

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA

ÁREA DE LA SALUD HUMANA

CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO

TEMA:

DETERMINACIÓN DE ROTAVIRUS EN NIÑOS DE 0 – 5 AÑOS QUE ACUDEN POR PROBLEMAS GASTROINTESTINALES AL CENTRO DE SALUD N° 1 DE LA CIUDAD DE LOJA.

Tesis previa a la obtención del título de Licenciada en Laboratorio Clínico

AUTORA.

María Rosalía Alvarado Flores

DIRECTORA.

Lic. Nancy Jhuliana Iñiguez Granda

1859

LOJA – ECUADOR

2011

AUTORÍA

Las ideas, conceptos, resumen y recomendaciones vertidas en el presente trabajo de investigación, son de absoluta y total responsabilidad de la autora.

La Autora

AGRADECIMIENTO

A través, de estas palabras, quiero expresar mi más profunda y sincera gratitud a Dios, por ser el principal partícipe de mis existencias y mis metas; así mismo, quiero agradecer con todo mi cariño, a mi Madre y a mi Padre, por su apoyo incondicional y amor constante, porque gracias a ellos, he llegado hasta la meta que ahora me encuentro y me falta por cumplir; de igual manera quiero hacer partícipe mi gratitud a las Autoridades como la Lic. Jhuliana Iñiguez Directora de tesis, que con paciencia y dedicación me brindo sus conocimientos para realizar la presente tesis, así mismo, quiero agradecer a la Directora del Centro de Salud N° 1 Dra. Janeth Remache, por brindarme la oportunidad de realizar mis prácticas, de la misma forma a la Jefa del Laboratorio Clínico de la misma Área Lic. Glenda Rodríguez, que supo de forma abnegada impartir sus conocimientos y experiencias recopiladas en su vida profesional, finalmente quiero agradecer a los padres de familia en estudio, que gracias a ellos pude realizar mi investigación.

La Autora

DEDICATORIA

Quiero dedicar todo mi esfuerzo y dedicación a Dios, por su bendiciones y guía constante en cada paso que doy, a mis Padres, porque con su sacrificio y amor he logrado cumplir mis metas, ellos han sido mi apoyo de inspiración y deseo por seguir luchando por lo que deseo; y, son a quien más amo en esta vida, así mismo, a mis hermanos por brindarme su apoyo incondicional para seguir adelante.

La Autora

RESUMEN

El propósito del siguiente estudio se orienta en la Determinación de Rotavirus en niños de 0 – 5 años que acuden por problemas gastrointestinales al Centro de Salud N° 1 de la Ciudad de Loja, el análisis se realizó aplicando la técnica de Inmunocromatografía que detecta antígenos de Rotavirus, es un método moderno que ha aumentado de forma significativa su sensibilidad y especificidad, actualmente se emplea para el diagnóstico inicial del virus y para confirmar la erradicación de la misma después del tratamiento. Esta investigación es de tipo descriptivo, interpretativo y de corte transversal, constituido por un universo de 171 niños que participaron voluntariamente, teniendo en cuenta los criterios de inclusión y exclusión, luego de realizado el estudio los resultados obtenidos fueron 56 casos positivos correspondientes al 32.75% y 115 resultaron negativos que corresponde al 67.25%. Se pudo determinar que existe una moderada incidencia de niños infectados con esta enfermedad y los principales factores de riesgo que predisponen a este tipo de infecciones establecidas mediante la encuesta aplicada a los padres de familia de los niños menores de 5 años son: la falta de normas de higiene, la inadecuada eliminación de la basura, no dar tratamiento previo al agua que consumen e ingesta de alimentos y aguas contaminados.

PALABRA CLAVE: Rotavirus

SUMMARY

The purpose of the next study focuses on the determination of Rotavirus in children of 0 - 5 years go by gastrointestinal problems to the center of health no. 1 in the city of Loja, the analysis was performed using the technique of Inmunocromatografía to detect antigens of Rotavirus It is a modern method which has increased significantly its sensitivity and specificity, is currently used for the initial diagnosis of the virus and to confirm the eradication of it after the treatment. This research is descriptive, interpretive type of cross-section, consisting of a universe of 171 children attending voluntarily, taking into account the criteria of inclusion and exclusion, then carried out the study results were 56 positive cases corresponding to the 32.75% and 115 were negative which corresponds to the 67.25%. Could be determined that there is a moderate incidence of children infected with this disease and the major risk factors that predispose to infections established through the survey to parents of children under 5 years are: the lack of standards of hygiene, inadequate disposal of garbage and intake of contaminated food and water.

KEYWORD: Rotavirus.

ÍNDICE

PÁGINAS

I.	INTRODUCCIÓN.....	9
II.	REVISIÓN DE LITERATURA.....	12
III.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	26
IV.	RESULTADOS.....	30
V.	DISCUSIÓN.....	34
VI.	CONCLUSIONES.....	37
VII.	RECOMENDACIONES.....	39
VIII.	BIBLIOGRAFÍA.....	41
IX.	ANEXOS.....	45

I. INTRODUCCIÓN

El rotavirus es la causa más común de diarrea con deshidratación en niños de corta edad en todo el mundo. Los niños pueden experimentar fiebre y vómitos con una profusa diarrea acuosa, pueden tener hasta 20 episodios de diarrea o vómitos en 24 horas y la diarrea puede típicamente durar entre tres a nueve días². La incidencia de infección por rotavirus es similar en todo tipo de países a nivel mundial, lo que indica que este virus es altamente contagioso y se disemina típicamente por transmisión fecal-oral (por ej. ingestión de comida o agua contaminadas, contacto con superficies contaminadas como juguetes). Sin embargo la infección puede ocurrir aún en lugares donde existen buenas prácticas de higiene.

La diarrea causada por rotavirus puede provocar una deshidratación severa, que puede llevar a la muerte. Todos los años el rotavirus es la causa de un tercio de las hospitalizaciones por diarrea, de 25 millones de consultas a los hospitales y de casi medio millón de muertes en niños menores de cinco años de edad en todo el mundo². En el Ecuador este virus afecta a más de un millón de niños en edades comprendidas entre seis meses y cinco años. Aunque la incidencia más frecuente de rotavirus es la del serotipo A, que tiene una mortalidad del 90% debido a deshidratación, vómito y diarrea, esto se da en países más pobres, debido a la desnutrición y dificultad para acceder oportunamente a los servicios de salud¹.

El Programa Ampliado de Inmunizaciones (PAI) realizó un estudio de carga de enfermedad evidenciando que en el Ecuador el rotavirus también es un importante problema de salud pública³. Luego de estudios, el Gobierno del Ecuador decide invertir en vacunas, equipos de cadena de frío, comunicación social, capacitación al personal de salud, adecuación del sistema de información, supervisión, vigilancia epidemiológica, vacunación, monitoreo y evaluación. ⁽⁴⁻⁵⁾ Pese a todo lo expuesto anteriormente no se ha logrado controlar y erradicar totalmente este problema. En la ciudad de Loja en el Hospital Regional Isidro Ayora las estadísticas nos demuestran que en el año 2009 existe un 11.32% de morbilidad, y en el año 2010 un 10.5%, debido a infecciones gastrointestinales, las cuales en su mayoría son causadas por

Rotavirus. En muchos casos estas infecciones virales son diagnosticadas basándose en la clínica, mismas que es producida por el agente causal de dicha infección. Por ello es necesario que el diagnóstico se apoye en pruebas de laboratorio que permitan la confirmación de la presencia del microorganismo en materias fecales, esto contribuye para que el clínico haga un diagnóstico certero y de tratamiento oportuno a los infantes que presenten sintomatología gastrointestinal, y a la vez se aporte a la sociedad en general a que conozcan sobre esta problemática en salud por lo que se considera necesario realizar la presente investigación, “Determinación de Rotavirus en niños de 0-5 años que acuden por problemas gastrointestinales al Centro de Salud N° 1 de la ciudad de Loja, durante el período julio – diciembre de 2010”, aplicando la técnica de Inmuncromatografía, donde los resultados obtenidos concuerdan con los datos estadísticos ya conocidos, el 32,75% de las muestras analizadas resultaron positivas y el 67.25% fueron negativas, la incidencia es de 32,75%, es decir que de cada 100 niños 32,75% están infectados por Rotavirus.

El trabajo de campo ayudó a conocer los principales factores desencadenantes y a partir de ellos se pudo evidenciar que en su mayoría no manejan normas de higiene, hacen inadecuada eliminación de la basura, no cuentan con agua potable y a su vez no dan tratamiento oportuno al agua que consumen, por ello la mayoría de los niños han reincidido con este tipo de problemas puesto que han acudido más de 3 a 4 veces a un Centro Médico por esta enfermedad. Por otro lado fue de vital importancia difundir los resultados obtenidos en el lugar de estudio, ya que esto nos permitirá que los padres de familia tengan conocimiento sobre este problema de Salud Pública y que utilicen medidas de prevención desde sus hogares para que sus niños no vuelvan a reincidir con problemas gastrointestinales por Rotavirus.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

ENFERMEDADES DIARREICAS AGUDAS

La enfermedad diarreica aguda (EDA) se puede definir como un cambio súbito en el patrón de evacuación intestinal normal del individuo, caracterizado por aumento en la frecuencia o disminución en la consistencia de las deposiciones. Para ser considerada como aguda, su aparición debe tener menos de tres semanas. La causa más importante y frecuente de EDA es la infección enterocólica con respuesta variable en los enfermos; algunos manifiestan cuadros graves, otros síntomas moderados y otros son asintomáticos. Son más frecuentes en los países donde predominan las condiciones de vida desfavorables, con hacinamiento, falta de agua potable y deficiente cobertura de los servicios de salud.⁽⁶⁾

En países subdesarrollados se presentan seis cuadros por año en menores de 5 años y en países desarrollados 0.8 - 1 cuadro por año, en menores de 5 años. La diarrea es el patrimonio de los grupos caracterizados por pobres condiciones de vida donde no hay o se manipula inadecuadamente el agua potable, no hay alcantarillado, ni eliminación apropiada de excretas, hay pobre nutrición y no se efectúa la lactancia materna, y existe escasa cobertura en vacunación. Estos factores han sido enmarcados por la Organización Mundial de la Salud (OMS) para la población en alto riesgo de diarrea, sin embargo habrían otros aspectos sociales de nuestro país, que se suman a aquellos factores: grupos rurales, escasa escolaridad, hacinamiento. Estos son un verdadero caldo de cultivo para cualquier condición patología social, médica o humana.⁽⁷⁾

EI ROTAVIRUS

El rotavirus es una de las principales causas de enfermedades diarreicas en lactantes humanos, afecta a casi todos los niños de menos de tres años de edad y puede provocar graves consecuencias de salud, incluyendo deshidratación y hasta la muerte.⁽¹²⁾

El rotavirus es un género de virus perteneciente a la familia Reoviridae, se han identificado siete grupos, tres de los cuales (Grupo A, B y C) infectan a los

humanos. El grupo A es el más común y el más esparcido, causando el 90% de las infecciones, afectando principalmente, estómago y al intestino provocando gastroenteritis aguda, cuyos principales síntomas son la fiebre, la diarrea y el vómito. La infección por rotavirus inicia con fiebre leve y vómito seguido de evacuaciones sueltas y aunque la fiebre y el vómito generalmente ceden al segundo día, la diarrea puede continuar hasta por 8 días.

La gastroenteritis por rotavirus afecta a cualquier persona y a cualquier edad, pero en los niños menores de 5 años, es más frecuente y peligrosa. El virus se transmite por alimentos o agua contaminados con materia fecal, por contacto directo, mano-ano-boca o por no lavarse las manos después de ir al baño y antes de tocar, preparar o consumir alimentos. Muchos bebés contraen el virus por falta de higiene en las manos de sus madres o de las personas que les preparan sus alimentos.

Se considera que casi todos los niños son infectados por rotavirus durante los primeros 4 años de edad, de hecho la primera infección suele ocurrir entre los 3 y los 24 meses de edad o antes si las condiciones de higiene no son apropiadas.

ESTRUCTURA DE LA PARTICULA VIRAL

ESTRUCTURA MOLECULAR CONSTITUCIONAL

Su tamaño aproximado es de 70 nm y tiene un aspecto exterior de una rueda de carreta antigua, su genoma viral consiste en 11 segmentos separados de RNA viral bacteriano de doble cadena. Cada segmento representa un gen que codifica una de las proteínas estructurales y no estructurales del virus. Estos segmentos se pueden separar por medio de electroforesis en gel de poliacrilamida con tinción de nitrato de plata, observando patrones electroforéticos característicos de Rotavirus.

Las partículas virales tienen aproximadamente 75 nm de diámetro, con una geometría icosaédrica. El virión maduro está compuesto por tres capas concéntricas de proteína que engloban al genoma viral. La capa externa del virión está formada por 780 moléculas de la glicoproteína VP7. De esta capa

lisa se proyectan 60 espículas de 12 nm de longitud constituidas por dímeros de la proteína VP4; la base de éstos dímeros de VP4 interacciona con la capa intermedia del virión.

Esta capa intermedia, de aproximadamente 10 nm de grosor, consta de 260 unidades morfológicas constituidas por trímeros de la proteína VP6, esta proteína es la más abundante del virus, constituyendo aproximadamente el 50% de la proteína total del virión. La capa intermedia, a su vez, rodea a la capa más interna del virión o nucleocápside, que está formada por 60 dímeros de la proteína VP2, la cual engloba al genoma viral. Una copia de la proteína VP1 y una de VP3 están asociadas con la cara interna de la capa de VP2, y localizadas en los doce vértices del icosaedro, donde se ha propuesto que llevan a cabo su función de replicar y modificar los genes del virus. También dentro de esta nucleocápside se encuentran los once segmentos de ARN de doble cadena (ARNdc) que constituyen el genoma del virus.

La existencia de cada una de las capas proteicas del virus, así como las interacciones que existen entre VP7 y VP4, y de estas proteínas con VP6, han sido corroboradas mediante la producción de pseudo-partículas virales, a través de la expresión de los genes que codifican para cada una de estas proteínas (VP2, VP6, VP4 y VP7). Las proteínas virales tienen la habilidad intrínseca de auto-ensamblarse.⁽¹⁴⁾

Estos canales atraviesan a la partícula viral desde la capa externa hasta la nucleocápside. Aún no es claro el papel que juegan estos canales durante el ciclo de replicación del virus, sin embargo se ha propuesto que podrían estar involucrados en la entrada de los metabolitos necesarios para la transcripción del ARN dentro de la partícula de doble capa, así como de la salida de los transcritos virales. Los ARN mensajeros (ARNm) virales salen de la partícula a través de los canales tipo I, que se encuentran localizados en los 12 vértices de la partícula icosaédrica, en los que también se localizan las proteínas VP1 y VP3.

PROTEÍNAS

El virión está formado por seis proteínas (VP). Estas proteínas estructurales se llaman VP1, VP2, VP3, VP4, VP5 y VP6. Aparte de las proteínas estructurales, hay seis más no estructurales (NSP), producidas únicamente en las células infectadas. Se denominan NSP1, NSP2, NSP3, NSP4, NSP5 y NSP6. Por lo menos seis de las doce proteínas codificadas por el genoma vírico llevan ARN asociado, y la función de estas proteínas en el rotavirus no están bien explicadas; se cree que están implicadas en la síntesis y empaquetamiento del ARN, transporte del ARNm hacia la zona de replicación del genoma y en la traslación de ARNm y regulación de la expresión génica.

PROTEÍNAS DE LA CAPA INTERMEDIA

La capa intermedia del virus está formada por la proteína más abundante del virión, VP6, codificada por el gen 6. Esta proteína, de 397 aminoácidos, juega un papel muy importante en la estructura del virión dado que interacciona tanto con la proteína VP2, hacia el interior de la partícula, como con VP4 y VP7 en la capa externa del virión. VP6 forma espontáneamente trímeros y es muy estable; esta característica y el hecho de que contiene determinantes antigénicos (o epítopes) conservados entre diferentes cepas de rotavirus, son la razón de que VP6 sea el blanco antigénico principal en los ensayos de diagnóstico inmunológico para los rotavirus.

Los epítopes de VP6 que son conservados entre todas las cepas de rotavirus del grupo A son llamados epítopes de grupo. En esta proteína también se han identificado otros epítopes, llamados epítopes de subgrupo, los cuales han sido utilizados como marcadores epidemiológicos para clasificar diferentes cepas dentro del grupo A.

Aparentemente el papel de VP6 en esta función es principalmente estructural, a través de mantener la conformación apropiada, o la organización del complejo transcripcional en la nucleocápside viral. Esta proteína es hidrofóbica y altamente antigénica e inmunogénica.

PROTEÍNAS DE LA CAPA EXTERNA

La capa más externa del virus está formada por las proteínas VP4 y VP7, que son las proteínas responsables de los primeros contactos con la célula huésped y por lo tanto tienen funciones que determinan la infectividad del virus, tales como:

1. La unión y la penetración del virus a la célula,
2. Son las principales inductoras de anticuerpos neutralizantes.

La VP7 es la segunda proteína más abundante en el virión y es codificada por el segmento de ARN 7, 8, o 9 dependiendo de la cepa de rotavirus que se analice. Esta proteína es altamente inmunogénica y es muy buena inductora de anticuerpos neutralizantes, que son serotipo específicos.

Se conoce que la proteína VP7 es glicosilada co-transduccionalmente a medida que se inserta en el lumen del Retículo endoplasmático y la señal para esta inserción se encuentra contenida en el péptido señal presente en el extremo amino de VP7. La proteína VP7 es retenida en la membrana del Retículo Endotelial, sin embargo no contiene la secuencia típica de retención en Retículo Endotelial, lo que ha sido motivo de estudio para determinar la señal que le permite a esta proteína mantenerse como proteína residente en el Retículo Endotelial.

Aún no se ha determinado ninguna función en la que VP7 participe directamente durante las primeras interacciones del virus con su célula huésped. Sin embargo, VP7 puede afectar la expresión de diferentes fenotipos y las propiedades antigénicas de VP4. Esto probablemente es el resultado de la interacción íntima de VP4 y VP7 en la superficie del virión.

VP4 es la otra proteína de capa externa y es codificada por el segmento de ARN 4. Esta proteína, de 776 aminoácidos tiene funciones esenciales en el ciclo de vida del virus, incluyendo la unión al receptor y la penetración a la célula. Por lo tanto, las propiedades de esta proteína son determinantes importantes del rango de huésped, virulencia, tropismo, e inducción de

inmunidad protectora. Esta proteína tiene varios dominios funcionales, los cuales son:

- La infectividad de los rotavirus se incrementa, y muy probablemente depende del tratamiento del virus con tripsina. Este tratamiento proteolítico resulta en el rompimiento específico de VP4 (776 aa) en dos polipéptidos de menor peso molecular, llamados VP8 (aa 1-131) y VP5 (aa 247 a 776). El corte de VP4 no afecta la unión a la célula, y más bien ha sido asociado con la entrada del virus al citoplasma celular, por penetración directa.
- VP4 contiene dos puentes di-sulfuro intramoleculares, uno entre las cisteínas en VP8, y otro entre las cisteínas en VP5. El puente di-sulfuro en VP5 se encuentra conservado en todas las cepas de rotavirus, mientras el puente disulfuro en VP8 no se encuentra en la mayoría de las cepas de origen humano. La relevancia biológica de estos puentes no se ha demostrado aún.
- La proteína VP5 tiene la capacidad de unirse específicamente a la superficie de las células, y esta interacción se da con la integrina $\alpha 2\beta 1$, a través de la secuencia DGE presente en la posición 308-310 de VP5.

PROTEÍNAS ESTRUCTURALES

La VP1 está situada en el núcleo del virus y es una RNA polimerasa. En una célula infectada produce los transcritos de ARNm para sintetizar las proteínas víricas y duplica el genoma para producir nuevas partículas víricas.

La VP2 forma parte de la capa más interna del virión y va unida al genoma de ARN. La VP3 también forma parte de la capa interna del virión y es un enzima llamado guanilil transferasa. Es una enzima que produce la caperuza en 5' del ARN, durante la modificación postranscripcional del ARN mensajero. Esta caperuza estabiliza el extremo 5' del mensajero e impide que sea atacado por nucleasas, enzimas que degradan ácidos nucleicos. La VP4 está situada en la parte externa del virión y forma una protuberancia, que es capaz de unirse a los receptores celulares de la célula para entrar en su interior.

La VP4 debe ser modificada por una proteasa intestinal, para dar lugar a VP5 y VP8, antes de que la partícula vírica sea infecciosa. La estructura de VP4 determina la virulencia del virus y que sea de tipo P.

La VP6 es la proteína principal de la cápside. Es altamente antigénica y puede usarse para determinar la especie del rotavirus. Se usa en los ensayos clínicos para determinar la existencia de infección por rotavirus A.

La VP7 es una glicoproteína que forma parte de la capa externa del virión. Aparte de sus funciones estructurales, determina el tipo G de la cadena, y junto con VP4, está implicada en la respuesta inmunitaria al virus.

PROTEÍNAS NO ESTRUCTURALES

NSP1 es transcrita por el gen 5 y es una proteína no estructural de unión a ARN. NSP2 es una proteína de unión a ARN, que se acumula en inclusiones citoplasmáticas y es necesaria en la replicación del genoma. NSP3 está unida a ARNm en las células infectadas y es la responsable de la finalización de la síntesis proteica celular. NSP4 es una enterotoxina viral que induce diarrea y fue la primera enterotoxina viral que se descubrió.

NSP5 está codificada por el segmento 11 del genoma vírico del rotavirus A, y en las células infectadas se acumula en el citoplasma. NSP6 es una proteína de unión a ácido nucleico es codificada por el gen 11, en un marco abierto de lectura desfasado.

MANIFESTACIÓN CLÍNICA, SIGNOS Y SÍNTOMAS.

El rotavirus es el causante de la mayor parte de las enfermedades diarréicas en lactantes y niños en todo el mundo. Hay un período de incubación de 1 a 4 días, esta enfermedad tiene un comienzo brusco de vómitos que dura 24-48 horas y fiebre, seguido por diarrea acuosa abundante, que dura aproximadamente 5 días.

En 1-2 % de los niños se complica con deshidratación aguda (pérdida de más del 5% del peso corporal), la mayoría de los cuales requiere hospitalización.

La sintomatología puede variar de leves a severos, los síntomas más comunes del rotavirus pueden incluir:

- Fiebre que normalmente disminuye en los primeros dos días
- Náuseas y vómitos
- Dolor abdominal
- Diarrea (usualmente acuosa y frecuente puede durar entre tres y ocho días)
- Deshidratación que puede ocurrir rápidamente especialmente en los lactantes.

Los síntomas de la deshidratación pueden incluir:

- ✓ Irritabilidad
- ✓ Sed
- ✓ Piel pálida
- ✓ Ojos profundamente hundidos
- ✓ Lágrimas escasa o ausente
- ✓ Disminución de la cantidad de orina o de pañales mojados
- ✓ Boca seca

PATOGENIA E INMUNIDAD

La infección por rotavirus es transmitida de una persona a otra de forma primaria a través de la ruta fecal-oral. Aunque este virus es relativamente lábil a los ácidos, puede sobrevivir al medio ácido del estómago y resiste el contacto con las enzimas proteolíticas y otros constituyentes del intestino durante este espacio de tiempo las proteasas actúan sobre los polipéptidos virales e incrementan la virulencia.

La replicación de rotavirus tiene lugar en el citoplasma de las células epiteliales de las vellosidades del intestino delgado y la porción más afectada es el yeyuno, aunque puede extenderse a través de la mucosa intestinal sin afectar el colon. Los enterocitos de la parte superior de las vellosidades son células diferenciales que tienen funciones tanto digestivas como de hidrólisis de los disacáridos, y funciones de absorción como el transporte de agua y electrolitos mediante los cotransportadores de glucosa y aminoácidos.

La infección viral selectiva de estas células conduce a la lisis y su contenido se excreta junto con las partículas del virus en las heces fecales para producir un desequilibrio en la relación entre absorción y secreción del líquido intestinal, mal absorción de carbohidratos complejos sobre todo lactosa. Las enzimas hidrolíticas ejercen una secreción neta de agua y electrólitos por lo que se reducen los niveles de sodio y potasio intracelularmente por pérdida de la actividad de la adenosintrifosfatasa y del transporte de sodio acoplado a la glucosa. Estos niveles retornan a la normalidad después de 4 a 8 semanas a partir de la infección. El rotavirus ha revelado la presencia de proteínas estructurales como VP7 y proteínas no estructurales como NSP4, distribuidas entre los axones y dendritas de neuronas infectadas por rotavirus por la asociación de estas proteínas endógenas con el retículo endoplásmico, compartimentos intermedios y el aparato de golgi.

La inmunidad frente a la infección requiere la presencia de anticuerpos, principalmente de inmunoglobulinas (IgA) en la luz del intestino, los anticuerpos adquiridos de manera activa o pasiva puede reducir la gravedad de la enfermedad aunque no son capaces de impedir sistemáticamente la reinfección. En ausencia de anticuerpos, la inoculación incluso de pequeñas cantidades de virus provoca infección y diarrea, la infección en los lactantes y niños pequeños generalmente es sintomática, mientras que en los adultos suele ser asintomático

EPIDEMIOLOGÍA

Los virus son ubicuos en todo el mundo, estando infectados cerca del 95% de los niños cuando tienen de 3 a 5 años de edad, se cree que los rotavirus se transmiten de una persona a otra por vía fecal-oral. La diseminación máxima del virus tiene lugar entre 2 y 5 días después de inicio de la diarrea, aunque es posible que no vaya acompañada de la aparición de sintomatología. El virus sobrevive bien en los fómites como los muebles y los juguetes, así como en las manos pues resiste la desecación. Aunque los animales domésticos portan rotavirus serológicamente relacionados, no se cree que sean una fuente habitual de infección para el ser humano.

Los rotavirus son unas de las causas más habituales de diarreas graves en niños pequeños a nivel mundial, afectan a más de 18 millones de lactantes y niños, causan alrededor de un millón de muertes anuales por deshidratación. El cuadro más grave aparece en niños con desnutrición grave, la diarrea por rotavirus es una enfermedad grave y muy contagiosa, con riesgo de muerte para los lactantes de los países en vías de desarrollo y se registran durante todo el año. En China se han producido varios brotes relacionados con los rotavirus de tipo B que afectaron a millones de personas debido a la contaminación de agua suministrada.

AGENTE ETIOLÓGICO

Los Rotavirus pertenecen a la familia Reoviridae. Los miembros de esta familia de virus presentan las siguientes características comunes:

- ✓ Las partículas virales tienen una geometría icosaédrica
- ✓ No están envueltos por una membrana lipídica.
- ✓ Tienen un genoma compuesto por segmentos de ARN de doble cadena.
- ✓ El ARN genómico no es infeccioso per se en ausencia de las proteínas virales.
- ✓ La partícula viral contiene todas las enzimas necesarias para la producción de sus ARNs mensajeros.
- ✓ La replicación viral se lleva a cabo exclusivamente en el citoplasma de la célula. ⁽²¹⁾

ENFERMEDADES CLÍNICAS

Los rotavirus causan principalmente gastroenteritis, el periodo de la incubación de la diarrea asociada a los rotavirus se estima en 48 horas, los síntomas clínicos principales en los pacientes hospitalizados son vómito, diarreas, fiebre y deshidratación. En esta forma de diarrea no aparecen leucocitos ni sangre en heces. La gastroenteritis por rotavirus es una enfermedad de resolución espontánea, y su recuperación generalmente es completa y sin secuelas. Sin embargo, la infección puede llegar a ser mortal en lactantes que viven en países en vías de desarrollo y presentan desnutrición y deshidratación antes de contraer la infección. ⁽¹⁶⁾

DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO

En los lactantes y los niños la pérdida grave de electrolitos y líquidos pueden ser mortal al menos que se incluyan tratamientos. El diagnóstico en el laboratorio se basa en la demostración del virus en las heces recolectadas al principio de la enfermedad y el aumento de los anticuerpos. Lo ideal sería la identificación del virus en las heces por microscopio electrónico, prueba de aglutinación de látex, ELISA, RIA, inmunofluorescencia, genotipificación de ácido nucleico del rotavirus a partir de muestras de heces mediante la reacción de la cadena de la polimerasa (PCR) es el método de detección más sensible, pero de alto costo, no todos los laboratorios pueden acceder. Pruebas rápidas como inmunocromatografía son las más recomendables debido al bajo costo la rapidez de la prueba y su alta sensibilidad del 100% y una especificidad de 98%.⁽¹²⁾

INMUNOENSAYOS

El rotavirus es el principal agente viral causante de diarrea aguda en niños menores de 5 años y es responsable de aproximadamente el 6% de muertes, lo que conlleva la necesidad de utilizar métodos de diagnósticos rápidos y confiables.

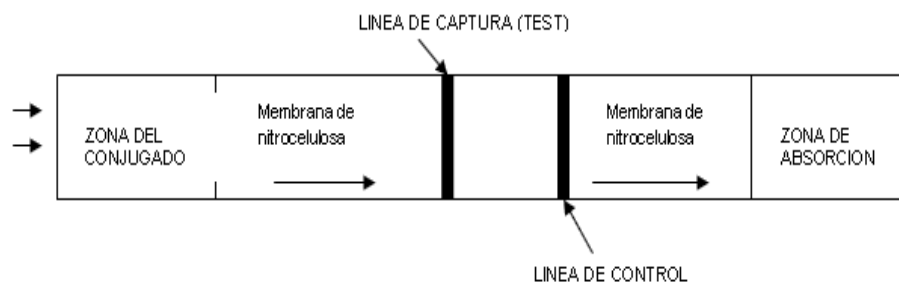
Las pruebas de diagnóstico rápido se basan en varias técnicas inmunológicas: aglutinación en látex, método de radioinmunoensayo (RIA), método de inmunofluorescencia, método de amplificación del ácido nucleico (PCR), ELISA e Inmunocromatografía. La inmunocromatografía es una prueba cualitativa que detectan los antígenos VP6 del rotavirus del serogrupo A. Los resultados por inmunocromatografía pueden estar disponibles en pocos minutos, por lo que suponen una gran ventaja sobre las demás técnicas que pueden necesitar de varias horas y obteniendo una mayor sensibilidad y especificidad de la prueba.
(7-12)

ENSAYOS DE CAPTURA DEL ANTÍGENO, INMUNOCROMATOGRAFÍA.

Son inmunoensayos en fase sólida donde se fijan los anticuerpos específicos para el virus en la superficie de una matriz, tubo o microplaca, Se emplea como sistema de amplificación del conjugado el oro coloidal para aumentar la

sensibilidad del método. Posteriormente se pone en presencia de la muestra que contiene el antígeno que se quiere demostrar; una vez que ocurre la reacción antígeno-anticuerpo (que se observa por la acumulación de oro coloidal del conjugado en el papel de nitrocelulosa), se hace un lavado y se agrega un anticuerpo marcado de captura, que depende de la marcación del anticuerpo.

FUNDAMENTO DEL MÉTODO:



1. La muestra se pone en contacto con la zona del conjugado. Esta lleva impregnada un conjugado formado por un anticuerpo específico contra uno de los epítomos del antígeno a detectar y un reactivo de detección. Si la muestra contiene el antígeno a detectar, éste se unirá al conjugado formando un complejo y empezarán a migrar a través de la membrana de nitrocelulosa.
2. La zona de captura está formada por un segundo anticuerpo específico contra otro epítomo del antígeno. Al llegar la muestra a esta zona, los complejos formados por la unión del antígeno y conjugado quedarán retenidos y la línea se coloreará (muestras positivas). Si la muestra no contenía el antígeno, el segundo anticuerpo no captura nada y la línea queda transparente (muestras negativas).
3. La zona control está formada por un tercer anticuerpo que reconoce al reactivo de detección. Cuando el resto de muestra alcanza esta zona, el anticuerpo se unirá al conjugado libre que no ha quedado retenido en la zona de captura. Esta línea es un control de que el ensayo ha funcionado bien, porque se colorea siempre, con muestras positivas y negativas.

TRATAMIENTO Y PREVENCIÓN

Existe la vacuna antivírica específica para la infección de rotavirus, el procedimiento de inmunización es oral y se lo administra en niños de 2 meses y 4 meses. El objetivo del tratamiento complementario es sustituir líquidos de manera que se pueda corregir el volumen sanguíneo y los desequilibrios electrolíticos y ácido – base. El desarrollo de una vacuna segura frente a los rotavirus constituye un objetivo prioritario con el fin de conferir protección a los niños, frente a una enfermedad potencialmente mortal. Se han preparado vacunas experimentales a partir de rotavirus animales, estas vacunas comparten determinantes antigénicos con los rotavirus humanos no provoca la enfermedad en el ser humano y confiere protección frente a la infección. Se han realizado estudios de inmunización para la confección de vacunas orales, dirigidas contra los antígenos situados en la envoltura interna de la cápside viral (Vp6).⁽¹⁶⁾

III. MATERIALES Y MÉTODOS

TIPO DE ESTUDIO

Es una investigación de tipo descriptivo, interpretativo y de corte transversal. En la que se utilizó técnicas y procedimientos para el análisis de Rotavirus como agente causal de gastroenteritis.

LUGAR Y TIEMPO

El lugar donde se desarrolló la tesis fue en el Laboratorio Clínico del Centro de Salud N° 1 de la ciudad de Loja en el período julio – diciembre del 2010.

UNIVERSO

Está constituido por el 100% de niños en edades comprendidos entre 0- 5 años, que acuden al Centro de Salud N° 1 de la ciudad de Loja en el período julio – diciembre del 2010.

MUESTRA

171 niños que acudieron en el período de estudio al Centro de Salud N°1 de la ciudad de Loja, y que se encontraron dentro de los criterios de inclusión establecidos.

CRITERIOS DE INCLUSIÓN

- Aquellos niños cuyos padres autorizaron que sean parte del estudio.
- Todos los niños que acudieron al laboratorio por problemas diarreicos.
- Niños que acudieron a realizarse el examen de rotavirus bajo pedido médico.

CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

- Todos los niños cuyos padres no autorizaron que sean parte del estudio.
- Niños mayores de cinco años.

TÉCNICAS E INSTRUMENTOS

Las técnicas e instrumentos que se utilizó son las siguientes:

- Se construyó un documento de consentimiento informado dirigido a los padres de familia de los niños que acudieron al Centro de Salud N°1 con la finalidad de obtener su colaboración en el proceso. (Anexo 1).
- Solicitud dirigida al Director del Centro de Salud N°1 pidiendo el permiso correspondiente para la recolección de la muestras de heces de los niños menores de 5 años que acudan al Centro de Salud N°1. (Anexo 2).
- Solicitud dirigida al Jefe del laboratorio para solicitar el espacio físico correspondiente, para la recolección y procesamiento de las muestra de heces para determinar Rotavirus. (Anexo 3).
- Se aplicó un protocolo para la realización del análisis de Rotavirus. (Anexo 4).
- Aplicación de una encuesta a los padres de familia para determinar los factores desencadenantes que predisponen al niño a contraer la infección de Rotavirus. (Anexo 5).
- Se elaboró un formato de registro de resultados. (Anexo 6).
- Se elaboró un formato de entrega de resultados. (Anexo 7).

PLAN DE TABULACIÓN Y ANÁLISIS DE DATOS

Los datos fueron obtenidos de las muestras de niños en edad comprendida entre 0-5 años, considerando los criterios de inclusión y exclusión anteriormente expuestos. Siguiendo cuatro pasos fundamentales:

1. Codificación
2. Introducción de datos
3. Validación de resultados.
4. Tabulación y análisis estadísticos.

Los análisis de los resultados se tabuló numéricamente, sacando porcentajes con los cuáles se pudo construir tablas de frecuencia simple, con su respectiva presentación gráfica.

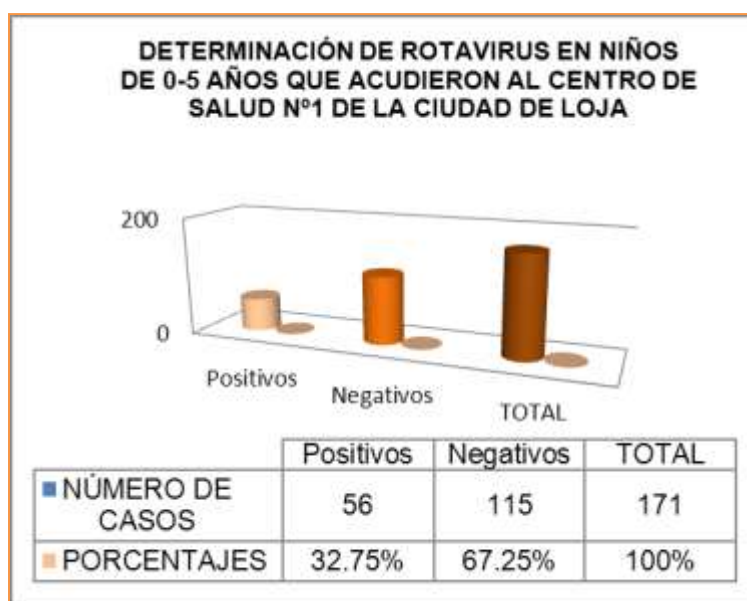
IV. RESULTADOS

TABLA N°1
DETERMINACIÓN DE ROTAVIRUS EN NIÑOS DE 0-5 AÑOS QUE ACUDIERON AL CENTRO DE SALUD N°1 DE LA CIUDAD DE LOJA.

Determinación de Rotavirus	FRECUENCIA	%
Positivos	56	32.75%
Negativos	115	67.25%
TOTAL	171	100%

Fuente: Centro de Salud N° 1
Autora: María Rosalía Alvarado Flores

GRÁFICO N° 1



Fuente: Centro de Salud N° 1
Autora: María Rosalía Alvarado Flores

El total de niños que acudieron al Centro de Salud N°1 por problemas diarreicos fueron 171 que corresponde al 100%, el 32.75% resultaron positivos, y el 67.25% resultaron negativos. Demostrándose que hay un moderado índice de niños infectados por Rotavirus.

TABLA N°2
FACTORES DE RIESGO QUE PREDISPONEN A LOS NIÑOS DE 0-5 AÑOS
ADQUIRIR ROTAVIRUS

FACTORES DE RIESGO	F	%	TOTAL	%
Lugar de Procedencia				
▪ Urbana	54	96.43%	56	100%
▪ Rural	2	3.57%		
Procedencia del agua para el consumo humano				
▪ Entubada	23	41.07%	56	100%
▪ Quebrada	1	1.79%		
▪ Potable	32	57.14%		
Tratamiento que le dan al agua para su consumo				
• Cloro	1	1.79%	56	100%
• Hierve el agua	17	30.36%		
• Ninguna	38	67.85%		
Eliminación de la basura				
▪ Recolector de la basura	43	76.78%	56	100%
▪ La quema	10	17.86%		
▪ La bota al aire libre	3	5.36%		
Aplicación de normas de higiene				
• Si	10	17.86%	56	100%
• No	46	82.14%		

Fuente: Centro de Salud N° 1

Autora: María Rosalía Alvarado Flores

Después de analizar los datos, se puede determinar que los factores de riesgo que predisponen a los niños menores de 5 años a infectarse por Rotavirus están relacionados a que no ingieren agua previamente tratada en un 67.85%, el 42.86% no dispone de agua potable por ende en su mayoría consumen agua entubada y quebrada, el 5.36% elimina la basura al aire libre y el 17.86% la quema, el 82.14% no aplican normas de higiene básicas, lo que contribuye a tener reincidencias infecciosas por este agente viral, cabe señalar que la mayoría de la población en estudio pertenecen a zona Urbanas en un 96.43%.

V. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Una de las principales causas de Enfermedades Diarréicas Agudas es el Rotavirus siendo este agente viral responsable de una alta morbi-mortalidad en los niños menores de cinco años en todo el mundo, cuyas manifestaciones se caracterizan por diarreas agudas graves, asociadas con vómito que puede producir deshidratación. En el presente estudio realizado en el Centro de Salud N°1 de la ciudad de Loja se determinó que entre el mes de Junio a Diciembre del 2010 existió un registro de 171 niños menores de cinco años, de los cuales 56 niños que corresponde al (32.75%) resultaron positivo para Rotavirus; En Colombia estudios realizados en los meses de Marzo a Noviembre del 2004 por el Doctor Fréd Manrique Abril en 129 niños menores de cinco años que ingresaron al Hospital de San Rafael de Tunja, determinó que 39 niños acudieron por problemas diarreicos producidas por Rotavirus⁽²³⁾. La Organización Mundial de la Salud (OMS) señala que el número de casos positivos para Rotavirus en un estudio realizado en Valencia-España fueron (45,13%) en niños menores de cinco años ⁽²⁴⁾; En el Hospital Regional Isidro Ayora de la ciudad de Loja en los meses noviembre del 2006 a abril del 2007, se realizó un estudio en el servicio de pediatría, en el cual se obtuvo que, 35 niños que corresponde al 43.75% resultaron positivo para Rotavirus. ⁽²⁵⁾

Haciendo un análisis de los resultados de estos estudios, notamos una discrepancia entre las investigaciones realizadas en Colombia, Valencia - España y nuestro país, ya que en éste último estudio existe mayor porcentaje de población infantil con estos problemas, a pesar que el período de investigación es menor. Lo cual refleja que en la actualidad existe un alto porcentaje de niños que ingresan a Centros Médicos por problemas gastrointestinales producidas por Rotavirus.

Es importa destacar que existen semejanza en los resultados obtenidos en éste estudio realizado en el Centro de Salud N°1, y la investigación realizada en el Hospital de San Rafael de Tunja Colombia, puesto que la población investigada en ambos casos proviene de zonas Urbanas; y presenta resultados con un elevado porcentaje de casos de Rotavirus, en la primera investigación es de un 96.43% y en el segundo estudio es de 71.20%.

Se conoce que los factores de riesgo para contraer la infección por Rotavirus son: grupos rurales, escasa escolaridad, aguas y alimentos contaminados junto a aspectos sociales como el hacinamiento e inadecuados hábitos de higiene entre otro, los cuales influyen negativamente en el desarrollo de esta patología; así es el caso del estudio realizado en Valencia – España, ⁽²⁴⁾ cuyos factores de riesgo presentes, concuerdan con los factores de riesgo determinados en el presente estudio, los cuales fueron: mala práctica de hábitos de higiene, inadecuada eliminación de la basura, la ingesta de alimentos y agua contaminadas; Así mismo en un estudio realizado en el barrio Obrapía, se evidencia que las causas para contraer éste agente viral es la falta de normas de higiene y la ingesta de aguas y alimentos contaminados⁽²⁶⁾.

Cabe señalar que es muy importante las condiciones de vida que se le brinda al niño para evitar problemas de infección intestinal y a la vez prevenir la morbi-mortalidad, como se ha podido observar por medio de esta investigación, se demostró estadísticas semejantes en España- Valencia y sobre todo en nuestro país, que existieron factores desencadenantes que conllevaron a que los niños se infectarán de este agente viral. Por otra parte, cabe señalar que en los países desarrollados la población infantil con mortalidad producida por este virus, es menor al de los países subdesarrollados, lo cual refleja que las políticas administrativas de los países desarrollados brindan mayor capital a los Centros Médicos con; equipos de cadena de frío, comunicación social, capacitación al personal de salud, vigilancia epidemiológica, vacunación, monitoreo y evaluación.

VI. CONCLUSIONES

Al finalizar la presente investigación “Determinación de Rotavirus en niños de 0-5 años que acuden por problemas gastrointestinales al Centro de Salud N° 1 de la ciudad de Loja” se concluye lo siguiente:

- De los 171 niños que acudieron al Centro de Salud N°1 por problemas Gastrointestinales, se determinó que 56 niños menores de cinco años que corresponde al 32.75% resultaron positivos mientras que 115 niños que equivale al 67.25% resultaron negativo para Rotavirus.
- Los factores de riesgo identificados que conllevaron a que los niños se infectaran con este virus fueron: la falta de normas de higiene, la inadecuada eliminación de la basura e ingesta de alimentos y aguas contaminados. Estos porcentajes se representaron en mayor proporción lo que probablemente fueron los causantes para que los niños se infectarán de Rotavirus.
- Mediante la entrega de un tríptico y conferencia se dio a conocer las medidas preventivas de problemas gastrointestinales por Rotavirus, para que los padres de familia en estudio lo apliquen desde sus hogares con la finalidad de disminuir el riesgo de contagio y por ende a infectarse de este virus.

VII. RECOMENDACIONES

- Se recomienda realizar este tipo de estudio no solamente en nuestra Ciudad, sino también a nivel Provincial y Nacional para de esta manera, identificar los factores de riesgo y contribuir al diagnóstico oportuno de este problema de Salud Pública.
- A los padres de familia que participaron en éste trabajo investigativo, se les recomienda que utilicen medidas de prevención desde sus hogares para que los niños no reincidan con esta enfermedad.
- Se recomienda continuar con investigaciones de rotavirus en los niños menores de cinco años, ya que con ello se puede elaborar una base de datos en la Carrera y evidenciar la incidencia de Rotavirus en nuestra Ciudad.

VIII. BIBLIOGRAFÍA

1. Pediatric Infectious Disease Journal 23(10 Supl.): 168-172 Oct 2004] – *Asnc*. Este estudio recibió aportes de Emerging Infectious Diseases Fellowship Program administrado por Association of Public Health Laboratories, y de Centers for Diseases Control and Prevention (CDC).
2. MERCK SHARP DOHME Ecuador. Artículo ROTAVIRUS <http://msd.com.ec/msdec/patients/rotavirus/rotavirus.html>, sitio de Este sitio es solamente para los residentes de Ecuador publicado en el 2009.
3. ORGANIZACIÓN PANAMERICANA DE LA SALUD http://new.paho.org/ecu/index.php?option=com_content&task=view&id=81&Itemid=259, sitio auspiciado por la, Organización Mundial de la Salud y el Gobierno del Ecuador. Publicado en el 2009.
4. OMS, artículo de rotavirus. En todo el mundo. <http://www.msd.com.ec/msdec/patients/rotavirus/entendiendo/rotavirus.html>. 5 de septiembre del 2010. Publicado en el 2006.
5. OMS. Artículo de ROTAVIRUS EN EL ECUADOR. <Http://www.telegrafo.com.ec/sociedad/salud/noticia/archive/sociedad/salud/2009/10/07/mejora-control-de-rotavirus.aspx>. 12 de octubre del 2010. publicado en el 2006.
6. ANDERSON, L. E., Diccionario de Medicina Océano Mosby. Editorial. Océano Internacional, España, edición 2002.
7. AVENDAÑO, L. F, Infección Intra-hospitalaria por rotavirus en Lactantes. Editorial Internacional, Chile, primera Edición 2000.
8. FORBES. SAHM. WEISSFELD BAILEY y SCOTT. Diagnóstico de Microbiología. 11^a Edición. Buenos Aires 2004. Capitulo 54. Métodos del Laboratorio en Virología Básica. Paginas. 832, 833, 834, 835.
9. GAGGERO, A, Prevalencia de la infección aguda por Rotavirus en Niños con gastroenteritis aguda. Editorial Interhispana, Cuernavaca-México, 2000.
10. GILBERTO, Á, Diccionario de Laboratorio Aplicado a Clínica. Editorial Médica-Panamericana, México, tercera Edición 2005.
11. HOEKELLMAN, A, Atención Primaria en Pediatría. Editorial Médica Panamericana, Barcelona-España, cuarta edición, volumen II, 2004.

12. JAWETZ E, MELNICK J, ADELBERG E. Microbiología Médica, 18° ed. México; Editorial El Manual Moderno. 1997. S.A. de C.V. ISBN 970-729-136-2. Capítulo 37. pag. 500, 501, 502, 503, 504.
13. MENEGHELLO J., Pediatría Práctica en Diálogos. Editorial Médica Panamericana, Chile, 2001.
14. MURRAY PATRICK. Microbiología Médica. 5^{ta} edición. México 2007.
15. NELSON, W. Estrategias Diagnósticas en Pediatría. Editorial McGraw-Hill, Cuernavaca-México, primera edición, 2002.
16. PATRICK R. Murray Ken S. Rosenthal. Michael A. Pfaller. Microbiología Médica. 5^o edición. Capítulo 62. Pág. 631, 632, 633.
17. PLATA RUEDA, E, Plata Rueda El Pediatra Eficiente. Editorial, Mediciencia, Buenos Aires - Argentina, Edición 2002.
18. POSADA DIAZ, Á. El Niño Sano. Editorial Médica Panamericana, México, tercera edición 2005.
19. PEREZ MORGAN, R, Desequilibrio Electrolítico, Editorial Graficart, Quito-Ecuador, séptima edición, 2000.
20. QUIÑONEZ, E, Bases de Pediatría. En problemas diarreicos agudos, Editorial Nación, Quito-Ecuador, tercera edición 2001.
21. ROMERO CABELLO. R. Microbiología y Parasitología Humana; Bases Etiológicas de las Enfermedades Infecciosas y Parásitos: 3^{er} Edición, México 2007.
22. WUETHRICH, B, Sexto Simposio Internacional sobre El Rotavirus 2004. Instituto de Vacunas Albert B. Sabin - Oficina de Programas Internacionales, Editorial Saunders Design, Washington-EEUU, Primera edición, 2005.
23. MANRIQUE.A.F. G. Agentes causantes de diarreas en niños menores de cinco años en San Rafael de Tunja Colombia en el periodo marzo – noviembre del 2004. <http://www.scielo.br/revistas/rpsp/v20n1/31716.htm>. Redalyc.uaemex.mx./pdf/422/42280108.pdf. 28 de diciembre del 2010.
24. OMS. ARTICULO DE ROTAVIRUS EN VALENCIA – ESPAÑA. http://www.tesisenxarxa.net/TESIS_UV/AVAILABLE/TDX.../gutierrez.pdf . 28 de diciembre del 2010.

- 25.**ORDOÑEZ. S. C. Incidencia de EDA causadas por Rotavirus en los niños lactantes de servicio de pediatría del Hospital Isidro Ayora de la Ciudad de Loja periodo Noviembre 2006- Abril 2007. 10 de febrero del 2011.
- 26.** BRICEÑO.R.GODOY.Z. Prevalencia de Enfermedades Diarreicas Agudas en niños menores de cinco años del barrio Obrapía de la ciudad de Loja periodo Enero –Junio del 2008. 10 de febrero del 2011.

IX. ANEXOS

ANEXO 1
CONSENTIMIENTO INFORMADO DEL REPRESENTANTE LEGAL DEL
PACIENTE

La presente investigación es conducida por **María Rosalía Alvarado Flores**, Egresada del Área de la Salud Humana, Carrera de Laboratorio Clínico de la Universidad Nacional de Loja.

El propósito de este documento es de obtener el consentimiento de los participantes en esta investigación con una clara explicación de la naturaleza de la misma, así como de su rol en ella como participantes.

Por medio de este documento, Yo como representante legal de ni hijo (el paciente debe escribir su propio nombre).....Otorgo el consentimiento informado para ser participe en el estudio. **"DETERMINACIÓN DE ROTAVIRUS EN NIÑOS DE 0 - 5 AÑOS QUE ACUDEN POR PROBLEMAS GASTROINTESTINALES AL CENTRO DE SALUD Nº 1 DE LA CIUDAD DE LOJA"**.

Este documento es con el fin de obtener su consentimiento con el propósito de conseguir su participación en este estudio de investigación debido a problemas gastrointestinales en niños de 0-5 años producido por el virus de rotavirus.

El encuestador.....me ha explicado los procedimientos y objetivos del estudio. Entiendo que estoy participando en este protocolo de investigación de forma voluntaria. He leído y comprendo la información dada en las hojas que constituyen este documento que ahora estoy firmando.

Desde ya le agradecemos su participación.

ANEXO 2

Loja 21 de octubre del 2010

Dra.

Janeth Remache

DIRECTORA DEL CENTRO DE SALUD N°1 DE LA CIUDAD DE LOJA

Ciudad.-

De mis consideraciones:

Yo, María Rosalía Alvarado Flores, portadora de la cedula de ciudadanía Nro.: 1104741721, me dirijo de la manera más respetuosa con la finalidad de solicitar el permiso correspondiente para la recolección de la muestras de heces de los niños menores de 5 años en el Centro de Salud N°1 para realizar mis prácticas de tesis titulada: ***“DETERMINACIÓN DE ROTAVIRUS EN NIÑOS DE 0-5 AÑOS QUE ACUDEN POR PROBLEMAS GASTROINTESTINALES AL CENTRO DE SALUD N°1 DE LA CIUDAD DE LOJA”***.

Por la atención que se digne dar a la presente, desde ya antelo mis debidos agradecimientos.

Atentamente:

.....

María Rosalía Alvarado Flores

EGRESADA DE LA CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO

ANEXO 3

Loja 21 de octubre del 2010

Lic.

Glenda Rodríguez

**JEFA DEL ÁREA DE LABORATORIO CLÍNICO DEL CENTRO DE SALUD
Nº1 DE LA CIUDAD DE LOJA**

Ciudad.-

Yo, María Rosalía Alvarado Flores, portadora de la cedula de ciudadanía Nro.: 1104741721, me dirijo de la manera más respetuosa con la finalidad de solicitar el espacio físico correspondiente, para la recolección y procesamiento de las muestra de heces, para realizar mi tesis titulada: "***DETERMINACIÓN DE ROTAVIRUS EN NIÑOS DE 0-5 AÑOS QUE ACUDEN POR PROBLEMAS GASTROINTESTINALES AL CENTRO DE SALUD Nº1 DE LA CIUDAD DE LOJA***".

Por la atención que se digne dar a la presente, desde ya antelo mis debidos agradecimientos.

Atentamente:

.....

María Rosalía Alvarado Flores

EGRESADA DE LA CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO

ANEXO 4

PROTOCOLO PARA LA REALIZACIÓN DEL ANÁLISIS DE ROTAVIRUS

Spin-Rotavirus

One step – cassette

PRINCIPIO DEL MÉTODO

Este es un inmunoensayo cromatográfico. 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 "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 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.

REACTIVOS Y MATERIAL PROPORCIONADO

20 placas en un sobre sellado incluyendo desecante.

20 tubos para la toma de muestra, cada tubo contiene el tampón de extracción

MATERIAL NECESARIO NO SUMINISTRADO

- Contenedores para la toma de muestra
- Cronómetro
- Guantes desechables.

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

El kit es estable hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta, si se conserva a una temperatura ambiente controlada de 2-30° C, sellado y con el desecante adentro del sobre. No congelar ni exponer a temperaturas superiores a 30°C.

TOMA DE MUESTRA

Las muestras (no utilizar muestras acuosas o diarreicas) deben ser recogidas en un recipiente limpio y la prueba debe realizarse lo más pronto posible después de la recogida. Las muestras se pueden conservar, hasta el momento de utilizarlas, 1 o 2 días a 2-4°C. 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):

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.

Se introduce el palito en el tampón de extracción, para dilución de la muestra, cerrando el tubo.

Agitar para facilitar la dispersión de la muestra.



PRECAUCIONES

1. Se deben seguir las instrucciones incluidas en el kit para obtener resultados fiables.
2. No usar tests caducados.
3. Tomar las precauciones necesarias durante la toma de muestra y su manipulación;
Tratar muestra y material de ensayo como potencialmente infeccioso.
4. Para cada muestra, utilizar una pipeta desechable y una placa. No reutilizar la pipeta ni la placa.
5. Los tests usados deben ser gestionados como residuos sanitarios (contenedor de residuos sanitarios).

PROCEDIMIENTO

1. Atemperar (15-30°C) la muestra y los otros materiales necesarios para el

test, incluidos los dispositivos, antes realizar el ensayo.

2. Para cada muestra o control se debe usar un tubo de dilución de la muestra y un dispositivo diferente. Identificar cada uno con los datos de la muestra.
3. Agitar el tubo de dilución de la muestra para asegurar una buena dispersión.

Romper el extremo superior del tubo (4).

4. Extraer el dispositivo de reacción de su envase para utilizarlo inmediatamente.

Depositar 5 gotas o 150 uL del líquido de extracción en la ventana circular del dispositivo marcada con una flecha o una S, evitando añadir partículas sólidas con el líquido (5).

5. Si se da el caso de que el test no funciona debido a la presencia de partículas sólidas en la ventana circular, retirarlas y añadir una gota de tampón hasta que se vea avanzar al líquido (zona de reacción y de control).
6. Leer el resultado del test a los 10 minutos tras la adición de la muestra.

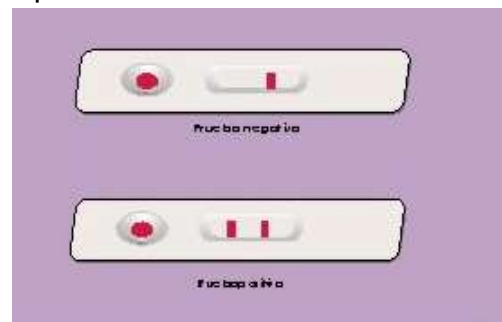
INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

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

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

INVÁLIDO: Cuando la línea de control (VERDE) no aparece independientemente de que aparezca o no la línea de resultado (ROJA). 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.

NOTA: La intensidad de la línea roja en la zona de resultado 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

Control de calidad interno

El test contiene un control de calidad interno, la línea verde que aparece en la zona de control (C).

La presencia de esta línea indica que se ha usado un volumen correcto de muestra y el procedimiento seguido ha sido el adecuado.

La claridad del fondo de la ventana es también un control interno. Si el test funciona correctamente, este fondo estará claro y no interferirá con la lectura del resultado.

Control de Calidad externo

Se recomienda controles externos, positivos y negativos para controlar el desarrollo del ensayo.

CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO

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

Sensibilidad:

La detección de Rotavirus presenta un 100% de concordancia en sensibilidad.

Especificidad:

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

ANEXO 5
ENCUESTA A LOS PADRES DE FAMILIA EN ESTUDIO

Yo, María Rosalía Alvarado Flores egresada de la Carrera de Laboratorio Clínico solicito a ustedes padres de familia muy comedidamente se dignen a contestar las siguientes preguntas, con la finalidad de tener datos de sus niños mediante una encuesta referente al siguiente tema que se titula “DETERMINACIÓN DE ROTAVIRUS EN NIÑOS DE 0 – 5 AÑOS QUE ACUDEN POR PROBLEMAS GASTROINTESTINALES AL CENTRO DE SALUD N° 1 DE LA CIUDAD DE LOJA”.

Desde ya les anticipo mis más sinceros agradecimientos.

Atentamente:

.....
María Rosalía Alvarado Flores

DATOS INFORMATIVOS:

Nombre: **Edad:**.....

Sexo:

Femenino ()

Masculino ()

Domicilio:.....Urbana. () Rural. ()

1. De donde proviene el agua que utiliza para su consumo diario.

- Entubada ()
- Pozo ()
- Quebrada ()
- Potable ()

2. Que tratamiento le da al agua para su consumo.

- Cloro ()
- Hierve el agua ()
- Ninguna ()

3. Lava los alimentos al ingerirlos.

- Si ()
- No ()
- A veces ()

4. Se lava las manos al salir de baño.

- Si ()
- No ()
- A veces ()

5. En donde hace la eliminación de la basura.

- Recolector de la basura ()
- La entierra ()
- La quema ()
- La bota al aire libre ()

6. Cuantas veces a asistido al Centro de Salud cuando su niño a reincidido con infecciones por Rotavirus.

- De 1 a 2 veces ()
- De 3 a 4 veces ()
- Más de 4 veces ()

7. El niño a presentado síntomas como:

- Diarrea ()
- Vomito. ()
- Fiebre. ()
- Dolor abdominal. ()
- Deshidratación ()

8. Después del último tratamiento sobre la determinación del rotavirus a vuelto el niño a incidir en infecciones de tipo diarreico.

- Si ()
- No ()

GRACIAS POR SU COLABORACIÓN

ANEXO 7
FORMULARIO DE ENTREGA DE RESULTADOS.

Nombres del Paciente:.....

Fecha:.....

DETERMINACIÓN DE ANTI- ROTAVIRUS

RESULTADO:

Positivo

Negativo

.....
FIRMA DEL RESPONSABLE DEL LABORATORIO

ÁREA DE RECOLECCIÓN DE LA MUESTRAS



OBTENCIÓN DE LA MUESTRA DE HECES EN NIÑOS MENORES DE 5 AÑOS CON PROBLEMAS GASTROINTESTINALES

Muestra
para su
análisis

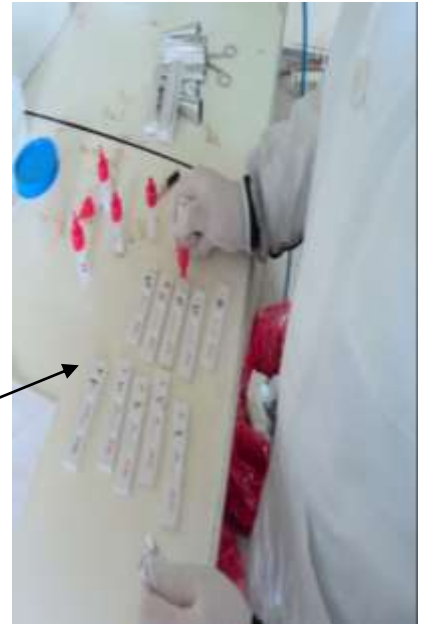


PREPARACIÓN DE LOS MATERIALES PARA EL PROCESAMIENTO DE LA MUESTRA

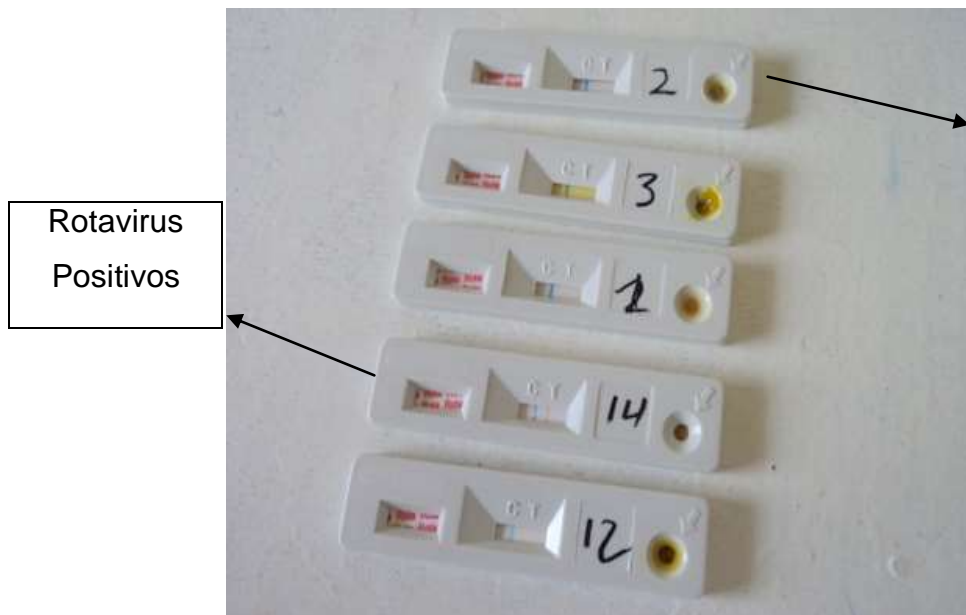


Rotulamos los cassette de Rotavirus

Colocamos 3 gotas de la dilución y esperamos 5 minutos



DESPUÉS DE QUE HAYA TRASCURRIDO EL TIEMPO OBSERVAMOS EL RESULTADO



Rotavirus Positivos

Rotavirus Negativo

CHARLAS BRINDADAS A LOS PADRES DE FAMILIA SOBRE PROBLEMAS GASTROINTESTINALES POR ROTAVIRUS EN NIÑOS MENORES DE 5 AÑOS



CHARLAS BRINDADAS A LOS PROFESIONALES DEL SALUD DEL CENTRO DE SALUD Nº1 SOBRE PROBLEMAS GASTROINTESTINALE POR ROTAVIRUS EN NIÑOS MENORES DE 5 AÑOS



ENTREGA DE TRÍPTICOS



La Carrera de Laboratorio Clínico del Área de la Salud Humana de la Universidad Nacional de Loja es una unidad académica que forma profesionales de tercer nivel en ciencias de la Salud, con principios humanistas y valores éticos con elevado poder resolutivo en sus práctica profesionales e involucrados en el desarrollo comunitario; generando nuevos conocimientos científicos y rescatando los saberes ancestrales en la salud, con una infraestructura física funcional, equipamiento acorde a los avances tecnológicos, propiciando la generación, sistematización y difusión de los conocimientos científicos, técnicos, ejecutando proyectos de investigación e intersectoriales a nivel local, regional y nacional.



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

**DETERMINACIÓN DE ROTAVIRUS EN NIÑOS
MENORES DE CINCO AÑOS MEDIANTE LA
PRUEBA DE INMUNOCROMATOGRAFÍA**

AUTORA
María Rosalía Alvarado Flores

ENERO DEL 2010

LOJA – ECUADOR

1859

ROTAVIRUS

El rotavirus es un género de virus perteneciente a la familia Reoviridae, se han identificado siete grupos, tres de los cuales (Grupo A, B y C) infectan a los humanos.



VÍA DE INFECCIÓN

El virus afecta principalmente, al estómago y al intestino, provocando gastroenteritis aguda.

EPIDEMIOLOGIA

Los rotavirus son unas de las causas más habituales de diarreas graves en niños pequeños a nivel mundial, afectan a más de 18 millones de lactantes y niños, causan alrededor de un millón de muertes anuales por deshidratación. El cuadro más grave aparece en niños con desnutrición grave, la diarrea por rotavirus es una

enfermedad grave y muy contagiosa, con riesgo de muerte para los lactantes de los países en vías de desarrollo y se registran durante todo el año.

MANIFESTACIÓN CLÍNICA SIGNOS Y SÍNTOMAS.

El periodo de incubación del virus es de 1 a 4 días, esta enfermedad tiene un comienzo brusco de vómitos que dura 24-48 horas y fiebre, seguido por diarrea acuosa abundante, que dura aproximadamente 5 días.

La sintomatología puede variar de leves a severos, los síntomas más comunes del rotavirus pueden incluir:

- Fiebre que normalmente disminuye en los primeros dos días
- Náuseas y vómitos
- Dolor abdominal
- Diarrea (usualmente acuosa y frecuente puede durar entre tres y ocho días)

- Deshidratación que puede ocurrir rápidamente especialmente en los lactantes.

Los síntomas de la deshidratación pueden incluir:

- Sed
- Piel pálida
- Ojos profundamente hundidos
- Lagrimas escasa o ausente.

ENFERMEDADES CLÍNICAS

Los rotavirus causan principalmente gastroenteritis, el periodo de la incubación de la diarrea asociada a los rotavirus se estima en 48 horas, las diarreas que presentan los niños no se encuentra leucocitos ni sangre en heces.

DETERMINACIÓN DE ROTAVIRUS POR INMUNOCROMATOGRAFIA

La inmunocromatografía es una de las técnicas de inmunodiagnóstico más modernas cuya principales ventajas son la sencillez, rapidez y son confiables debido a su alta sensibilidad del 100% y una especificidad del 98%.