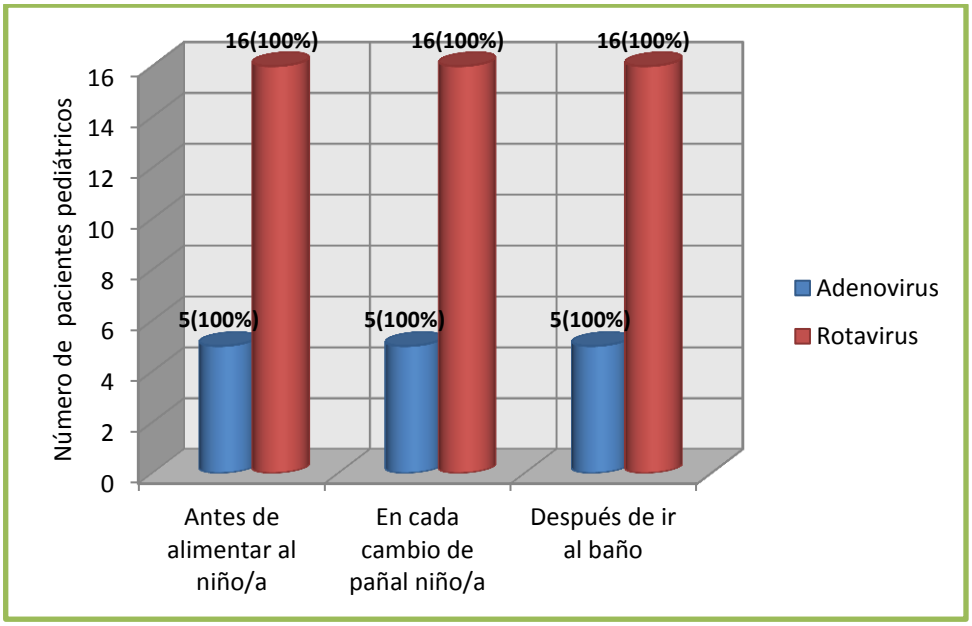


Fuente: Encuestas aplicadas.
Elaboración: M. Gabriela Ordóñez

INTERPRETACIÓN: El 50% de niños(as) afectados por rotavirus fueron cuidados por un sistema de guarderías el 31% fueron cuidados por algún familiar y en el 19% de los casos, la madre del niño(a) es quién se encarga de su cuidado. Por otro lado, el 80% de niños(as) afectados por adenovirus entérico son cuidados en guarderías y solamente el 20% de niños(as) están al cuidado de sus madres.

GRÁFICO N° 10

HÁBITOS DE HIGIENE EN LOS NIÑOS(AS) QUE PRESENTARON ROTAVIRUS/ADENOVIRUS

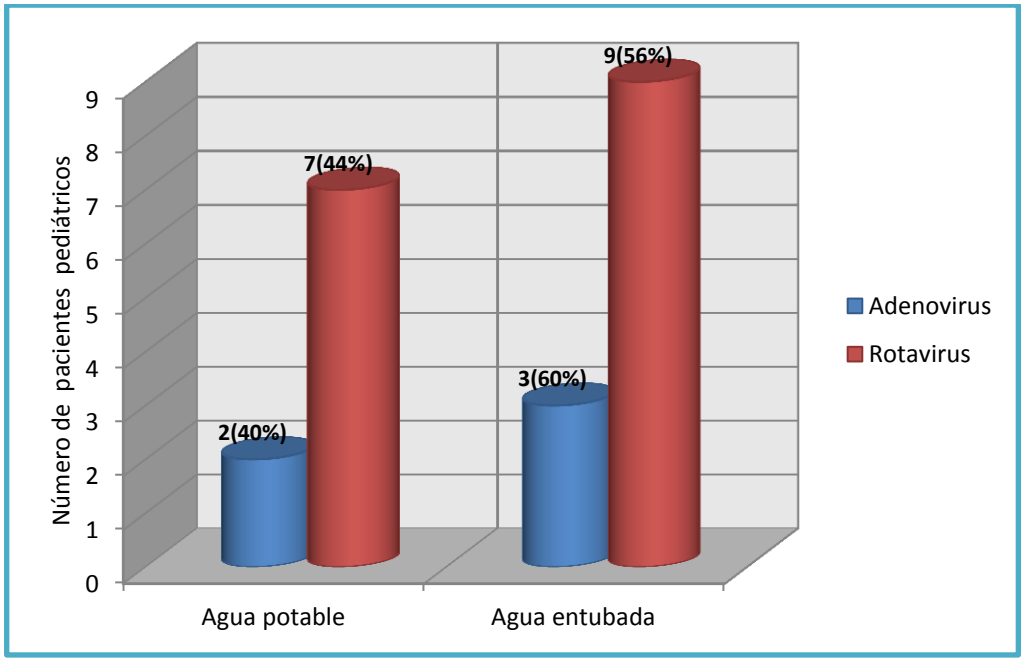


Fuente: Encuestas aplicadas.
Elaboración: M. Gabriela Ordóñez

INTERPRETACION: El 100% de las madres de los niños afectados tanto por rotavirus como por adenovirus entérico, cumplen con el lavado de manos antes y después de cambiar el pañal al niño, antes de alimentarlo y después de ir al baño; sin embargo persisten casos de niños afectados por los virus mencionados.

GRÁFICO N° 11

CONSUMO DE AGUA DE LOS NIÑOS(AS) QUE PRESENTARON ROTAVIRUS/ADENOVIRUS

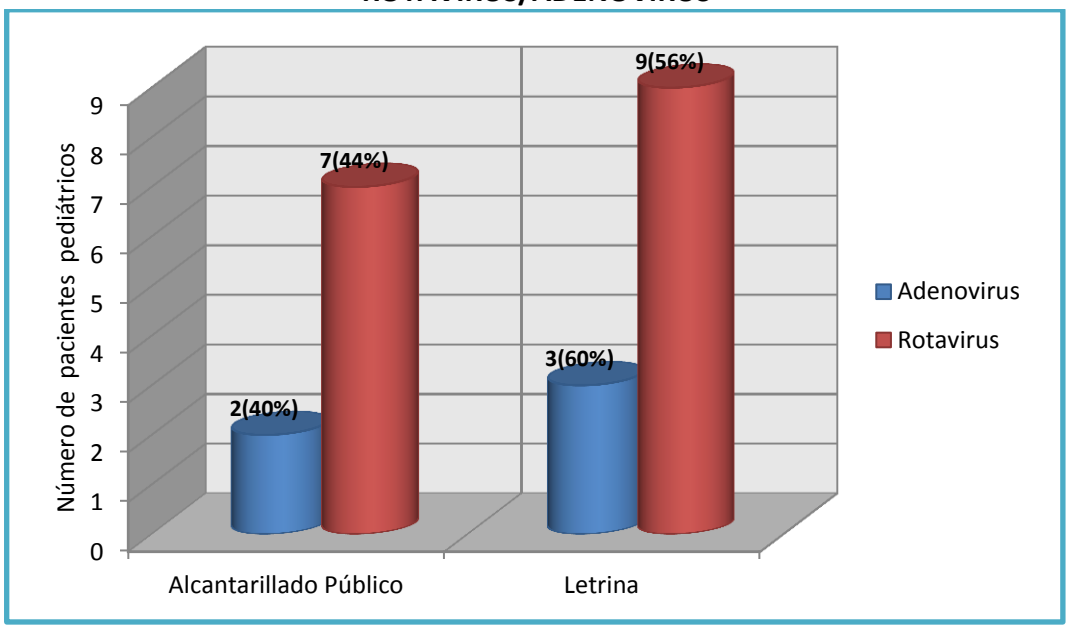


Fuente: Encuestas aplicadas.
Elaboración: M. Gabriela Ordóñez

INTERPRETACIÓN: El 56% de los casos afectados por rotavirus se abastece de agua entubada no tratada en el hogar, mientras que el 44% dispone de agua potable. De igual forma ocurre en los casos afectados con adenovirus entérico, el 60% dispone de agua entubada no tratada y el 40% dispone de agua potable para su consumo.

GRÁFICO N° 12

ELIMINACÓN DE EXCRETAS DE LOS NIÑOS(AS) QUE PRESENTARON ROTAVIRUS/ADENOVIRUS



Fuente: Encuestas aplicadas.
Elaboración: M. Gabriela Ordóñez

INTERPRETACION: El 56% de los casos de rotavirus, desecha las heces fecales a través de un sistema de letrinas, mientras que el 44% lo hace a través de la red de alcantarillado público y/o en el carro recolector de basura (pañales desechables). Igualmente en los casos de adenovirus entérico, el 60% opta por eliminar las heces fecales a través de un sistema de letrinas, mientras que el 40% dispone de alcantarillado público.

7. DISCUSIÓN

Existen diversas técnicas para detectar virus entéricos en heces; los más usuales en la práctica clínica son las técnicas inmunológicas como: *Enzimoinmunoensayo* considerado como referencia por su elevada sensibilidad y especificidad e *Inmunocromatografía* una técnica rápida de baja complejidad, no requiere instrumental especial y presenta valores de sensibilidad y especificidad muy similares a los mostrados por el EIA. [10]

Así lo demostró un estudio sobre Control de Calidad Viral realizado por la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC), el cual solicitó a 77 laboratorios la identificación del virus implicado mediante pruebas rápidas, para lo cual se envió a los laboratorios participantes una muestra de heces a la cual se le realizó previamente en un laboratorio de referencia un estudio con resultado positivo para rotavirus confirmado por RT-PCR.

Como resultado todos los laboratorios llegaron a la identificación correcta del virus implicado –rotavirus- la mayoría utilizando una técnica rápida de Inmunocromatografía, seguido de Enzimoinmunoensayo, Aglutinación látex y Secuenciación.

Para el estudio se utilizó una variedad de marcas comerciales de inmunocromatografía, predominando el VIKIA® Rota-Adeno de bioMérieux seguido del CerTest® de Biotec y de las tiras de Operon.

Adicionalmente, la mayoría de participantes realizaron, además, la detección de adenovirus, la mayoría, utilizando una prueba rápida de inmunocromatografía, siendo igualmente las marcas más usadas bioMérieux, Biotec y Operon. Todas las determinaciones frente a adenovirus, fueron negativas, excepto un laboratorio que informó un resultado positivo, utilizando los reactivos de VIKIA® bioMérieux. Lo que demuestra que la determinación rápida de rotavirus y adenovirus es muy buena a través de técnicas rápidas Inmunocromatográficas. [37]

En el presente estudio, se evaluó la inmunocromatografía del Test Combinado Rota-Adeno frente al Test Simple para Rotavirus y al Test Simple para Adenovirus todos de la marca comercial Certest® de Biotec. Se analizó separadamente los resultados obtenidos por ambas técnicas (combinada y simple) y no se encontró diferencia alguna en sus resultados, por lo cual se comprueba que el test combinado alcanza igual relevancia que el test simple; lo cual podría atribuirse al hecho de que el test inmunocromatográfico combinado al igual que el simple emplea Ac monoclonales de captura dirigidos específicamente contra epítopes de la proteínas de los rotavirus y de los adenovirus de la muestra.

Existen estudios similares que evalúan Test inmunocromatográficos Combinados Rota-Adeno de otras marcas comerciales; así, en un estudio citado por Téllez, et al., se evaluó dos equipos inmunocromatográficos VIKIA® Rota-Adeno de bioMérieux y Simple Rota-Adeno de Operon, utilizando como referencia la RT-PCR. La sensibilidad encontrada para VIKIA® Rota-Adeno fue del 100% superando las cifras halladas para Simple Rota-Adeno (98,4%). Sin embargo, la especificidad de VIKIA ®Rota-Adeno fue muy baja (24,2%) y, aunque la de Simple Rota-Adeno fue mucho mejor (84,8%), [38] tampoco alcanza los valores de los estudios citados por Bon, et al., en el cual compararon el test VIKIA® Rota-Adeno con una técnica de enzimoinmunoensayo y encontraron una sensibilidad del 92,5% y una especificidad del 100%, [39] y por un estudio citado por Hurtado M, en el cual se evaluó el método inmunocromatográfico Gastro Vir-Strip respecto a la electroforesis en gel de poliacrilamida (PAGE) encontrando una sensibilidad de 98,5 % y Especificidad de 100,0 %. [40]

Por lo tanto los Test inmunocromatográficos combinados, así como los simples, pueden ser de gran utilidad en el diagnóstico rápido de las infecciones por rotavirus y adenovirus entérico, y pueden ser aplicadas como métodos de cribado por su elevada sensibilidad, pero es recomendable que las muestras positivas sean confirmadas con un ELISA o RT-PCR, pues pueden existir variaciones importantes en ellos como falsos resultados, debido a que la cantidad de virus o antígeno podría ser demasiado pequeña, o reactividad cruzada con cualquier otro agente patógeno intestinal común (otros virus, bacterias o parásitos).

Por otro lado, se mostró una prevalencia del 16% de rotavirus en nuestra ciudad, cifra muy parecida a la registrada en un estudio realizado por estudiantes de la Universidad Técnica Particular de Loja en el cual se demostró una prevalencia de rotavirus del 16,4% en el año 2008. [41]

Lo que demuestra que el rotavirus continúa siendo causa de gastroenteritis infantil en nuestra ciudad a pesar de la campaña de prevención por parte del MSP la cual impulsa el programa ampliado de inmunizaciones (PAI) y la lactancia materna exclusiva, lo cual se atribuye a posibles causas como: esquema de vacunación incompleto o al incumplimiento del mismo, fallas en la técnica de administración de la vacuna, o al espectro de acción de la vacuna, ya que su eficacia muestra variaciones incluso entre regiones y genotipos siendo en Latinoamérica para G1 del 97%, G2P[4] del 41.4% y G3, G4 y G9 del 85% y según lo citado por OPS las cepas con mayor frecuencia en nuestra población son P[8]G9 y P[4]G2; seguidas por las cepas P[6] G4; P[8] G2; P[6] G9; P[6] G11; P[6] G12; entre otras causas diferentes como los relativos al falla en la aplicación de medidas preventivas higiénico-sanitarias por parte de los encargados del cuidado del niño, infección nosocomial, etc. [42]

En cuanto a adenovirus entérico se detectó una prevalencia significativamente baja con un 5%, índice menor al registrado en un estudio realizado en México, donde la prevalencia de los adenovirus entéricos fue de 9.9% en su mayoría lactantes. Por otro lado, al revisar la literatura encontramos que las prevalencias registradas son muy bajas; 0.8% en E.U.A, 2% en Venezuela, 3,6% en Brasil, 4.9% en China; y muy elevadas en algunos países africanos como Kenya 31,5% y Nigeria con 22.3%. [43] Es importante destacar que a nivel nacional hacen falta estudios que demuestren la presencia de adenovirus entérico en niños con GEA.

Finalmente se estableció los factores de riesgo asociados a la gastroenteritis infantil causada por rotavirus y adenovirus entérico en nuestra ciudad.

El grupo etario mayormente afectado por rotavirus y adenovirus entérico fueron niños/as de 12 a 24 meses de edad; esto se ve reflejado probablemente por la disminución de anticuerpos adquiridos de la madre por vía pasiva transplacentaria, así como por la suspensión de lactancia materna a esta edad. [19]

En cuanto al género, ambos sexos son susceptibles a la GEA por estos virus. Aunque en algunos estudios no se ha observado una diferencia significativa, otros han encontrado que la frecuencia de infección por este virus es ligeramente más elevada en los niños que en las niñas. Resultados similares se pudieron apreciar en el presente estudio donde el porcentaje de infección por rotavirus en niños estuvo 12% por encima del porcentaje en niñas, mientras que en el adenovirus entérico el porcentaje estuvo 20% por encima del mostrado por las niñas. La mayor susceptibilidad de los varones a las infecciones está ligada al cromosoma X, ya que en él se encuentran los genes responsables del control del nivel de las inmunoglobulinas M, según lo plantean Thompson y col. y Bazabe y col. [41]

El 50% de los niños que presentaron infección por rotavirus, tienen su vivienda en la zona urbano-marginal de la ciudad de Loja al igual que el adenovirus entérico con un 60%, esta realidad está asociada a las situaciones socio-económicas del entorno familiar del niño, pues establecen por un lado las condiciones sanitarias y el estado nutricional del niño y en consecuencia su capacidad de generar una respuesta inmune que limite la infección en curso, y por otro, la posibilidad de su entorno familiar de acceder a la consulta médica. Por lo tanto, según algunos estudios este hallazgo indica que el riesgo a enfermarse es mayor en las poblaciones más pobres. [44, 45]

Otro factor relevante en la presente investigación es el cuidado del infante en guarderías con posible infección concomitante en un 50% de los casos de rotavirus y 80% de los casos de adenovirus, esto se explica por la transmisión de persona a persona, a través de gotitas de saliva y de secreciones del tracto respiratorio, o cuando una persona sana toca partículas de materia fecal de una persona infectada, y sin darse cuenta las introduce sus manos en su boca, esto explica los casos esporádicos y los brotes aparecidos en centros geriátricos, residencias de militares y en guarderías.

En cuanto al tipo de lactancia, el 56% de los niños(as) infectados por rotavirus y el 60% de niños con adenovirus entérico, son alimentados con fórmula infantil, lo cual concuerda con la práctica inapropiada o ausencia de lactancia materna, siendo este otro factor predisponente, pues la lactancia materna ayuda a proteger contra infecciones por el rotavirus, según un estudios observacionales, [19] debido a que en la

leche materna además de las proteínas nutrientes también se encuentran: la IgA, IgG y IgM, cuya función es proteger las mucosas y proporcionar protección local intestinal, la lactoferrina que contribuye a la absorción del hierro en el intestino del niño, además estos niños amamantados no padecen de anemia por la concentración de este vitamineral contenido en la leche materna, IgSc o inmunoglobulina anti-rotavirus contenida en el componente secretor parece proteger contra la infección sintomática por rotavirus y recientemente se atribuido a la lactaderina una glicoproteína contenida igualmente en la leche materna, cuya función es fijar específicamente la partícula viral e inhibir su replicación y desde el punto de vista clínico la disminución o ausencia de síntomas y sus complicaciones y la rápida recuperación de los pacientes. Sin embargo, no hay evidencia de que la protección sea a más largo plazo una vez que la alimentación con lactancia materna culmina. [46-48]

8. CONCLUSIONES

- De las 100 muestras analizadas, el Test Inmunocromatográfico Combinado Rota+Adeno detectó 21 (21%) resultados positivos de los cuales 16 casos fueron de rotavirus y 5 casos de adenovirus (de ellos 3 casos presentaron ambos virus). Iguales resultados se obtuvieron mediante el Test Inmunocromatográfico Simple para Rotavirus: 16 (16%) casos positivos y mediante el Test Inmunocromatográfico Simple para Adenovirus: 5 (5%) casos positivos, por lo cual se considera que la fiabilidad de ambas pruebas es muy buena destacándose el Test Combinado por su ventaja de detectar los dos virus en un solo Test.

- La prevalencia de infección por rotavirus en nuestra ciudad fue 0,16 (16%) y de adenovirus 0,05 (5%). Cabe mencionar que 3 niños mostraron resultados positivos para ambos virus, con una prevalencia de 0,03 (3%).

- Los factores de riesgo asociados a gastroenteritis aguda causada por rotavirus y adenovirus fueron: Edad (12 a 24 meses): rotavirus 62% y adenovirus 40%, cuidados del niño(a) en guarderías: rotavirus 50% y adenovirus 80%, consumo de agua entubada no tratada: rotavirus 56% y adenovirus 60%, alimentación del niño(a) a base de fórmula infantil: rotavirus 56% y adenovirus 60% y la eliminación de heces de los niños(as) en letrinas: rotavirus 56% y adenovirus 60%.

- Finalmente, en vista de la presencia de factores de riesgo en los niños(as) que participaron en éste estudio, se llevó a cabo una propuesta educativa de prevención mediante trípticos y charlas, con el fin de alertar e impulsar medidas higiénico-sanitarias que beneficien tanto a los infantes afectados como a sus familias y a la comunidad en general, aportando con ello a la disminución de la frecuencia de diarreas agudas causadas por rotavirus y adenovirus entérico.

9. RECOMENDACIONES

- Considerar la disposición del Test inmunocromatográfico combinado Rota-Adeno, en las diferentes instituciones de salud como métodos de cribado en el diagnóstico rápido de infecciones por Rotavirus y Adenovirus.

- Considerar la importancia de la solicitud de la prueba de detección de adenovirus por parte de los pediatras en caso de sospecha de diarrea viral, lo cual ayudara a descartar o no infecciones bacterianas que eviten así la administración innecesaria de antibióticos.

- Realizar estudios de los diferentes virus causantes de diarreica aguda en la edad infantil con el propósito de tener una guía de vigilancia epidemiológica de los mismos.

- En el caso del Rotavirus se recomienda cumplir estrictamente el esquema de vacunación, y erradicar fallas en la técnica de administración de la vacuna, en la cadena de frío, en el registro de la misma, por parte del personal de salud, ya que de los casos positivos obtenidos en el presente estudio algunos de ellos ya habían recibido la vacuna antirrotavíricas.

- Continuar ejecutando campañas de prevención y capacitación en las instituciones de salud acerca de la importancia de la aplicación de medidas higiénico-sanitarias, el cumplimiento del calendario de vacunación, el uso del suero oral en la deshidratación y la lactancia materna exclusiva, con el fin de mejorar el estilo de vida de las familias y prevenir infecciones entéricas causadas por este tipo de virus.

10. BIBLIOGRAFÍA

1.- OMS. Enfermedades Diarreicas. Publicación científica. Ginebra: OMS; 2013. Publicación Técnica No. 330.

2. - WHO. New and Under-utilized Vaccines Implementation (NUVI): Rotavirus. 2011.

3.- OPS. Vigilancia Epidemiológica de Diarreas causadas por Rotavirus: Guía Práctica. Washington, D.C.: OPS; 2007. Publicación Científica y Técnica No. 623

4.- OPS. Vacunas antirrotavíricas están mejorando la salud y el bienestar de los niños al reducir considerablemente el número de casos de diarrea grave y mortal. Washington; 2011.

5.- Guía Práctica de la Organización Mundial de Gastroenterología. "Diarrea aguda en adultos y niños: una perspectiva mundial". 2012.

6.- Koneman E, et al. Diagnóstico Microbiológico. 6ta ed., Buenos Aires-Argentina: Editorial Médica Panamericana; 2008. Pág: 1294

7. - Logan, Catriona, John J. O'Leary, and Niamh O'Sullivan. Real-time reverse transcription-PCR for detection of rotavirus and adenovirus as causative agents of acute viral gastroenteritis in children. Journal of clinical microbiology; 2006. 44(9): 3189-3195.

8.- Ozdemir S, Delialioğlu N, & Emekdaş G. Investigation of rotavirus, adenovirus and astrovirus frequencies in children with acute gastroenteritis and evaluation of epidemiological features. Mikrobiyoloji bulteni; 2010. 44(4): 571-578.

9.- Ministerio de Salud Pública del Ecuador. Protocolo para la Vigilancia Epidemiológica Centinela de Diarreas Causadas por Rotavirus y de la Invaginación Intestinal. Quito: MSP-OPS/OMS Ecuador; 2007. Documentos Técnicos del Programa Ampliado de Inmunizaciones. Serie 2, Nº2.

10.- Vila J, Álvarez M, Buesa J, & Castillo J. Diagnóstico microbiológico de las infecciones gastrointestinales. Enfermedades infecciosas y microbiología clínica. SEIMC; 2011. 27(7): 406-411.

11.- Fariña N, Galeano M and Martínez M. "Sensibilidad y especificidad del método inmunocromatográfico utilizado para el diagnóstico de rotavirus." Mem. Inst. Investig. Cienc. Salud; 2008: 05-10.

12.- Hurtado M, and Mariángeles A. "Evaluación de un Método Inmunocromatográfico para la Detección de Rotavirus Humano y Adenovirus 40/41 en Heces de Niños con Síndrome Diarreico." 2012.

13. - Lee, Sook Young, et al. "Comparisons of latex agglutination, immunochromatography and enzyme immunoassay methods for the detection of rotavirus antigen." The Korean journal of laboratory medicine 27.6 (2007): 437-441.

14.- Lewith G, Odriozola B, Tarrida J, Llop L, Muriscot O, Olivé A, et al. Gran Colección de la Salud. En: Bostock L, Editora. Sistema Digestivo, Enfermedades de la Infancia. 3a ed. Barcelona: Plaza & Janés Editores S. A; 2004. Pág: 48 y 234.

15.- Costa J, Polanco I, Gonzalo C, Guía de Práctica Clínica: Gastroenteritis Aguda en el niño. Guía Multidisciplinar SEGNHP-SEIP. Madrid: C/ Arboleda; 2010. Pág: 4.

16.- Baldi F, Bianco M, Nardone G, Pilotto A, Zamparo E. Enfermedades diarreicas agudas. World J Gastroenterology; 2009. 15(27): 3341-3348

17.- Elliot E. Acute gastroenteritis in children. BMJ. Rev. Clin. 2007. 334: 35-40 Pág: 227–31.

18.- Moreira Y, López K & Paz D. Incidencia Causales de las Enfermedades Diarreicas Agudas en Niños/As Menores de 1 año de Edad que acuden al Subcentro de Salud Venus del Rio Quevedo del Área Nº2 de la Ciudad de Quevedo, Provincia De Los Ríos, Durante El Segundo Semestre del año 2012 (Doctoral Dissertation).

19.- Bellido Blasco J, García A. 6ª Monografía de la Sociedad Española de Epidemiología: Epidemiología de las gastroenteritis agudas víricas. España: EMISA; 2007.

20.- Rivero de R., Zulbey, Maldonado I., et. Prevalencia de enteroparásitos, rotavirus y adenovirus en niños aparentemente sanos. Kasmera, Maracaibo, 2009. 37(1): 62-73.

21.- Wilhelmi I, Mohedano R y Sánchez A. Rotavirus y otros virus productores de gastroenteritis aguda en la infancia. Madrid: SEIMC; 2007.

22. - Farkas T, Jiang XI. Rotaviruses, caliciviruses, astroviruses, enteric adenoviruses; and other diarrheic viruses. En: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Landry ML, et al. Manual of clinical microbiology. 9th ed. Washington: ASM Press; 2007. Pág: 999-1004.

23.- Sirok A, Le Pera v, Sandín D. Temas de Bacteriología y Virología Médica. Agentes virales de Gastroenteritis: Rotavirus. Uruguay: higiene.edu.uy; 2008. 29: 519- 525

24.- Secretaria de Salud y Subsecretaría de Prevención y Promoción de la Salud de México. Manual de Procedimientos Estandarizados para la Vigilancia Epidemiológica de la Enteritis por Rotavirus. México, Distrito Federal; 2012. Pág: 9

25.- Jawetz, Melnick y Adelberg. Microbiología Médica. 25a ed. Mcgraw-Hill Interamericana Editores S.A. de C.V; 2011. Pág: 423 – 430; 507 – 512.

26.- Romero R. Microbiología y Parasitología Humana. 3a edición. México: Editorial Medica Panamericana, S. A. de C.V.; 2007. Pág: 420 - 428.

27.- Román E. Rotavirus. En: Manual de Vacunas en Pediatría. 4ª ed. AEP; 2008. Pág: 532-548

28.- Tamayo L y Moreno B. Rotavirus. Cuad. - Hosp. Clín. 2007. 52(1): 97-106.

29.- Hernández Á, Fernández R and Menéndez T. Adenovirus. En: Microbiología y Parasitología Médicas. Tomo II. El Vedado, Ciudad de La Habana: Editorial Ciencias Médicas; 2001. 59: 65-77

30.- Murray P, Rosenthal K y Pfaller M. Capítulo 52: Adenovirus. En Patrick R. Murray. Microbiología Médica (6a edición). España: Elsevier-Mosby. Pág: 509-515.

31.- Bernaola G y Luque W. Fisiopatología de las Infecciones por Adenovirus. Paediatrica; 2002. 4(2) Pág: 41-47

32.- Romero R. Microbiología y Parasitología Humana: bases etiológicas de las enfermedades infecciosas y parasitarias. 3 ed. México: Editorial Médica Panamericana; 2007. Pág: 279

33.- Brock, D. Clínica y Diagnóstico Microbiológico. Biología de Microorganismos. Prentice Hall, 1988. New Jersey. 13: 488-489.

34.- Zinsser. Diagnóstico Viral Rápido. Microbiología. 20ed. Editorial Médica Panamericana. 1994; 62: 1249-1260.

35.- Bailey y Scott. Diagnóstico Microbiológico/Betty Forbes; Sahm D; Weissfels A. 12 ed. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana; 2009.

36.- Guillem P. Microbiología Clínica. Buenos Aires; Madrid; México: Panamericana; 2005. Pág: 161

37.- Control de Calidad Viral. SEIMC. Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. España. 2012. Disponible en Línea: http://www.seimc.org/contenidos/ccs/analisisderesultados/2012/ccs-Viro1T2012.pdf

38.- Téllez C, Montava R, Ribes J, Tirado M, Buesa J. Evaluación de dos equipos inmunocromatográficos comerciales para el diagnóstico rápido de la infección por rotavirus. Rev. Argentina. Microbiología. 2008; 40(3): 167-170. Disponible en:

http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0325-75412008000300007&lng=es.

39. - Bon F, Kaplon J, Metzger MH, Pothier P. Evaluation of seven immunochromatographic assays for the rapid detection of human rotaviruses in fecal specimens. Pathol Biol 2007; 55: 149-53

40-. Hurtado M. Evaluación de un método inmunocromatográfico para la detección de Rotavirus humano y Adenovirus 40/41 en heces de niños con síndrome diarreico [Tesis De Grado]. Cumaná: Universidad de Oriente Núcleo de Sucre Escuela de Ciencias Departamento Bioanálisis; 2012. Pág: 14

41.- Cevallos G. Identificación de patrón electroforético de rotavirus por page y tinción de plata, en niños menores de cinco años en el hospital regional “Isidro Ayora”, Loja – Ecuador. Durante el periodo julio-octubre 2005.

42.- José Pérez Linet Zdenka, Suárez Barrientos Eduardo. Enteritis Por Rotavirus Durante La Temporada Rotavírica Marzo-Julio Antes Y Después De La Implementación De La Vacuna Rotarix Centro Pediátrico Albina Patino (Cpap). Gac Med Bol. 2010; 33(1): 05-11. Disponible en:

http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1012-29662010000100002&lng=es.

43.- Luna M, Iglesias J, Bernárdez I y Rendón M. Los adenovirus como causa de gastroenteritis aguda en los niños. México: Revista Mexicana de Pediatría; 2013 Vol. 80, Núm. Pág: 98-104

44.- Romero C, Herrera B. Síndrome Diarreico Infeccioso. México, D. F. Editorial Médica Panamericana, 2002. Pág: 493-495.

45.-Sepúlveda J, Willet W, Muñoz A. Malnutrition and diarrhea. A longitudinal study among urban mexican children. México. 2002.

46.- Castillo J, et al. Lactancia materna e inmunidad: Impacto social. *MEDISAN*. 2009, vol.13, n.4. Disponible en:

<http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1029-30192009000400013&lng=es&nrm=iso>. ISSN 1029-3019.

47.- Hjelt K, Grauballe PC, Nielsen OH et al. Rotavirus antibodies in the mother and her breast – fed infant. J Pediatr Gastrenterol Nutr. 4(3):414

48.- Newburg DS, Peterson JA, Palacios GM et al. Role of human- milk lactadherin in protection against symptomatic rotavirus infection. Lancet 1998; 351 (9110):1160-4.

11. ANEXO

ANEXO 1

PERMISO

Dr. Jorge Guapulema

DIRECTOR DEL HOSPITAL REGIONAL ISIDRO AYORA

Loja.

Yo, María Gabriela Ordoñez Jiménez, con cédula N° 1105049827, egresada de la carrera de Laboratorio Clínico de la Universidad Nacional de Loja, me dirijo a usted muy cordialmente para solicitar su autorización respectiva para realizar parte del trabajo investigativo titulado: "*Estudio comparativo entre el test inmunocromatográfico simple y combinado para la detección de rotavirus y adenovirus en infantes que acuden al Hospital Regional Isidro Ayora de la ciudad de Loja"*; para el cual le solicito a Ud. concederme el permiso correspondiente para realizar las recolección de muestras de heces diarreicas de niños que acudan al laboratorio de la institución usted dirige, es necesario mencionar que las muestras serán analizadas en el Laboratorio Clínico del Área de Salud Humana de la Universidad Nacional de Loja.

Por la gentil y favorable atención que se digne dar a la presente, le antelo mis sentidos de gratitud.

Atentamente:

_____

M. Gabriela Ordoñez J.

ANEXO 2

Dr. Jorge Reyes

DIRECTOR DEL ÁREA DE SALUD HUMANA – UNL.

Ciudad.-

Yo, María Gabriela Ordoñez Jiménez, con cédula N° 1105049827, egresada de la carrera de Laboratorio Clínico – UNL, me dirijo a usted muy cordialmente para solicitar su autorización respectiva para hacer uso de las instalaciones del Laboratorio del Centro de Diagnóstico Médico, con la finalidad de realizar mi trabajo de tesis denominado: "*Estudio comparativo entre el test inmunocromatográfico simple y combinado para la detección de rotavirus y adenovirus en infantes que acuden al Hospital Regional Isidro Ayora de la ciudad de Loja.*

Por la gentil y favorable atención que se digne a dar a la presente, le antelo mis sentidos de gratitud.

Atentamente:

_____

M. Gabriela Ordoñez J.

ANEXO 3

Dr. Jorge Guapulema

DIRECTOR DEL HOSPITAL REGIONAL ISIDRO AYORA

Loja.

Yo, María Gabriela Ordoñez Jiménez, con cédula N° 1105049827, egresada de la carrera de Laboratorio Clínico de la Universidad Nacional de Loja, me dirijo a usted muy cordialmente para solicitar su autorización respectiva para acceder a las historias clínicas de los pacientes que formaron parte del estudio investigativo titulado: "*Estudio comparativo entre el test inmunocromatográfico simple y combinado para la detección de rotavirus y adenovirus en infantes que acuden al Hospital Regional Isidro Ayora de la ciudad de Loja"***;** con el fin de obtener información necesaria de los Factores de Riesgo, los mismo que se registrarán en una ficha de recolección de información para la respectiva elaboración de una lista estadística que pretende la investigación en mención.

Por la gentil y favorable atención que se digne a dar a la presente, le antelo mis sentidos de gratitud.

Atentamente:

_____

M. Gabriela Ordoñez J.

ANEXO 4

¿Qué hacer ante la Diarreica Aguda?

♦No suspender la alimentación y mantenerla de la manera habitual. En niños menores de 6 meses de edad no dejar de amamantarlo.

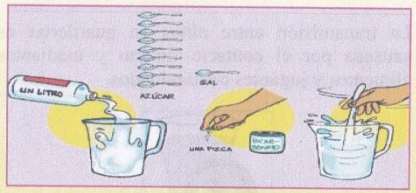
♦Aumentar el consumo de líquidos.

♦Rehidratarlo con "Suero Oral" casero o en sobres.

Preparación del Suero oral casero:

Disuelva en 1 litro de agua limpia fría:

- 8 Cucharaditas de azúcar
- 1 Cucharadita de sal
- 1 Pizca de bicarbonato



♦Un niño deshidratado puede tener graves complicaciones en poco tiempo si no es atendido rápidamente.

♦Ante los primeros síntomas del rotavirus y adenovirus lo recomendable es acudir inmediatamente al hospital, o centro de salud más cercano y mantener bien hidratado al niño.

¿Qué hacer para prevenir la Enfermedad Diarreica Aguda causada por éstos virus?

•Cumplir estrictamente el carnet de vacunación contra el Rotavirus.

•Mantener la higiene en el hogar, vigilar el buen manejo de los desechos, lavar bien los muebles del sanitario y desinfectarlos con cloro.

•Lavarse las manos antes de alimentar al niño, después de ir al baño y después de cada cambio de pañal.

•Después del cambio, envolver los pañales y colocarlos en una funda plástica amarrada, y tirar inmediatamente en botes que se mantengan cerrados y alejados de los alimentos.

•Evitar el contacto de los niños de corta edad con personas con diarrea viral.

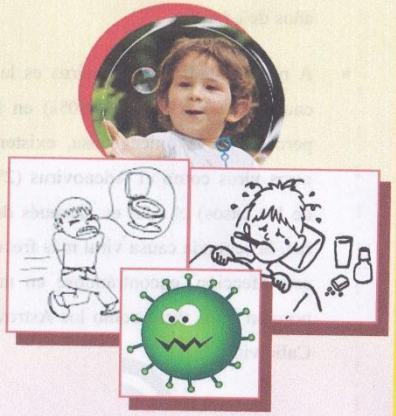
•Lavar bien las manos de los niños después de ir al baño y de jugar y antes de comer.

•Consumir agua hervida, lavar bien las frutas-verduras y evitar el contacto de los alimentos con insectos.

•En lo posible, alimentar al niño con leche materna en sus primeros 6 meses como mínimo, lo cual ayuda a incrementar sus defensas.

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA
ÁREA DE LA SALUD HUMANA
LABORATORIO CLÍNICO

GASTROENTERITIS AGUDA CAUSADA POR ROTAVIRUS Y ADENOVIRUS ENTÉRICO



LOJA – ECUADOR

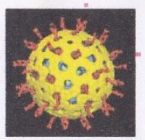
2013

¿Qué Gastroenteritis Aguda?

Consiste en un aumento en el número de deposiciones (más de dos) y/o una disminución en su consistencia (líquidas), en un periodo de 24 horas. El término agudo viene dado de ser un proceso autolimitado, con una duración menor de 2 semanas.

* La GEA constituye una de las principales causas de morbilidad y mortalidad en la infancia, mayormente en los niños menores de 5 años de edad.

* A nivel mundial el Rotavirus es la principal causa de GEA (50% al 80%) en los niños; pero no es la única causa, existen también otros virus como el Adenovirus (2% al 22% de los casos) el cual es, después del Rotavirus, la segunda causa viral más frecuente para esta afección, encontrándose en menor proporción otros virus como los Astrovirus y los Calicivirus.



¿Qué son los Rotavirus y Adenovirus Entéricos?

Son virus que infectan y dañan las células que recubren el intestino delgado causando diarrea y deshidratación en niños (as) pequeños.

Síntomas

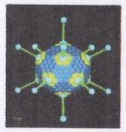
Aparecen de 1 a 3 días después de contraer la infección, abarcan:

♦Fiebre

♦Náusea, vómito y dolor abdominal

♦Diarrea liquida que usualmente comienza de 1 a 2 días después de la fiebre y el vómito. Puede durar entre 3 y 8 días.

Formas de Contagio



♦ Los virus Rotavirus y Adenovirus se transmiten principalmente por vía fecal-oral.

♦ Al ingerir agua o alimentos contaminados con heces de una persona infectada, o que no han sido preparados bajo normas sanitarias.

♦ A través del contacto con manos contaminadas, superficies y objetos en los que perdura el virus (un pañal, un juguete, ropa de cama, etc.). Estos virus son altamente infecciosos y muy estables en el medio ambiente, pueden vivir horas incluso días en superficies sólidas.

♦ A través de gotitas de saliva y de secreciones del tracto respiratorio.

♦ La transmisión entre niños en guarderías es causada por el contacto directo y mediantes alimentos y juguetes contaminados.

Nota: Las heces de una persona infectada pueden contener más de 10 billones de partículas infecciosas por gramo; resultando suficientes menos de 100 de estas partículas para infectar a otra persona.

ANEXO 5

Indicaciones para la Recolección de la muestra de Heces Diarreica

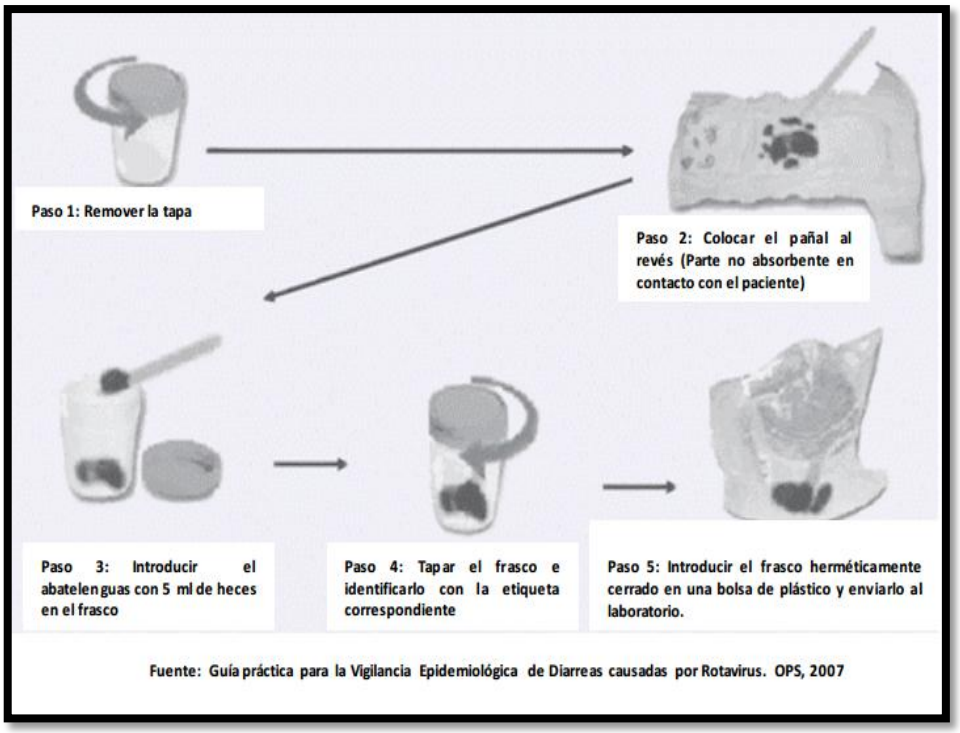
Obtener la muestra de heces preferiblemente en los primeros días de diarrea.

Esperar que se produzca la deposición en un pañal descartable puesto al revés para que no se absorba, con la ayuda de un bajalengua estéril, recolectar de 5 a 10 ml. de heces fecales (aproximadamente, un pulgar).

Una vez recolectada la muestra de heces, colocarla en un recipiente estéril de tapa rosca debidamente identificado con el nombre del niño(a) y fecha de la toma de muestra.

Introducir el frasco en una bolsa plástica individual, para evitar el derrame accidental de la muestra.

Enviar al laboratorio lo antes posible después de obtenida la muestra.



ANEXO 6

CONSENTIMIENTO INFORMADO

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA

ÁREA DE LA SALUD HUMANA

CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO

Estimada Sr(a). padre o madre de familia me dirijo a usted en la forma más comedida, con el fin de que me conceda la autorización para la realización de un examen a su hijo(a) el cual se basa en la detección de rotavirus y adenovirus en muestras de heces niños(as) con diarrea aguda; el procedimiento consiste en la toma habitual de muestra de heces en un recipiente recolector común estéril, una vez obtenida la muestra ésta será debidamente identificada y se lo llevará al Laboratorio del Centro de Diagnóstico de la Universidad Nacional de Loja para ejecutar el mencionado análisis.

Una vez explicada de formar clara y sencilla los procedimientos diagnósticos a realizar y una vez habiendo entendido la información brindada en caso de estar de acuerdo, le pedimos llenar la siguiente autorización.

Yo: ……..…; portadora de la Cédula de Identidad N◦ ……..; representante legal del niño(a): ……..; autorizo efectuar el análisis de heces para formar parte de la investigación respectiva.

_____

Firma y N◦ de Cedula

ANEXO 7

ENCUESTA

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA

ÁREA DE LA SALUD HUMANA

CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO

Estimado(a) Sr(a) para realizar la presente investigación requiero de su colaboración con el propósito de obtener datos necesarios para efectuar de forma óptima el mismo, para lo cual le ruego muy comedidamente responder con franqueza la siguiente encuesta referida a su hijo(a), ya que de ello dependen los resultados de la investigación los cuales se verán reflejados en este estudio.

DATOS GENEREALES

Edad: ……

Sexo: …….

Indique cuál de los siguientes síntomas padece el niño(a):

Diarrea ( )
Vómitos ( )
Dolor Abdominal ( )
Fiebre ( )

Procedencia del niño(a):

Rural ( )
Urbano - Marginal ( )
Urbana ( )

¿Qué tipo de leche que consume el niño(a)?

Leche comercial ( )
Fórmula infantil ( )
Leche materna ( )
Otros ( )

¿Cuál es la procedencia de los alimentos que consumió el niño(a) 3 días antes de la infección?

Preparados en la calle ( )
Preparados en casa ( )
Preparados en la guardería ( )
Ninguno ( )

Habitualmente el cuidado del niño(a) está a cargo de:

Madre ( )
Familiar ( )
Amigo(a) ( )
Guardería ( )

Lavado de manos antes y después de cambiar el pañal al niño:

Si ( ) No ( )

Lavado de manos antes de alimentar al niño:

Si ( ) No ( )

Lavado después de ir al baño:

Si ( ) No ( )

El abastecimiento de agua en casa es:

Agua potable ( )
Agua entubada ( )
Agua de quebrada ( )

Las heces fecales del niño(a) son eliminadas en:

Al aire libre ( )
Letrina ( )
Pozo séptico ( )
Alcantarillado Público – carro recolector ( )

¿Actualmente el niño(a) se encuentra con tratamiento médico?

Si ( ) No ( )
Indique cual: _____

¡GRACIAS POR SU COLABORACIÓN!

ANEXO 8

CERTEST ROTAVIRUS-ADENOVIRUS
Prueba de un solo paso en cassette para la detección de Rotavirus-Adenovirus en heces

USO PREVISTO

CerTest Rotavirus-Adenovirus es una prueba inmunocromatográfica de un solo paso para la detección cualitativa de Rotavirus y/o Adenovirus en heces.

INTRODUCCIÓN

Adenovirus y Rotavirus son las causas más frecuentes de gastroenteritis en niños y jóvenes, también se ha observado en adultos. Estos virus se transmiten por contacto feco-oral. Los principales síntomas de gastroenteritis vírica son diarrea acuosa y vómitos. También puede presentarse con dolores de cabeza, fiebre y dolor de estómago. Por lo general los síntomas comienzan 1 ó 2 días después de infectarse y pueden durar desde 1 hasta 10 días, dependiendo del virus causante de la enfermedad (3 días para Rotavirus y 5-8 para Adenovirus).

FUNDAMENTO DEL TEST

CerTest Rotavirus-Adenovirus es una prueba cualitativa inmunocromatográfica para la determinación de Rotavirus y Adenovirus en muestras de heces. En la membrana de la zona de resultados del test previamente se fijaron anticuerpos monoclonales de ratón contra antígenos virales. Durante la prueba, la muestra reacciona con los conjugados coloreados (anticuerpos monoclonales de ratón anti-rotavirus-microesferas rojas y anticuerpos monoclonales de ratón anti-adenovirus-microesferas azules) previamente secados en la membrana del test. La muestra con las partículas coloreadas avanza por capilaridad a través de la membrana del test.
Para un resultado positivo de Rotavirus y/o Adenovirus los anticuerpos específicos presentes en la membrana capturarán las partículas coloreadas con antígenos. Pueden aparecer diferentes líneas de color en la zona de resultados dependiendo del virus presente en la muestra. Estas líneas se usan para interpretar los resultados de la prueba.
Este conjugado continua su recorrido por la membrana hacia los anticuerpos inmovilizados en la zona de control del test, siempre tiene que aparecer una línea VERDE (línea de control). La presencia de esta línea VERDE sirve 1) para verificar que el volumen de muestra añadido ha sido suficiente, 2) que el flujo ha sido apropiado;3) y como control interno de los reactivos.

CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO

El producto debe ser almacenado entre 2 y 30° C en su envase original sellado, para conseguir un óptimo funcionamiento hasta la fecha de caducidad impresa en la etiqueta. No debe abrirse hasta el momento de su uso. No congelar.

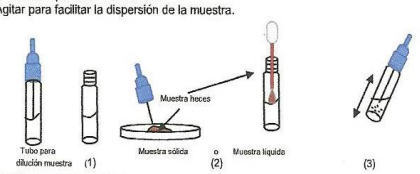
PRECAUCIONES

- Sólo para uso profesional in vitro.
- No usar después de la fecha de caducidad.
- Las muestras se deben considerar potencialmente peligrosas y deben ser manipuladas de la misma forma que a un agente infeccioso.
- Los tests usados deben ser gestionados como residuos sanitarios (contenedor de residuos sanitarios).

RECOGIDA DE MUESTRAS Y PREPARACIÓN

Las muestras deben ser recogidas en un recipiente limpio y la prueba debe realizarse lo más pronto posible después de la recogida. Las muestras se deben conservar en frío (sólo 1 ó 2 días a 2-4 ºC) hasta el momento de utilizarlas. Para conservar las muestras durante un tiempo prolongado, como máximo 1 año, deben mantenerse congeladas a –20 ºC. La muestra debe descongelarse totalmente y alcanzar la temperatura ambiente para poder utilizarla en la prueba.

Preparación de la muestra (ver dibujo):
- (1) Abrir el tubo para dilución de muestra.
- (2) Con ayuda del palito se toma una muestra de las heces recogidas. Para ello se pasa el palito por la muestra recogiendo una pequeña cantidad de heces (aprox. 100mg), si la muestra fuera líquida se tomarán 100 µL de la misma con una pipeta. Se introduce el palito en el tampón cerrando el tubo.
- (3) Agitar para facilitar la dispersión de la muestra.



MATERIALES SUMINISTRADOS

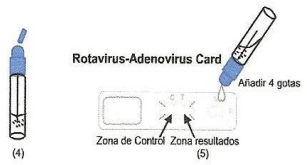
- Card test (CerTest Rotavirus-Adenovirus card)
- Instrucciones de uso
- Tubos de dilución de muestras con tampón de extracción

MATERIALES NECESARIOS PERO NO SUMINISTRADOS

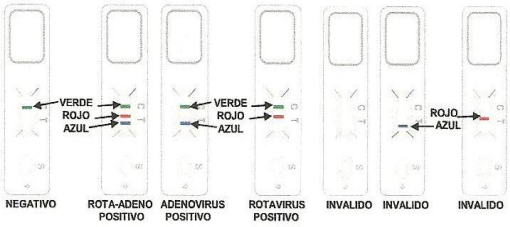
- Recipiente para la recogida de muestra de heces
- Guantes desechables
- Cronómetro

PROCEDIMIENTO

Previamente el dispositivo, las muestras de heces y los controles se deben acondicionar a la temperatura ambiente (15-30ºC). No abrir el envase hasta el momento de la prueba.
1. Agitar el tubo de dilución de la muestra para asegurar una buena dispersión. Cortar la punta del tapón (4).
2. Sacar el dispositivo de reacción CerTest Rotavirus-Adenovirus card de su envase para utilizarlo inmediatamente.
3. Para cada muestra o control se debe usar un tubo de dilución de la muestra y un dispositivo diferente. Tomar 4 gotas o 100 µL del líquido y depositarlas en la ventana circular marcada con una flecha o una S en el dispositivo (5).
4. Leer el resultado a los **10 minutos** (las líneas coloreadas aparecen).



INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS



NEGATIVO: Una sola línea de color VERDE aparece en la ventana central del dispositivo de reacción, en la zona marcada con la letra C (línea de control).

ROTAVIRUS POSITIVO: Además de la línea de control VERDE, también aparece una línea ROJA (línea de resultado de Rotavirus) en la zona marcada con la letra T (zona de resultado).

ADENOVIRUS POSITIVO: Además de la línea de control VERDE, también aparece una línea AZUL (línea de resultado de Adenovirus) en la zona marcada con la letra T (zona de resultado).

ROTAVIRUS-ADENOVIRUS POSITIVO: Todas las líneas anteriores aparecen al mismo tiempo durante la prueba debido a una infección simultánea de Rotavirus y Adenovirus. Se vería una línea VERDE en la zona de control y una línea ROJA y una AZUL en la zona de resultado.

INVÁLIDO: Cuando la línea de control (VERDE) no aparece independientemente de que aparezca o no una o las dos líneas de resultado (ROJA y/o AZUL). Las causas más comunes por las que puede aparecer un resultado inválido son: una cantidad insuficiente de muestra, una forma de proceder incorrecta o un deterioro de los reactivos. Si ocurriera esto, debe revisarse el procedimiento y repetir la prueba con un nuevo dispositivo de reacción. Si persistiese el problema, debe contactar con su proveedor y dejar de utilizar la prueba.

OBSERVACIONES

La intensidad de la/s línea/s roja y/o azul en la zona de resultados puede variar dependiendo de la concentración de antígenos presentes en la muestra. Sin embargo, esta prueba es cualitativa por lo que, ni la cantidad ni la tasa de aumento de antígenos puede ser determinada por la misma.

CONTROL DE CALIDAD

El control interno de funcionamiento viene incluido en la prueba. La línea verde que aparece en la zona de control (C) es el control interno del proceso, comprobando que el volumen de muestra es suficiente y que el procedimiento seguido ha sido el adecuado.

LIMITACIONES

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 de color pardo que no tienen ningún valor diagnóstico.
3. Después de una semana de infección la presencia de virus eliminados en heces disminuye considerablemente por lo que es probable una menor concentración en la muestra. Se debe tomar la muestra de heces dentro de la primera semana de aparición de los síntomas.
4. Esta prueba diagnostica una posible infección de Rotavirus y/o Adenovirus, situación que debe confirmarse por un especialista o médico cualificado, teniendo en cuenta las pruebas clínicas y de laboratorio evaluadas.

VALORES PREVISTOS

Se esperan resultados negativos en niños y jóvenes sanos, así como en adultos libres de infección.

CARACTERÍSTICAS DEL TEST

Se han realizado estudios y evaluaciones para comparar la eficacia del test. CerTest Rotavirus-Adenovirus se evaluó en paralelo con un test rápido del mercado para detección de Rotavirus y Adenovirus.
Sensibilidad
La detección de Rotavirus presenta >99% de concordancia en sensibilidad.
La detección de Adenovirus presenta >99% de concordancia en sensibilidad.
Especificidad
La detección de Rotavirus presenta un 98% de concordancia en especificidad.
La detección de Adenovirus presenta >99% de concordancia en especificidad.
El uso de anticuerpos monoclonales de ratón en el diseño de CerTest Rotavirus-Adenovirus asegura un alto grado de especificidad para la detección de estos virus.

BIBLIOGRAFÍA

1. CUKOR G., and BLACKLOW N. R., "Human Viral Gastroenteritis", *Microbiological Reviews*, Vol. 48 No 2, June 1984, pp. 157-179
2. ESTES, M. K. and COHEN, J.; "Rotavirus Gene Structure and Function", Microbiological Reviews, Vol. 53 No 4, Dec. 1989, pp. 410-449
3. PAI C. H., SHAHRABADI M. S., and INCE B., "Rapid Diagnosis of Rotavirus Gastroenteritis by a Commercial Latex Agglutination Test", Journal of Clinical Microbiology, Vol. 22 No 5, Nov. 1985, pp. 846-850
4. CUKOR, G.,PERRON, D.M., and BLACKLOW, N. R.: "Detection of Rotavirus in Human Stools by Using Monoclonal Antibody", Journal of Clinical Microbiology, Vol. 19, 888-892

SÍMBOLOS PARA REACTIVOS Y PRODUCTOS PARA DIAGNÓSTICO *IN VITRO*

IVD	Producto para diagnóstico *in vitro*	LOT	Número de lote
	Consultar las instrucciones de uso	REF	Número de referencia
	Almacenar en lugar seco	Σ	Contiene <n> test
	Limitación de temperatura		Fabricante
	Fecha de caducidad	DIL	Tampón de extracción

CerTest BIOTEC S.L.
C/María de Luna 11, nave 16
E-50018 Zaragoza (SPAIN)
www.certest.es

Diciembre 2009. Revisión: 02
IU-X8FV rev 02

ANEXO 9

CERTEST ROTAVIRUS

Test de un solo paso en Blister
para la detección de Rotavirus en heces

USO PREVISTO

CerTest Rotavirus es una prueba inmunocromatográfica de un solo paso para la detección cualitativa de Rotavirus en heces.

INTRODUCCIÓN

Rotavirus es una de las causas más frecuente de gastroenteritis en niños y jóvenes, también se ha observado en adultos. Este virus se transmite por contacto feco-oral. Los principales síntomas de esta gastroenteritis vírica son diarrea acuosa y vómitos. También puede presentarse con dolores de cabeza, fiebre y dolor de estómago. Por lo general los síntomas comienzan 1 ó 2 días después de infectarse y pueden durar 3 días.

FUNDAMENTO DEL TEST

CerTest Rotavirus es una prueba cualitativa inmunocromatográfica para la determinación de Rotavirus en muestras de heces. Durante la prueba, la muestra reacciona con los conjugados coloreados (anticuerpos monoclonales de ratón anti-Rotavirus-microesferas rojas) previamente secados en el test. Este complejo avanza por capilaridad a través de la membrana del test. Para dar el resultado como positivo, una línea de color ROJO aparecerá en la zona de resultado de la membrana. La ausencia de esta línea 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 línea de color VERDE (línea de control). La aparición de esta línea se utiliza: 1) para verificar que se ha añadido el volumen de muestra suficiente y 2) que el flujo ha sido el apropiado; y 3) como control interno de los reactivos.

CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO

El producto debe ser almacenado entre 2 y 30° C en su envase original sellado (blister), para conseguir un óptimo funcionamiento hasta la fecha de caducidad impresa en cada blister. No debe abrirse hasta el momento de su uso. No congelar.

PRECAUCIONES

- Sólo para uso profesional in vitro.
- No utilizar después de la fecha de caducidad.
- Las muestras se deben considerar potencialmente peligrosas y deben ser manipuladas de la misma forma que a un agente infeccioso.
- Los test usados deben ser gestionados como residuos sanitarios (contenedor de residuos sanitarios).

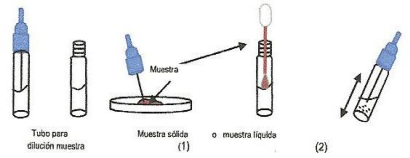
RECOGIDA DE MUESTRAS Y PREPARACIÓN

Las muestras deben ser recogidas en un recipiente limpio y la prueba debe realizarse lo más pronto posible después de la recogida. Las muestras se deben conservar en frío (sólo 1 ó 2 días a 2-4° C) hasta el momento de utilizarlas. Para conservar las muestras durante un tiempo prolongado, como máximo 1 año, deben mantenerse congeladas a –20° C. La muestra debe descongelarse totalmente y alcanzar la temperatura ambiente para poder utilizarla en la prueba.

Preparación de la muestra (ver dibujo):

(1) Desenroscar el tape y con ayuda del palito se toma una muestra de las heces recogidas. Para ello se pasa el palito por la muestra recogiendo una pequeña cantidad de heces, si la muestra fuera líquida se tomarán 100 µL de la misma con una pipeta, introducir la muestra en el tubo para dilución.

(2) Cerrar el tubo que contiene la muestra y el diluyente. Agitar para facilitar la dispersión de la muestra.



MATERIALES SUMINISTRADOS

- CerTest Rotavirus blister tests
- Instrucciones de uso
- Tubos de dilución de muestras con tampón de extracción

MATERIALES NECESARIOS-NO SUMINISTRADOS

- Recipiente para la recogida de la muestra de heces
- Tubos de ensayo o viales
- Guantes desechables
- Cronómetro

PROCEDIMIENTO

Previamente los tests, las muestras de heces y los controles se deben acondicionar a la temperatura ambiente (15-30 ° C). No abrir el envase hasta el momento de la prueba. Antes de abrir el blister, conviene acondicionar sólo el número de tests que se vayan a utilizar.Existen dos posibilidades para usar el test:

A) Utilizando el envase individual como test de Tarjeta o Cassette test:

1. Cada pocillo del blister contiene un test. Se corta el blister para obtener cada test en un envase individual (cada test está envasado de manera independiente a los demás). Para abrir este envase se coge el extremo no sellado de la lámina superior y se tira de él hasta que se vea el test completamente, éste debe usarse en el tiempo más corto posible. No sacarlo de su pocillo (identificar uno a uno los pocillos del blister según la muestra de heces utilizada).

2. Agitar el tubo de dilución de la muestra para asegurar una buena dispersión. Cortar la punta del tapón (3).

3. Colocar cada envase individual con el test sobre una superficie horizontal. (4) Añadir 5 gotas o 150 µL de la muestra diluida en la zona blanca del extremo del test. **Leer el resultado a los 10 minutos.**

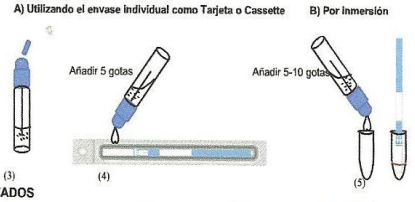
B) Utilizando el Blister Test como Strip test: Procedimiento por inmersión:

1. Se corta el blister para obtener cada test en un envase individual (cada test está envasado de manera independiente a los demás). Para abrir este envase se coge el extremo no sellado de la lámina superior y se tira de él hasta que se pueda extraer totalmente el test sin riesgo de dañarlo, éste debe usarse en el tiempo más corto posible.

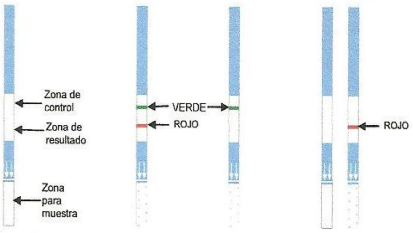
2. Agitar el tubo de dilución de la muestra para asegurar una buena dispersión. Cortar la punta del tapón (3).

3. Añadir 5-10 gotas en un tubo de ensayo o vial e introducir el test verticalmente de forma que la parte blanca contacte con la muestra (5). No sobrepasar el límite de inmersión marcado con las flechas. **Leer el resultado a los 10 minutos**.

Dependiendo de la concentración de Rotavirus, un resultado positivo se puede observar a partir de los 3 minutos. Sin embargo, para confirmar un resultado final, se debe esperar 10 minutos.



RESULTADOS



Certest Rotavirus ***POSITIVO*** ***NEGATIVO*** ***INVALIDO***

NEGATIVO: Una sola línea de color VERDE (línea de control) aparece en la parte central del test (zona de control).

POSITIVO: Además de la línea de control VERDE, también aparece una línea ROJO en la zona de resultado (línea de resultado).

INVÁLIDO: Cuando la línea de control (VERDE) no aparece independientemente de que aparezca o no la línea de resultado (ROJO). Las causas más comunes por las que puede aparecer un resultado inválido son: una cantidad insuficiente de muestra, una forma de proceder incorrecta o un deterioro de los reactivos. Si ocurriera esto, debe revisarse el procedimiento y repetir la prueba con un nuevo test. Si persistiese el problema, debe contactar con su proveedor y dejar de utilizar la prueba.

OBSERVACIONES

La intensidad de la línea de color rojo en la zona de resultado del test variará dependiendo de la concentración de Rotavirus presente en la muestra. Sin embargo, esta prueba es cualitativa, por lo que, ni la cantidad ni la tasa de aumento de Rotavirus pueden ser determinados por la misma.

CONTROL DE CALIDAD

El control interno de funcionamiento viene incluido en la prueba. La línea verde que aparece en la zona de control es el control interno del proceso, comprobando que el volumen de muestra es suficiente y que el procedimiento seguido ha sido el adecuado.

LIMITACIONES

1. Una vez abierto el envase individual el test no debe usarse después de 2 horas.
2. Un exceso de muestra puede dar resultados negativos, dando líneas no muy definidas de color pardo que no tienen ningún valor diagnóstico. Repetir el ensayo.
3. Después de una semana de infección la presencia de virus eliminados en heces disminuye considerablemente por lo que es probable una menor concentración en la muestra. Se debe tomar la muestra de heces dentro de la primera semana de aparición de los síntomas.
4. Esta prueba diagnostica una posible infección de Rotavirus, situación que debe confirmarse por un especialista o médico cualificado, teniendo en cuenta las pruebas clínicas y de laboratorio evaluadas.

VALORES PREVISTOS

Se esperan resultados negativos en niños y jóvenes sanos, así como en adultos libres de infección.

CARACTERÍSTICAS DEL TEST

Se han realizado estudios y evaluaciones para comparar la eficacia del test. CerTest Rotavirus se evaluó en paralelo con un test rápido del mercado para detección de Rotavirus.

Sensibilidad

La detección de Rotavirus presenta >99% de concordancia en sensibilidad.

Especificidad

La detección de Rotavirus presenta un 98% de concordancia en especificidad.

El uso de anticuerpos monoclonales de ratón en el diseño de CerTest Rotavirus blister test asegura un alto grado de especificidad para la detección de Rotavirus.

BIBLIOGRAFÍA

1. CUKOR G., and BLACKLOW N. R., "Human Viral Gastroenteritis", *Microbiological Reviews*, Vol. 48 No 2, June 1984, pp. 157-179
2. ESTES, M. K. and COHEN, J.; "Rotavirus Gene Structure and Function", *Microbiological Reviews*, Vol. 53 No 4, Dec. 1989, pp. 410-449
3. PAI C. H., SHAHRABADI M. S., and INCE B., "Rapid Diagnosis of Rotavirus Gastroenteritis by a Commercial Latex Agglutination Test", Journal of Clinical Microbiology, Vol. 22 No 5, Nov. 1985, pp. 846-850
4. CUKOR, G.,PERRON, D.M., and BLACKLOW, N. R.: "Detection of Rotavirus in Human Stools by Using Monoclonal Antibody", Journal of Clinical Microbiology, Vol. 19, 888-892

SÍMBOLOS PARA REACTIVOS Y PRODUCTOS PARA DIAGNÓSTICO *IN VITRO*

IVD	Producto para diagnóstico *in vitro*	LOT	Número de lote
	Consultar las instrucciones de uso	REF	Número de referencia
	Almacenar en lugar seco	Σ	Contiene <n> test
	Limitación de temperatura		Fabricante
	Fecha de caducidad	DIL	Diluyente para muestra/tampón

CerTest BIOTEC S.L.
C/María de Luna 11, nave 16
E-50018 Zaragoza (SPAIN)
www.certest.es

Diciembre 2009. Revision: 02
IU-R7FV rev 02

ANEXO 10

CERTEST ADENOVIRUS

Test de un solo paso en Blister
para la detección de Adenovirus en heces

USO PREVISTO

CerTest Adenovirus es una prueba inmunocromatográfica de un solo paso para la detección cualitativa de Adenovirus en heces.

INTRODUCCIÓN

Adenovirus es una de las causas más frecuente de gastroenteritis en niños y jóvenes, también se ha observado en adultos. Este virus se transmite por contacto feco-oral. Los principales síntomas de esta gastroenteritis vírica son diarrea acuosa y vómitos. También puede presentarse con dolores de cabeza, fiebre y dolor de estómago. Por lo general los síntomas comienzan 1 ó 2 días después de infectarse y pueden durar 5-8 días.

FUNDAMENTO DEL TEST

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

CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO

El producto debe ser almacenado entre 2 y 30º C en su envase original sellado (blister), para conseguir un óptimo funcionamiento hasta la fecha de caducidad impresa en cada blister. No debe abrirse hasta el momento de su uso. No congelar.

PRECAUCIONES

- Sólo para uso profesional *in vitro*.
- No utilizar después de la fecha de caducidad.
- Las muestras se deben considerar potencialmente peligrosas y deben ser manipuladas de la misma forma que a un agente infeccioso.
- Los test usados deben ser gestionados como residuos sanitarios (contenedor de residuos sanitarios).

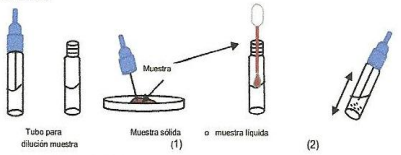
RECOGIDA DE MUESTRAS Y PREPARACIÓN

Las muestras deben ser recogidas en un recipiente limpio y la prueba debe realizarse lo más pronto posible después de la recogida. Las muestras se deben conservar en frío (sólo 1 ó 2 días a 2-4º C) hasta el momento de utilizarlas. Para conservar las muestras durante un tiempo prolongado, como máximo 1 año, deben mantenerse congeladas a –20ºC. La muestra debe descongelarse totalmente y alcanzar la temperatura ambiente para poder utilizarla en la prueba.

Preparación de la muestra (ver dibujo):

(1) Desenroscar el tape y con ayuda del palito se toma una muestra de las heces recogidas. Para ello se pasa el palito por la muestra recogiendo una pequeña cantidad de heces, si la muestra fuera líquida se tomarán 100 µL de la misma con una pipeta, introducir la muestra en el tubo para dilución.

(2) Cerrar el tubo que contiene la muestra y el diluyente. Agitar para facilitar la dispersión de la muestra.



MATERIALES SUMINISTRADOS

- CerTest Adenovirus blister tests
- Instrucciones de uso
- Tubos de dilución de muestras con tampón de extracción

MATERIALES NECESARIOS-NO SUMINISTRADOS

- Recipiente para la recogida de la muestra de heces
- Tubos de ensayo o viales
- Guantes desechables
- Cronómetro

PROCEDIMIENTO

Previamente los tests, las muestras de heces y los controles se deben acondicionar a la temperatura ambiente (15-30 ° C). No abrir el envase hasta el momento de la prueba. Antes de abrir el blister, conviene acondicionar sólo el número de tests que se vayan a utilizar.

Existen dos posibilidades para usar el test:

A) Utilizando el envase individual como test de Tarjeta o Cassette test:

1. Cada pocillo del blister contiene un test. Se corta el blister para obtener cada test en un envase individual (cada test está envasado de manera independiente a los demás). Para abrir este envase se coge el extremo no sellado de la lámina superior y se tira de él hasta que se vea el test completamente, éste debe usarse en el tiempo más corto posible. No sacarla de su pocillo (identificar uno a uno los pocillos del blister según la muestra de heces utilizada).

2. Agitar el tubo de dilución de la muestra para asegurar una buena dispersión. Cortar la punta del tapón violeta (3).

3. Colocar cada envase individual con el test sobre una superficie horizontal. (4) Añadir 5 gotas o 150 µL de la muestra diluida en la zona blanca del extremo del test. **Leer el resultado a los 10 minutos.**

B) Utilizando el Blister Test como Strip test: Procedimiento por inmersión:

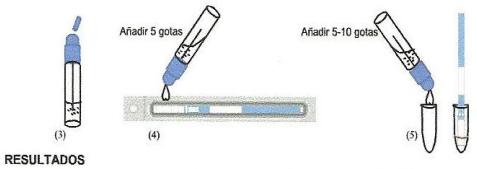
1. Se corta el blister para obtener cada test en un envase individual (cada test está envasado de manera independiente a los demás). Para abrir este envase se coge el extremo no sellado de la lámina superior y se tira de él hasta que se pueda extraer totalmente el test sin riesgo de dañarlo, éste debe usarse en el tiempo más corto posible.

2. Agitar el tubo de dilución de la muestra para asegurar una buena dispersión. Cortar la punta del tapón violeta (3).

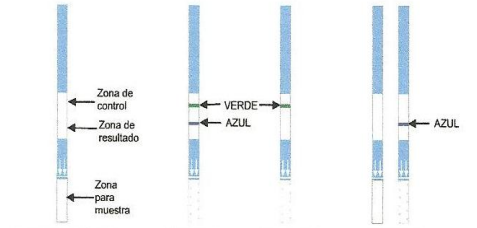
3. Añadir 5-10 gotas en un tubo de ensayo o vial e introducir el test verticalmente de forma que la parte blanca contacte con la muestra (5). No sobrepasar el límite de inmersión marcado con las flechas. **Leer el resultado a los 10 minutos.**

Dependiendo de la concentración de Adenovirus, un resultado positivo se puede observar a partir de los 3 minutos. Sin embargo, para confirmar un resultado final, se debe esperar 10 minutos.

A) Utilizando el envase individual como Tarjeta o Cassette **B) Por inmersión**



RESULTADOS



Certest Adeno Test ***POSITIVO*** ***NEGATIVO*** ***INVALIDO***

NEGATIVO: Una sola línea de color VERDE (línea de control) aparece en la parte central del test (zona de control).

POSITIVO: Además de la línea de control VERDE, también aparece una línea AZUL en la zona de resultado (línea de resultado).

INVÁLIDO: Cuando la línea de control (VERDE) no aparece independientemente de que aparezca o no la línea de resultado (AZUL). Las causas más comunes por las que puede aparecer un resultado inválido son: una cantidad insuficiente de muestra, una forma de proceder incorrecta o un deterioro de los reactivos. Si ocurriera esto, debe revisarse el procedimiento y repetir la prueba con un nuevo test. Si persistiese el problema, debe contactar con su proveedor y dejar de utilizar la prueba.

OBSERVACIONES

La intensidad de la línea de color azul en la zona de resultado del test variará dependiendo de la concentración de Adenovirus presente en la muestra. Sin embargo, esta prueba es cualitativa, por lo que, ni la cantidad ni la tasa de aumento de Adenovirus pueden ser determinados por la misma.

CONTROL DE CALIDAD

El control interno de funcionamiento viene incluido en la prueba. La línea verde que aparece en la zona de control es el control interno del proceso, comprobando que el volumen de muestra es suficiente y que el procedimiento seguido ha sido el adecuado.

LIMITACIONES

1. Una vez abierto el envase individual el test no debe usarse después de 2 horas.
2. Un exceso de muestra puede dar resultados negativos, dando líneas no muy definidas de color pardo que no tienen ningún valor diagnóstico. Diluir la muestra en más tampón y repetir el ensayo.
3. Después de una semana de infección la presencia de virus eliminados en heces disminuye considerablemente por lo que es probable una menor concentración en la muestra. Se debe tomar la muestra de heces dentro de la primera semana de aparición de los síntomas.
4. Esta prueba diagnostica una posible infección de Adenovirus, situación que debe confirmarse por un especialista o médico cualificado, teniendo en cuenta las pruebas clínicas y de laboratorio evaluadas.

VALORES PREVISTOS

Se esperan resultados negativos en niños y jóvenes sanos, así como en adultos libres de infección.

CARACTERÍSTICAS DEL TEST

Se han realizado estudios y evaluaciones para comparar la eficacia del test. CerTest Adenovirus se evaluó en paralelo con un test rápido del mercado para detección de Adenovirus.

Sensibilidad

La detección de Adenovirus presenta un 99% de concordancia en sensibilidad.

Especificidad

La detección de Adenovirus presenta un >99% de concordancia en especificidad.

El uso de anticuerpos monoclonales de ratón en el diseño de CerTest Adenovirus asegura un alto grado de especificidad para la detección de Adenovirus.

BIBLIOGRAFÍA

1. CUKOR G., and BLACKLOW N. R., "Human Viral Gastroenteritis", *Microbiological Reviews*, Vol. 48 No 2, June 1984, pp. 157-179
2. SCHMITZ, H. et al. "Worldwide epidemiology in human Adenovirus infections", J. Epidemiology, Vol 117, pp.455-466

SÍMBOLOS PARA REACTIVOS Y PRODUCTOS PARA DIAGNÓSTICO *IN VITRO*

IVD	Producto para diagnóstico *in vitro*	LOT	Número de lote
	Consultar las instrucciones de uso	REF	Número de referencia
	Almacenar en lugar seco	Σ	Contiene <n> test
	Limitación de temperatura		Fabricante
	Fecha de caducidad	DIL	Diluyente para muestra/tampón

CerTest BIOTEC S.L.
C/María de Luna 11, nave 16
E-50018 Zaragoza (SPAIN)
www.certest.es

Febrero 2010. Revisión: 02
IU-A7FV rev 02

ANEXO 11

REGISTRO DE MUESTRAS DE HECES									
N°		Test I. Combinado		Test I. Simple		Observaciones Macroscópicas			
H.C	Edad	Rotavirus	Adenovirus	Rotavirus	Adenovirus	Color	Consistencia	Moco	Sangre

ANEXO 12

REPORTE DE RESULTADOS

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA

ÁREA DE LA SALUD HUMANA

CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO

Nombre: ……. Edad: .....

Características Macroscópicas de las Heces

Color: .....

Consistencia: .....

Otros: ……

Resultados del Análisis:

Rotavirus:

Positivo ( )

Negativo ( )

Adenovirus:

Positivo ( )

Negativo ( )

……

Firma del Responsable

ANEXO 13

UNIVERSDIDAD NACIONAL DE LOJA
AREA DE LA *SALUD* HUMANA
CARRERA DE LABORATORIO CLINICO

Loja, 06 de Mayo del 2013

Dr. Jorge Guapulema

DIRECTOR DEL HOSPITAL PROVINCIAL "ISIDRO AYORA"

Loja.

Yo, María Gabriela Ordóñez Jiménez, egresada de la carrera de Laboratorio Clínico de la Universidad Nacional de Loja, me dirijo a usted muy cordialmente para solicitar su autorización respectiva para acceder a las historias clínicas de los pacientes que formaron parte del estudio investigativo titulado: "*Estudio comparativo entre el test inmunocromatográfico simple y combinado para la detección de rotavirus y adenovirus en infantes que acuden al Hospital Regional Isidro Ayora de la ciudad de Loja;* con el fin de obtener información necesaria de los Factores de Riesgo los mismos que se registrarán en una ficha de recolección de información para la respectiva elaboración de una lista estadística que pretende la investigación en mención.

Por la gentil y favorable atención que se digne dar a la presente, le antelo mis sentidos de gratitud.

Atentamente:

M. Gabriela Ordoñez J

Ministerio de Salud Pública
HOSPITAL GENERAL ISIDRO AYORA
GESTIÓN ASISTENCIAL
LOJA - ECUADOR

6-05-13

ANEXO 14

MINISTERIO DE SALUD PÚBLICA

HOSPITAL PROVINCIAL GENERAL ISIDRO AYORA

LABORATORIO CLÍNICO

Loja, 09 de Abril del 2013

Dra. Clara Bravo P.

RESPONSABLE DEL LABORATORIO CLINICO HIAL.

A petición de la interesada:

CERTIFICA:

Que la Señorita MARÍA GABRIELA ORDÓÑEZ JIMÉNEZ con cédula N° 1105049827, egresada de la carrera de Laboratorio Clínico de la Universidad Nacional de Loja realizó en nuestro laboratorio la recolección de muestras de heces, como parte del trabajo de campo de su Tesis denominada: ESTUDIO COMPARATIVO ENTRE EL TEST INMUNOCROMATOGRÁFICO SIMPLE Y COMBINADO PARA LA DETECCIÓN DE ROTAVIRUS Y ADENOVIRUS EN INFANTES QUE ACUDEN AL HOSPITAL REGIONAL ISIDRO AYORA DE LA CIUDAD DE LOJA, lo cual realizó con absoluta responsabilidad y eficacia con la apertura y apoyo incondicional del personal que ahí labora.

Es todo en cuanto puedo certificar en honor a la verdad y autorizo a la interesada hacer uso de la presente para los fines pertinentes.

Atentamente:

DRA. CLARA BRAVO P.

RESPONSABLE DEL LABORATORIO CLINICO HIAL.

HOSPITAL "ISIDRO AYORA"
LABORATORIO CLINICO
"SECRETARIA"

ANEXO 15

UNIVERSDIDAD NACIONAL DE LOJA
AREA DE LA SALUD HUMANA
CARRERA DE LABORATORIO CLINICO

Loja, 30 de Enero del 2012

Dr. Jorge Guapulema

DIRECTOR DEL HOSPITAL REGIONAL "ISIDRO AYORA"

Loja.

Yo María Gabriela Ordóñez Jiménez, egresada de la Carrera de Laboratorio Clínico de la Universidad Nacional de Loja, muy comedidamente me dirijo a usted para solicitar su autorización respectiva para realizar parte del trabajo investigativo titulado: *ESTUDIO COMPARATIVO ENTRE EL TEST INMUNOCROMATOGRÁFICO SIMPLE Y COMBINADO PARA LA DETECCIÓN DE ROTAVIRUS Y ADENOVIRUS EN INFANTES QUE ASISTEN AL HOSPITAL ISIDRO AYORA EN LA CIUDAD DE LOJA*; para el cual le solicito s Ud. concederme el permiso correspondiente para realizar la recolección de muestras de heces diarreicas de niños que acudan al laboratorio de la institución que usted dirige, es necesario mencionar que las muestras serán analizadas en el laboratorio del Área de Salud Humana de la Universidad Nacional de Loja.

Por la gentil y favorable atención que se digne dar a la presente, le antelo mis sentidos de gratitud.

Atentamente:

M. Gabriela Ordoñez J.

1105049827

HOSPITAL PROVINCIAL GENERAL "ISIDRO AYORA" DIRECCIÓN ASISTENCIAL

1-2-13

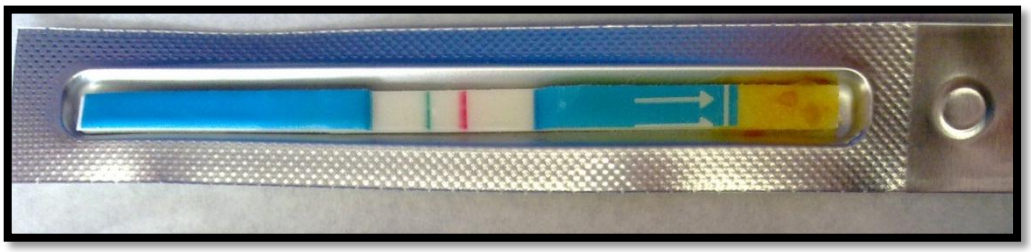
ANEXO 16

FOTOGRAFÍAS

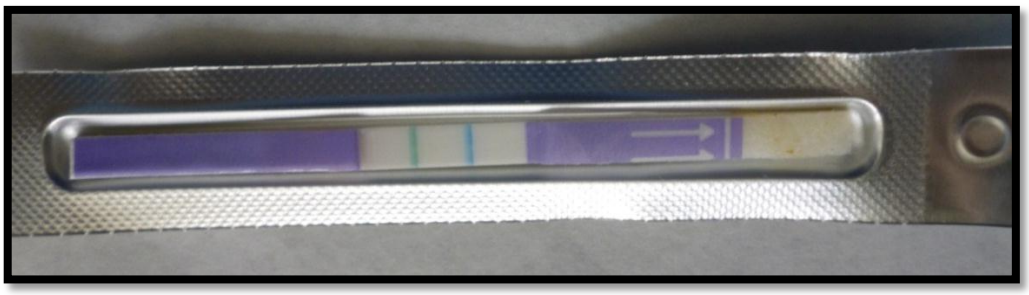
Recolección e Identificación de muestras de heces diarreicas.

Análisis de las muestras diarreicas mediante el Método Inmunocromatográfico.

Test Inmunocromatográfico Combinado Rota-Adeno (Cassette blanco), Test Inmunocromatográfico Simple para Rotavirus (Blister o tira azul) y Test Inmunocromatográfico Simple para Adenovirus (Blister o tira morado)



Rotavirus Positivo



Adenovirus Positivo

Muestra de heces analizada mediante los tres métodos inmunocromatográficos puestos en estudio, cuyos resultados muestran positivo para rotavirus.

ANEXO 17

PROPUESTA EDUCATIVA DE PREVENCIÓN DE GASTROENTERITIS AGUDA CAUSADA POR ROTAVIRUS Y ADENOVIRUS ENTÉRICO

INTRODUCCIÓN

La presente investigación se efectuó en infantes menores de 5 años que acudieron al Hospital Regional Isidro Ayora, el cual permitió detectar la presencia de rotavirus y adenovirus entérico en heces mediante la técnica inmunocromatográfica y su valor diagnóstico en la GEA (gastroenteritis aguda), así como también se logró identificar los principales factores de riesgo predisponentes que contribuyeron a su aparición mediante la aplicación de encuestas.

Considerando los resultados positivos obtenidos tanto para rotavirus como para adenovirus, cuya aparición es consecuencia principalmente del manejo incorrecto de medidas higiénico – sanitarias; se diseñó un programa de educación preventiva el cual buscó alertar, educar, crear conciencia, y fomentar medidas preventivas higiénico-sanitarias en la ciudadanía y particularmente en madres de familia y cuidadores de niños, mediante breves charlas y trípticos.

OBJETIVOS

Objetivo General:

Efectuar una propuesta educativa de prevención orientada a fomentar las prácticas higiénico – sanitarias en madres de niños(as) que acuden al Hospital Provincial Isidro Ayora de la ciudad de Loja, con el fin de reducir la Enfermedad Diarreica Aguda Infantil causada por Rotavirus y Adenovirus.

Objetivo Específicos:

Realizar una charla breve acerca de rotavirus y adenovirus entérico como agentes etiológicos de gastroenteritis aguda infantil, dirigida a las madres de niños(as) que acuden al área de Consulta Externa y al Servicio de Pediatría del HIAL.

Entregar trípticos con información acerca de los síntomas, factores predisponentes y medidas preventivas.

DESARROLLO

ENFERMEDAD DIARREICA AGUDA CAUSADA POR ROTAVIRUS Y ADENOVIRUS ENTÉRICOS

¿Qué es la Gastroenteritis Aguda?

Consiste en un aumento en el número de deposiciones (más de dos) y/o una disminución en su consistencia (líquidas), en un periodo de 24 horas. El término agudo viene dado de ser un proceso autolimitado, con una duración menor de 2 semanas.

Constituye una de las principales causas de morbilidad y mortalidad en la infancia, mayormente en los niños menores de 5 años de edad.

A nivel mundial el Rotavirus es la principal causa de GEA (50% al 80%) en los niños; pero no es la única causa, existen también otros virus como el Adenovirus (2% al 22% de los casos) el cual es, después del Rotavirus, la segunda causa viral más frecuente para esta afección, encontrándose en menor proporción otros virus como los Astrovirus y los Calicivirus.

¿Qué son los Rotavirus y Adenovirus Entéricos?

Son virus que infectan y dañan las células que recubren el intestino delgado causando diarrea y deshidratación en niños(as) pequeños.

Síntomas

Aparecen 1 a 3 días después de contraer la infección, abarcan:

- Fiebre
- Náusea, vómito y dolor abdominal
- Diarrea liquida que usualmente comienza de 1 a 2 días después de la fiebre y el vómito. Puede durar entre 3 y 8 días.

Transmisión

- Los virus Rotavirus y Adenovirus se transmiten principalmente por vía fecal-oral.
- Al ingerir agua o alimentos contaminados con heces de una persona infectada, o que no han sido preparados bajo normas sanitarias.
- A través del contacto con manos contaminadas, superficies y objetos en los que perdura el virus (un pañal, un juguete, ropa de cama, etc.). Estos virus son altamente infecciosos y muy estables en el medio ambiente, pueden vivir horas incluso días en superficies sólidas.
- A través de gotitas de saliva y de secreciones del tracto respiratorio.
- La transmisión entre niños en guarderías es causada por el contacto directo y mediantes alimentos y juguetes contaminados.

Nota: Las heces de una persona infectada pueden contener más de 10 billones de partículas infecciosas por gramo; resultando suficientes menos de 100 de estas partículas para infectar a otra persona.

¿Qué hacer ante la Gastroenteritis Aguda?

No suspender la alimentación y mantenla de la manera habitual. En niños menores de 6 meses de edad no dejar de amamantarlo.

Aumentar el consumo de líquidos.

Rehidratarlo con "Suero Oral" casero o en sobres.

Preparación del Suero oral casero:

Disuelva en 1 litro de agua limpia fría:

- 8 Cucharaditas de azúcar
- 1 Cucharadita de sal
- 1 Pizca de bicarbonato

Un niño deshidratado puede tener graves complicaciones en poco tiempo si no es atendido rápidamente.

Ante los primeros síntomas del rotavirus y adenovirus lo recomendable es acudir inmediatamente al hospital, o centro de salud más cercano y mantener bien hidratado al niño.

Indicaciones para la recolección de la muestra de heces diarreica

- ✓ Obtener la muestra de heces preferiblemente en los primeros días de diarrea.
- ✓ Esperar que se produzca la deposición en un pañal descartable puesto al revés para que no se absorba, con la ayuda de un bajalengua estéril, recolectar de 5 a 10 ml. de heces fecales (aproximadamente, un pulgar).
- ✓ Una vez recolectada la muestra de heces, colocarla en un recipiente estéril de tapa rosca debidamente identificado con el nombre del niño(a) y fecha de la toma de muestra.
- ✓ Introducir el frasco en una bolsa plástica individual, para evitar el derrame accidental de la muestra.
- ✓ Enviar al laboratorio lo antes posible después de obtenida la muestra.

¿Qué hacer para prevenir la Gastroenteritis Aguda causada por éstos virus?

- Cumplir estrictamente el carnet de vacunación contra el Rotavirus.
- Mantener la higiene en el hogar, vigilar el buen manejo de los desechos, lavar bien los muebles del sanitario y desinfectarlos con cloro.
- Lavarse las manos antes de alimentar al niño, después de ir al baño y después de cada cambio de pañal.
- Después del cambio, envolver los pañales y colocarlos en una funda plástica amarrada, y tirar inmediatamente en botes que se mantengan cerrados y alejados de los alimentos.
- Evitar el contacto de los niños de corta edad con personas con diarrea viral.
- Lavar bien las manos de los niños después de ir al baño y de jugar y antes de comer.
- Consumir agua hervida, lavar bien las frutas-verduras y evitar el contacto de los alimentos con insectos.
- En lo posible, alimentar al niño con leche materna en sus primeros 6 meses como mínimo, lo cual ayuda a incrementar sus defensas.

METODOLOGÍA

- Se efectuó una breve charla individual, conforme a su llegada, a las madres de niños(as) que acudieron al Área de Consulta Externa y del Servicio de Pediatría del Hospital Provincial Isidro Ayora.
- Se dio cabida a un espacio para despejar dudas e inquietudes emitidas por parte de la madre del niño(a).
- Se entregó los respectivos trípticos.

RECURSOS HUMANOS

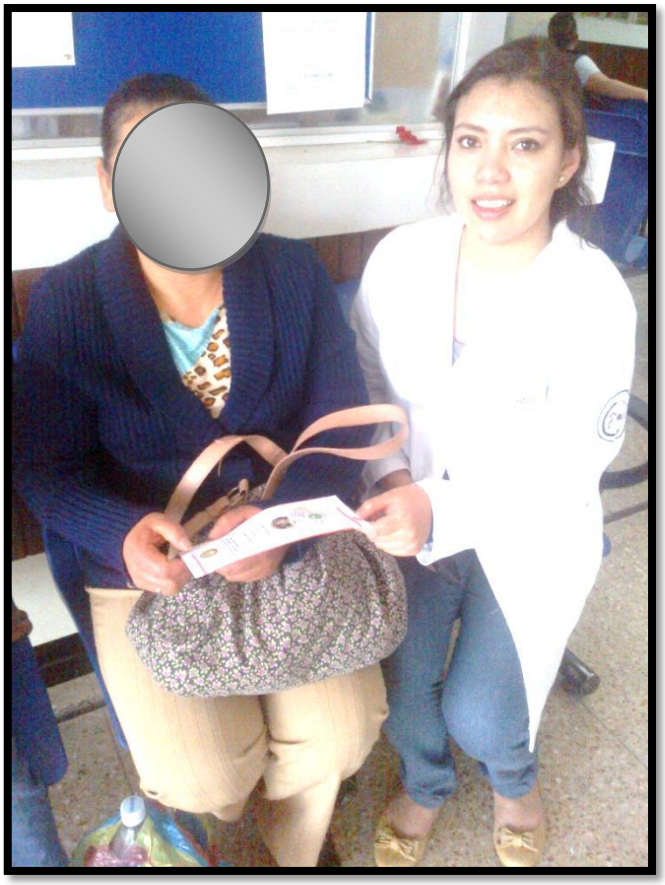
- Madres de niños(as) que acudieron al Área de Consulta Externa y del Servicio de Pediatría del Hospital Provincial Isidro Ayora.
- Director del Hospital Provincial Isidro Ayora, Dr. Jorge Guapulema.
- Pediatra del Hospital Provincial Isidro Ayora, Dra. Lupita Rivera.
- Jefa del Departamento de Laboratorio Clínico del Hospital Provincial Isidro Ayora.
- Tesista responsable, M. Gabriela Ordóñez.

REUCURSOS MATERIALES

- Material de escritorio
- Material de información
- Mandil

CONCLUSIÓN

Se diseñó una propuesta educativa, la cual se ejecutó en el área de consulta externa y el servicio de pediatría del Hospital Provincial Isidro Ayora, mediante ésta propuesta se dio a conocer breve información acerca de Rotavirus y Adenovirus como agentes etiológicos de la enfermedad diarreica aguda infantil así como también síntomas, factores predisponentes y medidas preventivas, mediante charlas y trípticos dirigidas madres de niños(as) que acuden al HIAL.



12. ÍNDICE

Contenido **Pág.**

Certificación…… ii

Autoría…… iii

Carta de Autorización de Tesis…… iv

Dedicatoria…… v

Agradecimiento…… vi

1. Titulo…… 7
2. Resumen…… 8
   2. 1 Summary…… 9
3. Introducción…… 10
4. Revisión de Literatura…… 14
5. Materiales y Métodos…… 39
6. Resultados…… 47
7. Discusión…… 59
8. Conclusiones…… 64
9. Recomendaciones…… 65
10. Bibliografía…… 66
11. Anexos…… 71