



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA**  
**AREA DE LA SALUD HUMANA**

**CARRERA DE MEDICINA**

**TEMA:**

**DETERMINACION DE ROTAVIRUS EN NIÑOS  
(AS) CON ENFERMEDAD DIARREICA AGUDA  
DE LA CIUDAD DE LOJA.**

TESIS DE GRADO PREVIA A  
LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO  
DE MÉDICO GENERAL

**AUTORA:**

*Paulina Maribel Ochoa Vargas*

**DIRECTOR:**

*Dr. Miguel Marín*

**LOJA-ECUADOR**

**2012**

# TEMA

DETERMINACIÓN DE ROTAVIRUS EN NIÑOS/AS CON  
ENFERMEDAD DIARREICA AGUDA DE LA CIUDAD DE LOJA.

## **AUTORÍA**

Las opiniones, comentarios, descripciones, conceptos, conclusiones y recomendaciones vertidas en el presente trabajo investigativo son de responsabilidad exclusiva de la autora.

PAULINA MARIBEL OCHOA VARGAS

CI: 1104612534

## **CERTIFICACIÓN**

Dr. Miguel Marín

**DOCENTE DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA.**

**DIRECTOR DE TESIS.**

Certifico:

Que el trabajo de investigación titulado: DETERMINACIÓN DE ROTAVIRUS EN NIÑOS (AS) CON ENFERMEDAD DIARREICA AGUDA DE LA CIUDAD DE LOJA, elaborado por la Srta. Paulina Maribel Ochoa Vargas, ha sido revisado y se ajusta a los requisitos legales exigidos por la Carrera de Medicina del Área de la Salud Humana, por lo que autorizo su presentación.

Dr. Miguel Marín

**DIRECTOR DE TESIS**

## **AGRADECIMIENTO**

Mis más profundo agradecimiento primeramente a Dios, quién ha permitido que poco a poco se cumplan mis ideales, gracias a que siempre ha sido mi guía y fortaleza.

De manera especial agradezco a mi abuelita por su apoyo incondicional tanto moral como económico que han hecho posible la realización del presente trabajo investigativo.

A la Universidad Nacional de Loja, de manera particular a la Carrera de Medicina por permitirme terminar mi formación académica en sus aulas y además a sus docentes los mismos que tienen una alta formación profesional para aportar con el país formando profesionales capaces de desenvolverse dentro de su profesión en cualquier ámbito de trabajo.

Mi más sincero agradecimiento a mi Director de tesis, por su valiosa asesoría, dedicación, paciencia, y conocimientos impartidos, que me ayudaron a desarrollar de manera eficiente mi tesis.

Para culminar agradezco al Centro de Salud N°1 de la Ciudad de Loja y a sus pacientes por permitirme el desarrollo de mi tesis y colaborar con todo lo necesario para su culminación.

## DEDICATORIA

Este trabajo va dedicado con amor y esfuerzo al ser más sublime, **DIOS**, por concederme la vida y permitirme escalar un peldaño más de mis grandes sueños.

A mi querida familia, por haber sembrado en mí el deseo de superación personal y profesional, quien me impulsó con su apoyo incondicional para convertir todas mis aspiraciones en realidad.

Con el mismo cariño dedico este trabajo a quien amo profundamente, mis abuelitos, por tenerme paciencia y por estar siempre a mi lado.

A todas las personas que estuvieron conmigo en cada momento con sus palabras de motivación, brindándome su apoyo y cariño, para todos ustedes los frutos de esta gran experiencia.

PAULINA MARIBEL

## INDICE

<b>CONTENIDOS</b>	<b>Págs.</b>
Título.....	I
Autoría.....	II
Certificación.....	III
Agradecimiento.....	IV
Dedicatoria.....	V
Índice.....	VI
Resumen.....	1
Summary.....	3
Introducción.....	5
Revisión de Literatura.....	9
Materiales y Métodos.....	36
Resultados.....	41
Discusión.....	48
Conclusiones.....	52
Recomendaciones.....	54
Bibliografía.....	56
ANEXOS.....	60

# RESUMEN



## RESUMEN

Aunque la mortalidad y morbilidad por Enfermedad Diarreica Aguda (EDA) por Rotavirus ha disminuido significativamente en las últimas décadas, la diarrea sigue siendo un problema global de salud pública con un mayor impacto en países en vías de desarrollo, en donde esta enfermedad constituye una de las principales causas de morbimortalidad infantil.

El objetivo de este trabajo fue determinar rotavirus en los menores de 5 años en el Área de Salud N° 1 de la Ciudad de Loja, y los principales signos y síntomas de EDA por Rotavirus, para representar estadísticas actualizadas de esta patología en nuestra población lojana.

Dentro de la encuesta se investigó variables como: la edad, sexo, el método de diagnóstico clínico y de laboratorio; para la confirmación del etiológico y conocimiento de las personas más propensas a la enfermedad. Para ello se diseñó un estudio descriptivo de cohorte transversal, se empleó como área de investigación el Centro de Salud N° 1 de la Ciudad de Loja durante los meses Julio-Septiembre 2012. Para la investigación se utilizó una población de 60 niños/as menores de cinco años que habían asistido a la consulta con diagnóstico de síndrome diarreico agudo.

De estos, se determinó que 29 pacientes menores de 5 años eran positivos mediante el diagnóstico con la prueba de inmunocromatografía en heces fecales, correspondiendo a un porcentaje del 48%. Del total de la población, la

edad pediátrica para casos positivos de rotavirus, lo constituyen los niños/as en edades 13 meses a 24 meses. En este estudio el resultado del trabajo de campo determino que las niñas fueron más afectadas que los niños.

Los resultados encontrados afirman la presencia del etiológico rotavirus en los niños/as atendidos en el Centro de Salud N°1 confirmando de esta manera su presencia y frecuencia aunque en menor proporción que en años anteriores como lo indican otros trabajos investigativos previos a este sobre el mismo tema.

**Palabras clave:**

- Enfermedad Diarreica Aguda
- Rotavirus
- Inmunocromatografía en heces.

# SUMMARY

## **SUMMARY**

Although mortality and morbidity from rotavirus acute diarrhea has decreased significantly in recent decades, diarrhea remains a global public health problem with a greater impact in developing countries where the disease is a major cause of infant morbidity and mortality.

The aim of this work was to rotavirus in children under 5 years in the health area No.1 in the city of Loja, and the mainsigns and symptoms of rotavirus EDA, to represent significant treat statistics of this disease in lojana our population.

We investigated variables such as age, sex, and clinical diagnostic method used for laboratory confirmation of a etiology.

We designed a descriptive cross-sectional area was used as a health research center No 1 in the city of Loja, was used to investigate a population of 60 children under five who attended the consultation diagnosed with acute diarrhea. Of these, it was determined that 29 patients under age 5 were positive by clinical diagnosis and laboratory method corresponding to a percentage of 48%.

The latter only found as a technique for determining the immunochromatography Rotavirus in feces as it is the only technical study found in our population. The most frequent age was that of female patients aged 13 a 24 months, according to sex was observed that most of the female type.

The results affirm the presence of rotavirus in children etiologic/ asseen att he Health Center No.1 thus confirming his presence and although less frequently.

**Keywords:**

- Acute Diarrheal Diseases
- Rotavirus
- Fecal Immunochromatography.

# INTRODUCCIÓN

## INTRODUCCIÓN

Las enfermedades diarreicas agudas (EDA) constituyen un problema importante de salud pública en el mundo. Afectan a todos los grupos de edad, sin embargo, los más vulnerables son los menores de cinco años, estadísticas de Ecuador señalan que en el año 2003, el 80 % de los niños que murieron por EDA recibieron por lo menos una atención médica y más del 61% de las defunciones ocurrieron en el hogar.(1)

De acuerdo con estudios efectuados por la Organización Mundial de la Salud (OMS) y el Fondo de las Naciones Unidas para la Infancia (UNICEF), en la Región de las Américas, más de una de cada tres muertes de niños de esta edad son ocasionadas por estas enfermedades, fundamentalmente infecciosas y trastornos nutricionales; los factores asociados a un mayor riesgo de enfermar e incluso de morir por enfermedades diarreicas son: la higiene personal deficiente, desnutrición proteico energética, ausencia o prácticas inapropiadas de lactancia materna, peso bajo al nacimiento, esquema de vacunación incompleto, falta de capacitación de la madre para la higiene familiar, madres adolescentes, contaminación fecal del agua y de alimentos, deficiencia de vitamina A. (2)

Aunque la mortalidad y morbilidad por Enfermedad Diarreica Aguda (EDA) ha disminuido significativamente en las últimas décadas, la diarrea sigue siendo un problema global de salud pública con un mayor impacto en países en vías de desarrollo en donde esta enfermedad constituye una de las principales causas de morbi-mortalidad infantil. La OMS estima que en el mundo ocurren aproximadamente 100 millones de episodios diarreicos al año y cinco millones

aproximadamente de fallecimientos infantiles por esta causa. De estos, la EDA por Rotavirus constituye uno de los agentes etiológicos virales más importantes de la diarrea infantil en todo el mundo siendo responsable por 1 de cada 20 muertes infantiles en el mundo en vías de desarrollo. (2)

En América Latina se indica que el síndrome diarreico por rotavirus es responsable de 75.000 hospitalizaciones y 15.000 muertes anuales, explicando del 10 - 20% de muertes asociadas con gastroenteritis. (3)

El Síndrome Diarreico Agudo por Rotavirus es una enfermedad caracterizada por diarrea aguda grave asociada o no con vómitos que pueden producir deshidratación, el choque y la muerte. (4)

La principal ruta de transmisión de los rotavirus es la vía fecal-oral, aunque también se ha especulado que el contacto persona a persona, el contacto con secreciones respiratorias, y/o el contacto con superficies contaminadas pudieran ser fuentes de transmisión, ya que los altos índices de infección por este virus en los primeros tres años de vida en todo el mundo son independientes de las condiciones higiénicas y sanitarias. (5)

Con el presente trabajo se procedió a la realización de un estudio de carácter descriptivo y cohorte transversal en los pacientes menores de 5 años que acudieron a consulta en el Centro de Salud N°1 de la Ciudad de Loja, con la finalidad de determinar la presencia de rotavirus en la población infantil antes mencionada, partiendo del siguiente objetivo general. **Determinar la presencia de rotavirus en niños menores de 5 años con EDA que acuden**



a recibir atención en el Centro de Salud N° 1 de la Ciudad de Loja. Y los objetivos específicos.

- **Determinar rotavirus mediante la prueba de inmunocromatografía en materia fecal de niños/as menores de 5 años de edad.**
- **Conocer los signos y síntomas más frecuentes en el grupo de niños menores de 5 años con Enfermedad Diarreica Aguda.**
- **Definir el género y edad en que se presenta con más frecuencia el padecimiento de rotavirus.**
- **Identificar los factores predisponentes de EDA por Rotavirus.**

Estos objetivos fueron logrados gracias a prueba de Inmunocromatografía en heces fecales, la aplicación de una encuesta y la recopilación de datos clínicos del expediente médico.

Una vez establecidos los datos, se trató de agruparlos de acuerdo a la edad pediátrica y el género. Los datos así obtenidos fueron analizados y tabulados mediante el uso de programas de computadora para establecer las respectivas frecuencias y porcentajes.

Luego de realizado el presente estudio se obtuvo que del total de niños/as (60) a quienes se les realizó la determinación de Rotavirus, 29 resultaron positivos a la prueba inmunocromatográfica lo que corresponde al 48 % del total de la población, y el género con mayor frecuencia de EDA fueron las mujeres con un 72% y en menor proporción 8 varones con 28%, en edades comprendidas de 0 a 24 meses, predominando la edad de 13 a 24 meses; los signos y síntomas

más frecuentes fueron el primer lugar la diarrea 29 niños/as 100%, 20 presentaron vómitos 69%, los factores de riesgo para EDA en estos niños /as fueron deficiencia de educación e higiene en un 64 %, inadecuadas condiciones ambientales 18%, prácticas inadecuadas de lactancia 11%, esquema de vacunación incompleto 7% .

# REVISIÓN DE LITERATURA

## **MARCO TEÓRICO**

### **SINDROME DIARREICO AGUDO POR ROTAVIRUS**

#### **GENERALIDADES**

La diarrea aguda, actualmente sigue constituyendo un gran problema de salud pública en la mayoría de los países en desarrollo siendo causa de importante morbimortalidad durante la infancia, especialmente por su relación con la desnutrición y los altos costos que implica para los sistemas de salud por su alta demanda de atenciones ambulatorias y hospitalizaciones.(8)

La Organización Mundial de la Salud (OMS) estima que cada año se presentan alrededor de 100 millones de episodios de diarrea aguda en niños menores de cinco años en países en desarrollo y 5 millones de muertes infantiles se deben por esta causa; esta, a su vez relacionada en el 50-70% de los casos con deshidratación.(2)

Desde 1973 se identificó al rotavirus como uno de los agentes causante de diarrea más importantes de gastroenteritis en lactantes y niños pequeños; 3 estimaciones de la Organización Mundial de la Salud indican que alrededor de 440.000 niños menores de 5 años mueren al año debido a la infección producida por rotavirus tanto en países desarrollados como en los países en vías de desarrollo, explicando en estos últimos el 10 - 20% de muertes asociadas con gastroenteritis infecciosa. (6)

Los factores de riesgo para la presentación de esta entidad se asocian a deficiencias higiénicas que facilitan la transmisión fecal-oral, niños de

guarderías, individuos que migran a países en vías de desarrollo o áreas insalubres. Otro grupo lo constituyen los niños inmunocomprometidos en quienes la diarrea se prolonga, complicaciones y excreción prolongada, así como desnutrición severa.

## **HISTORIA Y ETIMOLOGIA**

En el año de 1929, Zahorsky describió la “enfermedad de vómitos invernales”, la cual en su estudio de forma retrospectiva, probablemente correspondía en su mayor parte a gastroenteritis por rotavirus. Los rotavirus en humanos fueron inicialmente descritos en 1973 por Ruth Bishop y colaboradores en Australia, quienes encontraron la presencia de partículas virales al observar al microscopio electrónico biopsias de Intestino delgado de niños entre los 6 meses a 9 meses de edad que tenían diarrea aguda severa de origen no bacteriano. La literatura inicial les dio nombres como reovirus, orbivirus, duovirus y virus de la gastroenteritis infantil. Como resultado y en base a la morfología de estos virus, cuya apariencia al microscopio electrónico era la de una rueda de carreta antigua, estos virus fueron bautizados con el nombre de rotavirus, del latín rota, que quiere decir rueda.

Inicialmente resultó más fácil adaptar a crecer en cultivo de tejidos a varios tipos de rotavirus aislados de animales, a diferencia de los rotavirus aislados de humanos que resultaron ser difíciles de adaptar, por lo que el conocimiento de la bioquímica y la biología molecular de los rotavirus aislados de animales avanzó mucho más rápidamente. Sin embargo, los conocimientos que hemos adquirido en estas áreas estudiando a los rotavirus aislados de especies animales se han podido extrapolar, en general, a los rotavirus aislados de

humanos. Dentro de las cepas de rotavirus más estudiadas se encuentran dos cepas provenientes de simio; el rotavirus SA11 (Simian Agent-11), aislado de un mono verde africano y el rotavirus RRV (rhesus rotavirus), aislado de un mono rhesus. La mayoría de la información es extrapolable, en lo general, a la gran mayoría de las cepas de rotavirus del grupo A. Desde entonces, estos virus han sido reconocidos como el principal agente etiológico de las gastroenteritis virales en las crías de un gran número de mamíferos (incluyendo al hombre), y de aves, y también se ha generado una gran cantidad de información sobre las propiedades biológicas y epidemiológicas de estos virus. (10)

## **EPIDEMIOLOGÍA**

Si bien en las dos últimas décadas, la mortalidad infantil por diarrea en el mundo disminuyó de 4,6 millones de muertes anuales estimadas a 1,56 millones, el rotavirus sigue siendo considerado como la causa principal de gastroenteritis grave en la infancia en el mundo. Los investigadores aun no tienen un panorama completo del alcance real. La vigilancia hospitalaria ha sido irregular y los cálculos de la prevalencia mundial dependen de informes de más de 15 años de antigüedad. Pero, actualmente, los investigadores en muchas partes del mundo están intensificando sus esfuerzos para obtener un panorama actualizado de dicha prevalencia y de establecer mapas epidemiológicos sobre la distribución mundial de esta epidemia. (11)

Actualmente se considera, que el Síndrome Diarreico Agudo por Rotavirus, cobra la vida de más de 600.000 niños todos los años, más de 80% en los países en desarrollo, considerándose la principal causa de hospitalización y la

única causa más importante de muertes por diarrea en los niños de hasta cinco años de edad en el mundo, siendo responsable de 75.000 hospitalizaciones y 15.000 muertes anuales en América Latina. En países en vía de desarrollo los rotavirus explican del 10 - 20% de muertes asociadas con gastroenteritis.

El Dr. Umesh Parashar et al, de los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades de Estados Unidos, presentó y publicó durante el sexto simposio internacional sobre rotavirus, datos nuevos que sugieren que la cantidad de muertes anuales en relación con el rotavirus de niños menores de 5 años de edad alcanza 608.400 o 39% de las muertes a raíz de la diarrea. Esto es considerablemente superior al cálculo mundial anterior de 440.000 muertes infantiles o 22% de las muertes a raíz de diarrea dictadas anteriormente por la OMS. Si bien las cifras nuevas se basaron en un examen riguroso de los estudios publicados a partir de 2000, el cálculo anterior utilizó estudios llevados a cabo entre 1986 y 1999. El nuevo análisis comprendió 41 estudios, 18 de los cuales de países de ingresos bajos, y medianos, y cada uno con 100 pacientes como mínimo.

Determinó que 39% de los niños con diarrea grave estaban infectados por el rotavirus. En consecuencia, se calculó el número total de muertes en relación con el rotavirus en el orden de 39% del 1,56 millones de muertes infantiles anuales debido a la diarrea, o 608.400. Las explicaciones posibles para las tasas más altas en estudios más recientes, se debieron al uso de mejores métodos de detección y la posibilidad de que la higiene y el saneamiento mejorados hayan reducido las diarreas bacterianas y parasitarias más que las diarreas víricas.

Además, se estableció que los distintos Centros de Salud en mayor y menor medida, ofrecen los controles de prevalencia adecuados de anticuerpos en sueros de los niños en casi todo el ámbito mundial, casi todos los niños están infectados por rotavirus en los 3 primeros años de vida, siendo su mayor incidencia entre los lactantes y preescolares (6 a 24 meses de edad). Se determinó que de acuerdo al sexo no existe un predominio claro, aunque estudios actuales propuestos en el sexto simposio sobre rotavirus revelaron una inclinación sobre el sexo masculino que el femenino. Se ha identificado a rotavirus todo el año con incidencia mayor en otoño e invierno. (12)

Su mecanismo de transmisión es fecal oral, aunque también se ha postulado la vía respiratoria.

El periodo de incubación es de 1 a 3 días y su excreción de 8 a 15 días; el reservorio para la persistencia de rotavirus entre las epidemias invernales aun es desconocido. Actualmente se han identificado 7 grupos de rotavirus de la A-G, de los cuales sólo los grupos A, B y C se han asociado a gastroenteritis en humanos y la mayoría de los casos se han asociado a cepas del grupo A, basándose en la serotipificación la glicoproteína vp7 y vp4 que constituyen la hemaglutina del virus y la probable proteína de fijación. Los rotavirus son relativamente resistentes a los desinfectantes utilizados habitualmente para superficies duras y a los aspectos higiénicos para el lavado de manos, pero son inactivados por cloro y dióxido de cloro.

### **AGENTE ETIOLÓGICO**

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



- a) Las partículas virales tienen una geometría icosaédrica.
- b) No están envueltos por una membrana lipídica.
- c) Tienen un genoma compuesto por segmentos de ARN de doble cadena.
- d) El ARN genómico no es infeccioso per se en ausencia de las proteínas virales.
- e) La partícula viral contiene todas las enzimas necesarias para la producción de sus ARNs mensajeros.
- f) La replicación viral se lleva a cabo exclusivamente en el citoplasma de la célula. (13)

### **ESTRUCTURA DE LA PARTICULA VIRAL**

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 RV. Estudios realizados recientemente, utilizando criomicroscopía electrónica y reconstrucción de imágenes, han permitido realizar análisis detallados de las características estructurales de la partícula viral ó virión, con una resolución de aproximadamente 26 Å. (10)

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. (15)

Los estudios de criomicroscopía electrónica han revelado que estos segmentos de ARN parecen estar también ordenados geoméricamente dentro de la partícula, y se ha propuesto que de los aproximadamente 18,500 pares de bases que constituyen al genoma viral, cerca de 4,500 pb están organizados con una simetría que parece depender del ensamble icosaédrico de VP2, la cual al hacer contacto con los segmentos de ARN, induce en estos su organización. Tomando en conjunto todas estas observaciones, se ha sugerido que las proteínas VP1, VP2 y VP3 están involucradas en la organización del genoma dentro de la nucleocápside mediante interacciones ARN-proteína.

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 co-expresión de los genes que codifican para cada una de estas proteínas (VP2, VP6, VP4 y VP7), en sistemas de expresión heterólogos, como el sistema de células de insecto infectadas con baculovirus recombinantes. Estos experimentos también han demostrado que las proteínas virales tienen la habilidad intrínseca de auto-ensamblarse. (14)

Por criomicroscopía electrónica se ha observado que la partícula viral completa contiene 132 canales acuosos, que han sido clasificados en tres grupos (I, II y III) dependiendo de sus características de simetría y tamaño. 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. De hecho, recientemente al observar por criomicroscopía electrónica partículas virales activas en el proceso de transcripción, se ha encontrado que 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. (16)

## **FISICO QUÍMICAS Y FUNCIONALES DE LA PARTICULA VIRAL**

Existen dos tipos de partículas virales con diferentes características estructurales y funcionales:

- a. La partícula completa, que contiene las tres capas proteicas, es también llamada TLP (Triple-Layered Particle); esta es la partícula infecciosa ya que la presencia de la capa externa formada por las proteínas VP4 y VP7 le permite unirse y penetrar a su célula huésped.
- b. La partícula que contiene dos capas proteicas o DLP (Doble-Layered Particle); esta partícula no es infecciosa, pero es activa transcripcionalmente.
- c. Las partículas que contienen una sola capa de proteínas, o nucleocápsides, que tienen la actividad de replicar al genoma viral.

Además de tener diferentes actividades biológicas, estas partículas tienen diferentes propiedades fisicoquímicas. Entre estas vale la pena mencionar el hecho de que tienen diferentes densidades, lo que nos permite separarlas mediante gradientes de cloruro de cesio. También, dada su diferencia en tamaño, estos tres tipos de partículas pueden ser separadas mediante electroforesis en gel de agarosa.

Las partículas de rotavirus son relativamente estables. Las partículas virales son funcionales en un rango de pH de 3 a 9, y el virus es estable por meses a 40°C, y aún a 200°C cuando se mantiene en 1.5 mM de calcio. La partícula completa mantiene su integridad y su infectividad cuando es tratada con solvente orgánico tales como éter, cloroformo o freón, lo que refleja la ausencia de lípidos en su estructura. Pero pierde su infectividad al ser tratada con

desinfectantes tales como formalina, cloro, betapropiolactona y etanol al 95%, quizás por la pérdida de la capa externa. (17)

## **TRANSMISIÓN**

La principal ruta de transmisión de los rotavirus es la vía fecal-oral, aunque también se ha especulado que el contacto persona a persona, el contacto con secreciones respiratorias, y/o el contacto con superficies contaminadas pudieran ser fuentes de transmisión, ya que los altos índices de infección por este virus en los primeros tres años de vida en todo el mundo son independientes de las condiciones higiénicas y sanitarias. También se han descrito brotes en guarderías y residencias de ancianos.

La infección es especie-específica (RV-humano); ya que la transmisión de rotavirus entre el hombre y animales no ha sido documentada, en investigaciones aleatorias realizadas en epidemias de diarrea por RV que se presentaron en Australia, EE.UU., Israel, Japón, Tailandia y Brasil entre 1974 y 1993, caracterizadas por manifestaciones clínicas severas, en niños menores de 5 años de edad; se encontró que algunas de las cepas infectantes tuvieron una marcada homología genética mayor del 90% con cepas provenientes de gatos, perros, cerdos, vacas y caballos.

La presencia de RV de animales en estas epidemias presupone que la transmisión interespecies de este agente puede estar ocurriendo de manera natural y pudiera estar participando en forma importante en la evolución de los RV. Sin embargo, a pesar de la alta homología genética con las cepas aisladas en animales, la transmisión de una especie a otra no se ha podido comprobar en la naturaleza. (19)

## **PATOGENIA**

Este virus infecta y destruye en forma selectiva a las vellosidades del intestino delgado con aplanamiento de las vellosidades y un infiltrado por las células redondas en la lámina propia en el intestino delgado, a nivel de los enterocitos de la parte superior de las vellosidades con células diferenciadas que tiene funciones digestivas como de hidrólisis de los disacáridos, de absorción, transporte de agua y electrolitos mediante los cotransportadores de glucosa y aminoácidos; por lo tanto la infección por rotavirus conduce a desequilibrio, de absorción/secreción de líquidos intestinal es una mala absorción de carbohidratos, sobre todo de la lactosa.

Recientemente se ha propuesto que, al menos en parte, la diarrea es causada por la proteína no estructural NSP4 que estimula la secreción trans-epitelial de cloro, por una vía dependiente de calcio, lo que desequilibra el balance iónico de la célula y provoca la salida de agua. Aparentemente, todo esto sucede previo a la destrucción del epitelio intestinal por la replicación viral. De hecho, se ha propuesto que la proteína NSP4 pudiese representar la primera enterotoxina viral descrita.

También recientemente, se ha involucrado al sistema nervioso entérico como responsable de inducir una salida aumentada de fluido y electrolitos de las células de las criptas intestinales. Estos mecanismos de inducción de la diarrea podrían sugerir nuevas estrategias para prevenir o controlar la enfermedad causada por los rotavirus.

Además del papel que las proteínas de superficie juegan en la primera fase de la infección viral, éstas contienen determinantes antigénicos que representan

blancos importantes del sistema inmune. Anticuerpos dirigidos contra cualquiera de las dos proteínas de superficie neutralizan al virus in vitro y son capaces de proteger pasivamente a ratones contra la infección por rotavirus. La infección oral con rotavirus estimula una inmunidad protectora que puede estar mediada por VP7 y/o VP4. (18)

Aunque se sabe poco de la inmunidad celular, ésta parece también tener un papel importante en la protección o cuando menos en la resolución de la infección, aunque no es claro cuál o cuáles de las proteínas virales la inducen.

El Dr. Richard Ward, Director del Centro Médico del Hospital Infantil de Cincinnati EEUU, describió durante el VI simposio Internacional sobre rotavirus, el espectro pleno de la enfermedad asociada con este agente biótico. Afirmó que si bien habitualmente produce gastroenteritis, en ocasiones inusuales el rotavirus es causa de infecciones de las vías respiratorias superiores e inferiores, abscesos hepáticos, pancreatitis, diabetes, invaginación intestinal y atresia biliar.

Destacó que de todas las cepas del rotavirus evaluadas en ratones, sólo las cepas G3, de rotavirus de Macaca mulatta (RRV, por sus siglas en inglés), se reproducen fuera del intestino e inducen enfermedades como hepatitis y atresia biliar. RRV es la misma cepa del rotavirus que se utilizó en la vacuna de Rota Shield, la cual se retiró del mercado después de que se la asociara con un riesgo levemente elevado de invaginación intestinal en los lactantes humanos. Otros investigadores como Ward concluyen que posiblemente la invaginación intestinal sea inducida por una cantidad limitada de cepas G3 que pueden infectar y reproducirse en tejidos fuera del intestino.(20)

## **FISIOPATOLOGÍA**

La diarrea osmótica que ocasionan los rotavirus se debe a que lesionan en forma focal las células de las vellosidades del intestino delgado, disminuyendo la producción de la lactasa (disacaridasa responsable de la digestión de la lactosa) lo que provoca aumento de la osmolalidad en la luz intestinal y condiciona mayor secreción de agua, que se pierde a través de las heces.

Entre los mecanismos potenciales por que los rotavirus podrían inducir la diarrea tenemos:

La superficie absorbente reducida.

Denudación de la micro-vellosidad, acortando, allanando, y atrofiando las vellosidades intestinales.

La invasión de las vellosidades por el rotavirus causando secundariamente isquemia y acortando la absorción funcionalmente dañada.

Las concentraciones de disacaridasas deprimidas.

Lesión del co-transporte de glucosa y sodio.

La bomba de sodio-potasio se encuentra funcionalmente disminuida a su vez que la actividad de la ATPasa daña la pendiente electroquímica.

El daño celular que afecta la absorción: hinchazón de la mitocondrias, dilatación del retículo endoplasmático e infiltración mononuclear de las células del epitelio intestinal.

La proteína NSP4 que actúa como enterotoxina del virus realiza a su vez los siguientes mecanismos de lesión:



Induce a que las concentraciones de calcio a nivel intracelular se vean aumentadas; en modelos experimentales actúa como una toxina para inducir la diarrea.

Estimula el sistema nervioso entérico.

Estimula la secreción intestinal de fluido y electrólitos;

Esto a su vez genera mayor estímulo de la motilidad intestinal produciendo que el tiempo del tránsito intestinal normal se vea disminuido.

La permeabilidad epitelial alterada

La permeabilidad del espacio para-celular esta aumentada debilitando las uniones firmes entre células.

Las células de las criptas, encargadas de reparar las vellosidades lesionadas, migran para sustituirlas en un periodo de 24 a 72 horas, con lo que desaparece la diarrea. Es reconocido que los rotavirus infectan el intestino delgado a través de la vía oral, aunque también se ha probado su transmisión a través de la vía aérea, dado que incluso prácticas de higiene apropiadas no parecen ser del todo capaces de controlar las infecciones por estos virus.

Según otros autores, el sistema nervioso entérico modula la secreción de líquidos y electrolitos inducida por las toxinas del rotavirus. Una de las proteínas, denominada NSP4, genera aumento en los niveles de calcio intracelular, lo cual estimula las terminaciones nerviosas localizadas en la submucosa. Lo anterior plantea entonces la posibilidad de combinar soluciones de rehidratación oral con medicamentos que disminuyan la secreción intestinal,

con lo cual se dispondría de efectivas herramientas en el control de la infección por rotavirus.

Las infecciones por rotavirus en niños menores de dos años pueden cursar asintomáticas hasta en 50 % de los casos. Estudios epidemiológicos sugieren que la inmunidad natural es adquirida después de una primoinfección (sintomática o asintomática) y que esta protección se incrementa con cada nueva infección, reduciendo la gravedad de los episodios diarreicos subsecuentes. (22)

### **CUADRO CLÍNICO**

La infección por rotavirus es muy común, se ha observado que a la edad de 5 años, el 95% de los niños ya han sido infectados. El pico de incidencia de la enfermedad es en los niños de entre 6 y 24 meses de edad, siendo esta, la población con más alto riesgo de sufrir una diarrea severa, que frecuentemente requiere de hospitalización.

La infección en adultos es por lo regular asintomática, aunque ocasionalmente se presentan los síntomas en los padres de niños infectados, en pacientes inmunocomprometidos, y en adultos de la tercera edad. La diarrea por rotavirus ocurre principalmente durante los meses de otoño e invierno en los países de climas templados; esta estacionalidad es menos marcada en los países con clima tropical.

Generalmente después de un periodo de incubación inferior a 3 días la sintomatología típica que se presenta en la infección por rotavirus lo constituyen la fiebre que puede estar presente o no entre el 45 al 84%

(temperaturas entre 37.8°C-39°C), vómitos de carácter alimenticio-postprandial o mucosos, seguido de evacuaciones acuosas, amarillentas o verdosas fétidas o no; generalmente la fiebre y el vómito ceden al 2° día de enfermedad cediendo el paso a la diarrea de carácter acuosa intensa que suele mantenerse durante 5 a 7 días con frecuencia de hasta 10 evacuaciones en 24 horas con presencia de moco en un porcentaje variable, aunque la sangre y leucocitos es raro no debe descartarse y deben ser analizadas durante el diferencial con otras enfermedades; la infección por esta enfermedad es autolimitada, es decir con una duración entre 7 y 10 días con un promedio de aproximadamente cinco días.

La gran mortalidad asociada a esta enfermedad es debida a la severa deshidratación que provoca la infección, por lo que la recomendación principal en este padecimiento es la de rehidratar y mantener el balance electrolítico del paciente; probablemente el 50% o más de las infecciones son subclínicas.

Las manifestaciones clínicas de la infección por rotavirus no son lo suficientemente características para permitir un diagnóstico inequívoco basándose en éstas, por lo que se requiere de la detección directa del virus, o del antígeno viral para tener el diagnóstico preciso. Durante la infección los rotavirus se excretan en grandes cantidades durante los episodios diarreicos, por lo que se pueden detectar fácilmente por inmunoensayos o por electroforesis del genoma viral. (23)

## **DIAGNÓSTICO VIRAL**

El diagnóstico virológico comprende la detección e identificación del agente etiológico de una infección viral, clínica o inaparente, y de la respuesta inmune específica del huésped.

La primera etapa la constituye el diagnóstico viral clínico, que generalmente tiene un carácter de orientación. Se basa principalmente en el cuadro clínico y considera los antecedentes personales y familiares, además de la situación epidemiológica; en muchas circunstancias este diagnóstico clínico puede ser suficiente, sin embargo cada día se observa con mayor frecuencia la asociación de los virus entéricos con diversos cuadros clínicos, incluso muy severos, en los que el estudio específico de laboratorio virológico se hace indispensable como medio diagnóstico, de control evolutivo, con fines epidemiológicos, etc.

Hoy día, el avance de las técnicas diagnósticas ha demostrado que hasta los cuadros más típicamente asignados a una etiología pueden ser causados por otros agentes: las enfermedades son realmente síndromes.

Las aplicaciones del diagnóstico virológico son variadas y dependen de los medios disponibles y de las circunstancias que ameriten un diagnóstico etiológico específico.

En salud pública se utiliza habitualmente en programas de vigilancia epidemiológica y en el control de vacunas mediante censos serológicos. En medicina curativa la necesidad del diagnóstico virológico alcanza a todas las disciplinas: pediatría, obstetricia, medicina, cirugía, dermatología, etc.

El gran desarrollo de las técnicas de diagnóstico virológico ha permitido ofrecer actualmente una ayuda directa al médico clínico y ha facilitado la investigación en salud, posibilitado su aplicación en muchos campos.

Actualmente el médico clínico puede tratar con nuevos antivirales y controlar el curso de muchas infecciones virales; en el presente existe comercialmente una gran variedad de técnicas que pueden implementarse en laboratorios clínicos, por lo que se requiere conocer sus características para seleccionar las de mayor aplicabilidad.

El diagnóstico definitivo requiere un análisis de correlación entre los antecedentes clínicos personales, familiares, epidemiológicos y los resultados del laboratorio virológico, considerando la oportunidad y calidad de la muestra, las propiedades de las técnicas utilizadas y la experiencia acumulada al respecto. La conclusión final depende entonces de un trabajo profesional multidisciplinario, más que de una cifra aportada por una moderna máquina automatizada. (24)

## **DIAGNÓSTICO CLÍNICO**

En la historia clínica de la diarrea es esencial indagar sobre: duración de la enfermedad; características de las deposiciones: consistencia (líquida y disgregada), presencia de otros elementos (mucosidades, sangre, alimentos no digeridos); frecuencia de evacuaciones durante las 24 horas previas; presencia y frecuencia de vómitos; fiebre, irritabilidad, decaimiento, sed; capacidad o no de recibir alimentos y líquidos; tipo y volumen de los alimentos recibidos; normalidad o no de la diuresis.

Luego, al practicar el examen físico, es esencial evaluar el estado general del niño, su estado de conciencia, y muy especialmente, el grado de deshidratación, así como la presencia de manifestaciones que puedan impartir un carácter especial al cuadro: distensión abdominal marcada (medición de circunferencia abdominal), disminución de ruidos intestinales, edema, fiebre alta. Es importante pesar al niño, puesto que así podrá objetivarse si sufrió o no una pérdida de peso importante durante la diarrea. En todo caso, el peso al ingreso servirá para ser usado como registro de línea base y valorar sus cambios durante el curso de la enfermedad.

El cuadro clínico, unido a las referencias epidemiológicas, puede guiar hacia el diagnóstico etiológico. La diarrea aguda por rotavirus, la más frecuente en nuestro medio en lactantes, es una enfermedad autolimitada, de comienzo brusco, con vómitos y luego fiebre (etapa que dura 1 a 2 días) y deposiciones líquidas, abundantes y frecuentes, generalmente ácidas y de color amarillo, que duran de 5 a 7 días y suelen terminar abruptamente. (25)

## **DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO**

Actualmente existen diversos métodos en el mercado que pueden utilizarse para el diagnóstico de rotavirus, de tal forma que la técnica de elección dependerá del equipo y reactivos con que se disponga en cada hospital. Los métodos de diagnóstico viral se basan fundamentalmente en:

Detección del agente viral completo o de sus componentes: por aislamiento viral con observación del efecto inducido por el virus vivo propagado en un huésped biológico; por visualización de la partícula viral total o parcial; o por

detección de sus componentes macromoleculares (antígenos virales o ácido nucleicos).

Detección de la respuesta inmune del huésped mediante el estudio de anticuerpos antivirales (serología).

Varios métodos para la identificación del rotavirus o antígeno del mismo en heces han sido desarrollados en la actualidad. Los métodos más usados son: microscopía electrónica, inmunoelectromicroscopia, Inmunoensayos como ELISA Radioinmunoensayo y aglutinación en látex; electroforesis en gel.

**La microscopía electrónica** fue el primer método diagnóstico usado en la identificación del virus y es actualmente el método de referencia. Detecta 10<sup>6</sup> o más partículas de rotavirus por ml/ heces. Este procedimiento no distingue grupo o serotipo, se utilizan dos tinciones especiales con sales de metales pesados como el uranio o el tungsteno. La primera es la tinción negativa donde el acetato de uranilo forma una especie de molde viral que permite detallar la estructura del virus. La segunda tinción es la del sombreado, donde las partículas virales se ponen en un ángulo donde el metal que se utiliza en ella se deposita sobre el virus pero no sobre su sombra y sólo se visualiza lo que no se ha cubierto con el metal. Esta técnica no revela las estructuras internas del virus sino su forma y dimensiones. El uso de equipo especializado y costoso, el elevado nivel técnico que requiere, la baja sensibilidad cuando hay un bajo número de partículas virales y el hecho de que en algunos casos la morfología per se no es suficiente para un diagnóstico viral definitivo, hacen que este sistema sea poco usado y sólo se emplee a nivel investigativo o académico. Es de ayuda en ciertas ocasiones cuando pudiera existir una

coinfeción por otros virus. La sensibilidad de esta técnica depende de su preparación, tinción y la experiencia del observador, generalmente es menor que la de la inmunofluorescencia y el cultivo viral.

**Inmuno-electromicroscopia** ha sido empleada en la detección, identificación y sero-tipificación del rotavirus y otros virus en heces. Es más sensible que la microscopía electrónica.

En la actualidad, los métodos de detección más usados son los inmunológicos (inmunoensayos).

**Inmunoensayos:** 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 del suero o 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.

Los más conocidos son: ELISA (Enzyme-linked Immuno Sorbent Assay- Inmunoensayo ligado a la absorción de enzimas), el radioinmunoensayo (RIA) y la aglutinación en látex dependiendo del trazador que se utilice para evidenciar la reacción.



1. **El método de ELISA** (descrito por *Towbin et al.*) en 1979 puede detectar 10<sup>6</sup> partículas virales por gramo de heces, lo cual lo hace más sensible que el microscopio electrónico. El uso de anticuerpos monoclonales incrementa aún más la sensibilidad y especificidad de esta prueba. Existen una gran cantidad de métodos de ELISA comerciales y varían en su sensibilidad y especificidad dependiendo de la casa comercial y si la prueba está hecha con anticuerpos monoclonales, policlonales o ambos.

Los ELISA comerciales detectan solamente rotavirus del grupo A (utilizan anticuerpos anti-VP6). Tienen por finalidad el diagnóstico de la infección por rotavirus mediante el uso de anticuerpos monoclonales que detectan la existencia de antígeno vírico VP6 (cápside interna del virión) en muestras de heces fecales. Estos a su vez generan complejos inmunes que pueden ser visibles incluso mediante microscopía electrónica. Con esta técnica se pueden procesar una gran cantidad de muestras clínicas en forma rápida y sencilla. Puede haber falsas positivas, por lo que se recomienda que aquellas muestras positivas obtenidas fuera del periodo epidémico se repitan nuevamente. Las ventajas de esta son: permite obtener resultados de una forma rápida y fácil, tiene poca complejidad técnica, es de fácil manipulación, emplea pocos reactivos y proporciona una información diagnóstica rápida, ya que los resultados se obtienen en un período de 30 minutos, lo cual resulta muy conveniente para el tratamiento de esta enfermedad.(26)

## **TECNICA**

Tiene como finalidad la identificación de las proteínas del virus en forma directa del genoma viral. Se emplea como fase sólida una membrana de nitrocelulosa

marcada con un anticuerpo monoclonal anti Rotavirus. Se pesan 0,2 g de heces fecales y se diluyen en 1 ml de tampón de dilución No. 1 para la muestra. Se agita en un vortex, centrifugándose posteriormente a 3 000 r.p.m. durante 10 min. Se toma el sobre nadante y se pasa a un vial teniendo 250 ml de tampón No. 2 para dilución de muestra. Se añade a este vial 250 ml del conjugado constituido por un anticuerpo monoclonal marcado con oro; incubándose durante 5 minutos a temperatura ambiente. Se toma 1 ml de la mezcla anterior y se deposita en el vial que contenía la tira reactiva de nitrocelulosa ya sensibilizada, se incuba con agitación durante 25 min. a temperatura ambiente. Posteriormente, se sumerge la tira 1 vez en PBS y se pone a secar sobre un papel de filtro. En esta prueba se emplea un control positivo y otro negativo. Se considera la muestra como positiva al aparecer una mancha rojiza en la membrana de nitrocelulosa. Cuando la membrana queda de color blanco, la muestra se considera como negativa. Esta técnica ofrece sensibilidad del 96% y especificidad del 98%. (27)

2. **Radioinmunoensayo (RIA)** se denomina, cuando el anticuerpo se marca con un isótopo radioactivo, el más utilizado es el yodo-125, en este caso el anticuerpo reacciona a manera de sandwich, se pega a los epítopes del antígeno que han quedado expuestos; después de varios lavados, se mide o cuantifica la radioactividad mediante un contador de centelleo. El número de destellos por minuto es directamente proporcional a la concentración del antígeno que reacciona y de acuerdo con una serie de estándares de concentración conocida, se realiza una curva y se extrapolan los valores de la muestra. En la técnica ELISA el anticuerpo se marca con una enzima que puede ser la fosfatasa alcalina (FA) o la peroxidasa de rábano (PR) y para

revelar la reacción se coloca el sustrato específico para la enzima que es modificado por ésta y produce un compuesto coloreado que hace visible la reacción. Para la cuantificación se mide la absorbencia en una longitud de onda determinada en un espectrofotómetro. La absorbencia será directamente proporcional a la cantidad de antígeno descubierto. (28)

**3. Aglutinación de Látex.** Esta técnica se usa comúnmente para la demostración de antígenos de rotavirus en materias fecales. Las partículas de látex son esferas de poliestireno que se unen fácilmente al fragmento cristalizante (Fc) de moléculas de inmunoglobulina G (IgG) o inmunoglobulina M (IgM), esta última es mucho más eficiente en aglutinar partículas naturales. Los fragmentos de unión del anticuerpo (FAb) quedan expuestos y son capaces de unirse al antígeno que se encuentra en la muestra. Cuando los antígenos tienen varios epítopes (o estructuras antigénicas repetitivas), los anticuerpos multivalentes acoplados a múltiples partículas de látex se unen al antígeno y se produce un entramado de las partículas de látex que dan como resultado una aglutinación visible. Esta técnica es fácil de realizar, requiere sólo unos minutos y no necesita equipo, pues se lee a simple vista. Sin embargo, ofrece como desventaja la presencia de reacciones cruzadas sobre todo con otros antígenos en la muestra y también ocurren interferencias por el fenómeno de prozona, en el que un exceso de anticuerpos no permite la formación del entramado. Esta técnica ha demostrado tener una alta especificidad, pero menor sensibilidad que la Elisa.

**La inmunofluorescencia** es un método altamente específico para detectar antígeno en biopsias y células de cultivo. Es más sensible que el microscopio

electrónico, pero menos sensible que la inmunoelectromicroscopia. Requiere de un equipo especial y costoso. Su uso está limitado a laboratorios de investigación.

La demostración de antígeno se hace mediante la utilización de un anticuerpo marcado con un fluorocromo (conjugado) que es específico para el antígeno que se ha de descubrir. Este proceso implica la preparación de un extendido en placa de la muestra, del tejido o de una monocapa celular inoculada con la muestra, luego se fija, se coloca el conjugado con fluoresceína y después de una incubación y un lavado, la placa se observa en el microscopio de fluorescencia.

La IFA también es útil para confirmar los hallazgos de cultivo viral y la combinación de estos dos métodos mejora el diagnóstico. Este método es fácilmente aplicable en tejidos que se pueden colocar sobre una placa a manera de huella y a partir de ésta aplicar la técnica. Esta prueba generalmente incrementa exponencialmente su positividad con el transcurso de los días; su eficiencia evidente amerita su empleo. (29)

**Coprocultivo (CP).** Los cultivos celulares constituyen, desde 1950, el sistema más empleado para el aislamiento y propagación de la mayoría de los virus. Los cultivos de células *in vitro* consisten en un sistema formado por células provenientes de un órgano o un tejido, normal o tumoral, mantenidas en medios de cultivo de composición química definida y en condiciones de temperatura, pH, aireación y humedad controladas. La definición operacional de los cultivos celulares en tres tipos - cultivo primario, cepa celular y línea celular – depende del origen y tiempo de sobrevivencia de las células *in vitro*.

No existe un cultivo celular susceptible a todos los virus, de modo que un laboratorio de diagnóstico viral debe disponer de distintos cultivos celulares.

Algunos serotipos de rotavirus inducen un crecimiento muy característico en ciertos cultivos celulares, facilitando su diagnóstico. Considerando el cuadro clínico, el tipo de muestra y de cultivo celular usado, las características y tiempo de aparición del crecimiento, se puede presumir una etiología viral con cierta seguridad. Para los cultivos virales se utilizan monocapas celulares adheridas al lecho de un tubo, que requieren de sustratos esenciales para su mantenimiento, una solución amortiguadora y un pH adecuado, además se deben suplementar con suero fetal animal, que contiene múltiples factores promotores de crecimiento celular. Una vez que la monocapa se inocula con una muestra pretratada que proviene de un individuo infectado, el virus se puede descubrir por el desarrollo de un efecto celular morfológico degenerativo visible o éste puede aparecer después de 3 ó 4 días. Sin embargo, para el caso de los rotavirus se requiere cultivos celulares muy especiales.

Dado que el CP es un examen laborioso y de alto costo, es necesario racionalizar su indicación, seleccionando los pacientes que clínicamente o por situación epidemiológica lo ameriten además de que se necesitan laboratorios virológicos especializados. Habitualmente se sugiere realizar CP en pacientes ambulatorios con diarrea severa, que no ceda al tratamiento sintomático, cuando hay sangre en las deposiciones, en diarrea prolongada en pacientes inmunocomprometidos, si existen antecedentes de viajes, en pacientes con leucocitosis con neutrofilia y en pacientes desnutridos.

Los mayores predictores de positividad en un CP son: diarrea por más de 24 horas, fiebre, dolor abdominal y sangre en las deposiciones. En el caso de pacientes hospitalizados es necesario tomar CP en los estudios de brotes de gastroenteritis por lo que no se justifica realizar CP en los pacientes cuyo síndrome diarreico se ha iniciado al tercer día de hospitalización o de allí en adelante, ya que en estos casos, los cuadros diarreicos probablemente no sean causados por los patógenos habitualmente buscados en el CP.

### **LACTANCIA MATERNA: PROTECCIÓN CONTRA EL ROTAVIRUS**

La lactancia materna ayuda a proteger contra la infección por el rotavirus, según un nuevo análisis de un estudio presentado por el Dr. Ruiz Palacios durante el último simposio internacional sobre rotavirus, determinó en una población de 400 bebés, amamantados o alimentados con biberón, que los beneficios de la lactancia materna cambian con la edad del niño. De los bebés amamantados menores de 6 meses de edad, la mitad estuvo completamente protegida contra la infección por rotavirus. En total, los estudios de cohortes han revelado una protección del 40% obtenida con la lactancia materna durante el primer año de vida de un bebé. Una proteína en la leche materna, la lactaderina, protege contra la infección sintomática por rotavirus. (30)

# MATERIALES Y MÉTODOS

## **TIPO DE ESTUDIO:**

El presente trabajo de investigación es de tipo descriptivo, cohorte transversal y caso control.

## **UNIVERSO Y MUESTRA:**

El universo estuvo constituido por 60 niños/as menores de 5 años con diagnóstico de EDA, que asistieron al Centro de Salud N° 1 durante los meses Julio- Septiembre del 2012.

La muestra la constituyeron los 29 niños/as menores de 5 años con diagnóstico de EDA causada por Rotavirus.

## **CRITERIO DE INCLUSIÓN**

Niños/as menores de 5 años con diagnóstico de EDA que acudieron al centro de salud N° 1 de la Ciudad de Loja.

Niños/as cuyos padres autorizaron el examen para rotavirus.

## **CRITERIO DE EXCLUSIÓN**

Niños/as con EDA y que cursen con otra patología sistémica.

## **TECNICAS Y PROCEDIMIENTOS**

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

En el presente estudio investigativo fueron empleados los métodos, técnicas e instrumentos investigativos, como parte fundamental del desarrollo científico y tecnológico.



**Método Científico:** Este método ayudó a aportar con nuevos conocimientos sobre el tema. Permitió dar un criterio ordenado y sistemático con las fuentes bibliográficas relacionadas con la Enfermedad Diarreica Aguda causada por Rotavirus, tema de mi investigación. Lo cual me permitió conocer razón, motivos, consecuencias, signos y síntoma del problema.

**Método Deductivo:** Permitió recabar información bibliográfica que fundamentó los elementos constitutivos del marco teórico. Este método ayudó a deducir la problemática de la falta de higiene y educación, inadecuadas condiciones ambientales, practicas inadecuadas de lactancia y esquema de vacunación incompleto. Estudio real, que partió de una observación general del presente problema a fin de llegar a un análisis particular del mismo.

**Método Inductivo:** Fue el auxilio en esta investigación, al permitir conocer y hacer un estudio particular del problema u objeto de estudio, así como también permitió determinar los aspectos generales relacionados con la temática en estudio.

**Método Analítico:** Ayudó a esbozar y realizar un estudio detenido y profundo relacionado con la problemática. Coadyuvó a la recopilación de información estadística, así, como el análisis e interpretación de los resultados obtenidos a partir de la ejecución de las encuestas.

**Técnicas utilizadas:**

Las técnicas sobre las cuales se apoyó este trabajo investigativo fueron: la observación y la encuesta.

**La encuesta:** Permitió obtener y verificar datos, se elaboró cuidadosamente un cuestionario basado en las variables, los objetivos y el problema en sí, por su gran valor de determinación directa investiga causas, factores, impactos, recomendaciones y soluciones a este problema. Arrojó información confiable para poder entender el objeto de estudio.

Además aplique otros procedimientos como:

- Se realizó una presentación ante el director del Centro de Salud N°1, para solicitar autorización para la realización de al presente investigación.  
**(Anexo 1)**
- Consentimiento informado **(Anexo 2)**
- Se elaboró una guía de instrucciones a las pacientes para la toma de muestras. **(Anexo 3)**
- Se efectuó un registro inicial de datos del paciente y solicitud del examen.  
**(Anexo 4)**
- Se elaboró una encuesta piloto a 10 madres de familia cuyos hijos(as) presentaron el caso. Con la finalidad de validar la encuesta aplicada en base a los objetivos que persigue el presente trabajo investigativo **(Anexo 5)**.

Esta técnica la apliqué en el desarrollo de la investigación a 60 madres de familia que es el tamaño de la muestra del presente caso de estudio.

- Registro diario de Resultados. **(Anexo 6)**
- Técnica de inmunocromatografía para la determinación de Rotavirus. **(Anexo 7)**
- Entrega de resultados. **(Anexo 8)**
- Examen físico **(Anexo 9)**. Siguiendo el procedimiento médico la observación, el interrogatorio y el examen físico se diagnostica el grado de deshidratación del paciente y su estado de salud en general.

#### **PLAN DE TABULACIÓN:**

Se utilizó tablas de datos en Microsoft Excel 2010, considerando las variables mencionadas.

Se realizó un análisis descriptivo de los datos calculando proporciones.

Se procedió a elaborar gráficas y tablas, para la interpretación y análisis de los datos.

#### **INSTRUMENTOS A UTILIZAR**

Protocolos de trabajo (Anexos establecidos).

## **VALIDACIÓN DE INSTRUMENTOS**

Protocolos

Consentimiento informado

# RESULTADOS

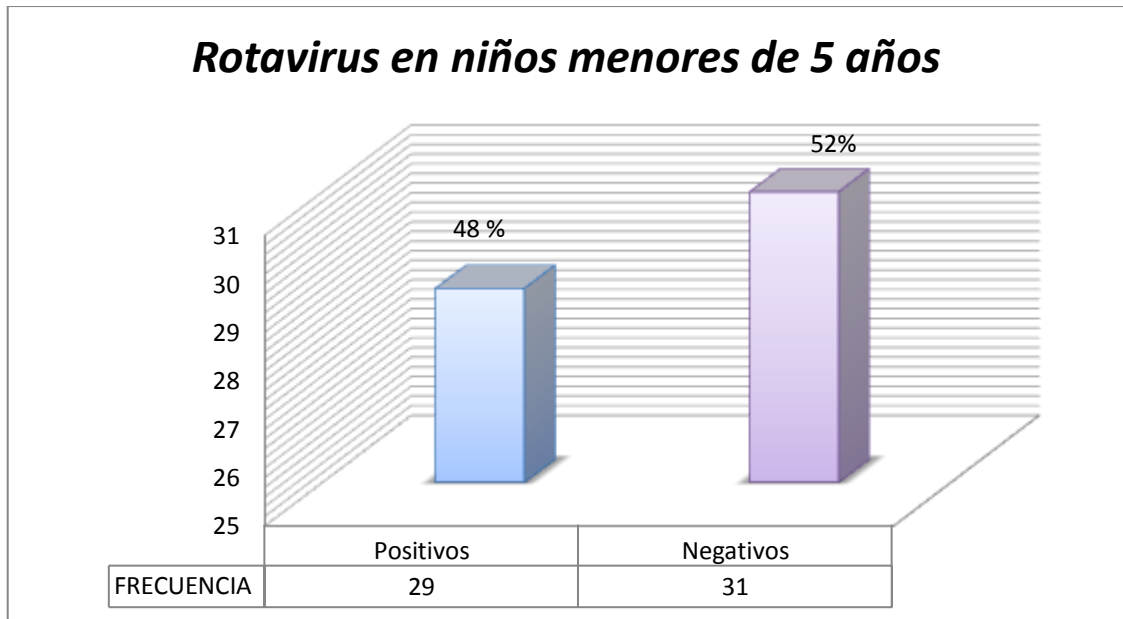
## **RESULTADOS O DISCUSIÓN**

Dando cumplimiento a lo establecido en la metodología del proyecto de investigación, se realizó la aplicación de una encuesta a una población de 60 madres de familia que hicieron atender a sus hijos(as) en el Centro de Salud N° 1 de la Ciudad de Loja en el periodo Julio – Septiembre 2012. Mismas que están vinculadas directamente con el tema de estudio para conocer el criterio de ellas y si están concienciadas de las causas y efectos de la EDA causada por Rotavirus, el mismo que constituye un verdadero problema de Salud Pública motivo de mi investigación.

Los resultados se presentan y analizan a continuación:

## GRÁFICA N° 1

**FRECUENCIA DE ROTAVIRUS EN NIÑOS/AS MENORES DE 5 AÑOS CON ENFERMEDAD DIARREICA AGUDA, PERIODO JULIO-SEPTIEMBRE DEL 2012.**



**Fuente:** Registro interno del Laboratorio Clínico del Centro de Salud N° 1

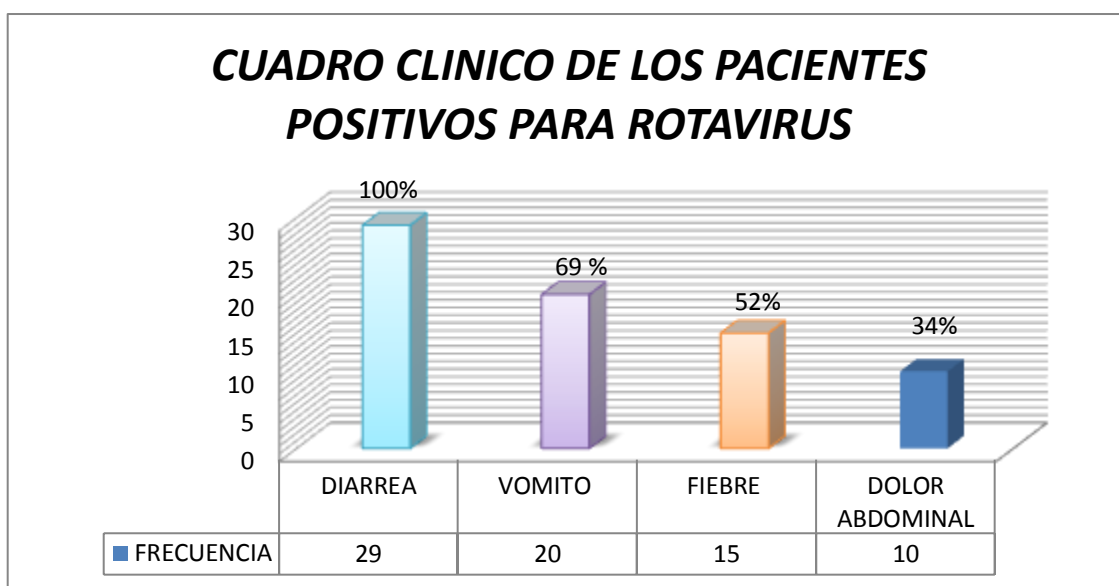
**Autora:** Paulina Ochoa Vargas.

### **INTERPRETACIÓN:**

Del total de niños/as (60) a quienes se les realizó la determinación de Rotavirus, 29 resultaron positivos lo que corresponde al 48 % del total de la población. Este índice muestra un caso preocupante en la población infantil que se atiende en este Centro de Salud.

## GRAFICA N°2

**SIGNOS CLÍNICOS Y SÍNTOMA MÁS FRECUENTES EN EL GRUPO DE NIÑOS/AS MENORES DE 5 AÑOS CON ENFERMEDAD DIARREICA AGUDA.**



**Fuente:** Historia Clínica del Paciente.

**Autora:** Paulina Ochoa Vargas.

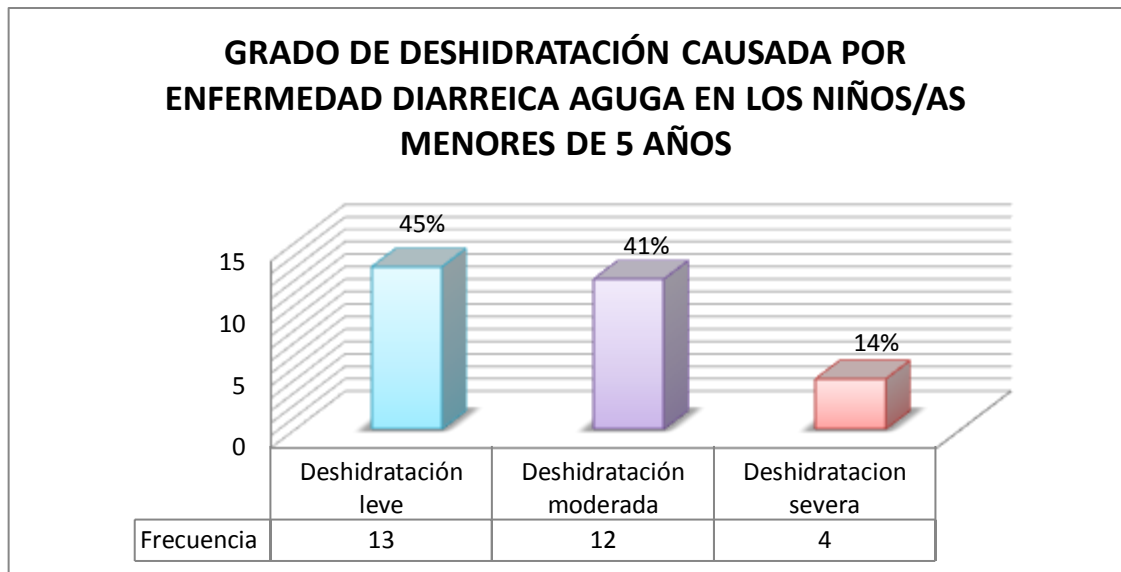
### **INTERPRETACIÓN:**

De los casos que resultaron positivos para rotavirus; 29 presentaron diarrea lo que representa el 100%, 20 presentaron vómitos equivalente a 69% ,15 presentaron fiebre constituyendo el 52 % y finalmente 10 dolor abdominal correspondiente al 34 %.



### GRAFICA N° 3

#### GRADO DE DESHIDRATACIÓN CAUSADA POR ENFERMEDAD DIARREICA AGUDA EN LOS NIÑOS/AS MENORES DE 5 AÑOS



**Fuente:** Historia Clínica del Paciente.

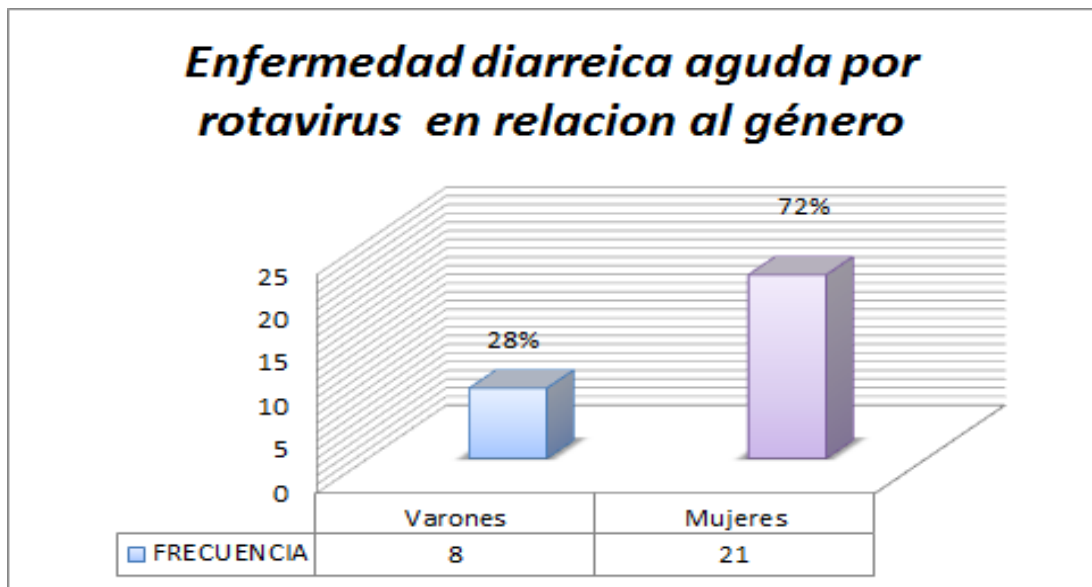
**Autora:** Paulina Ochoa Vargas.

#### INTERPRETACIÓN:

Del total de niños/as que resultaron positivos para rotavirus; 13 infantes presentaron deshidratación leve que representa el 45%, 12 deshidratación moderada equivalente al 41%, mientras que solo 4 presentaron deshidratación severa correspondiente al 14%. Estos resultados indican que sus madres acudieron oportunamente a una casa asistencial de Salud para la atención médica inmediata, con lo cual se controla y se previene la mortalidad infantil.

## GRAFICA N° 4

### FRECUENCIA DE ENFERMEDAD DIARREICA AGUDA POR ROTAVIRUS DE ACUERDO AL GÉNERO.



**Fuente:** Registro interno del Laboratorio Clínico del Centro de Salud N° 1.

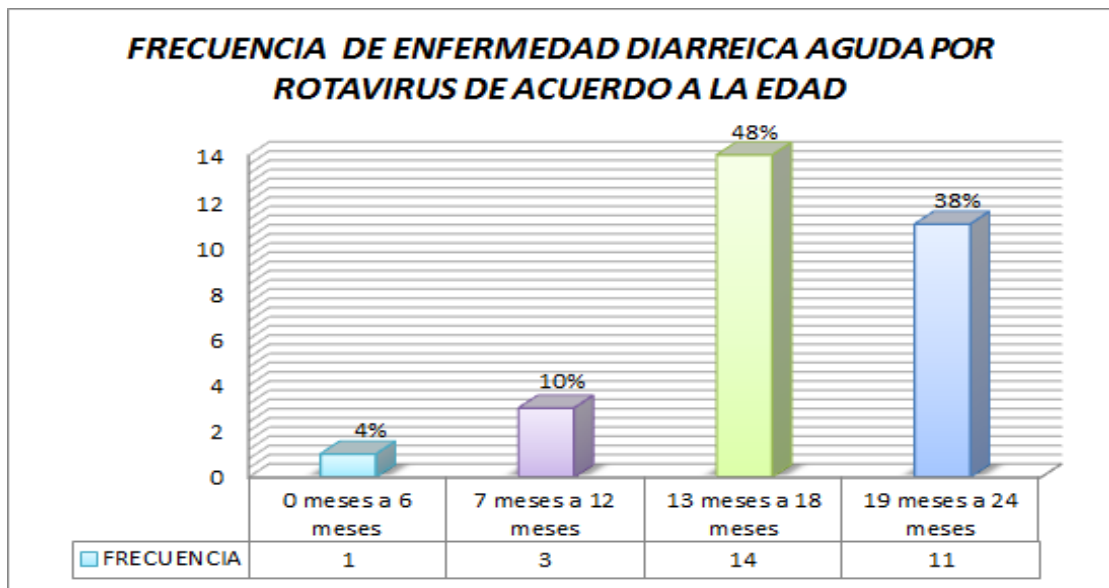
**Autora:** Paulina Ochoa Vargas.

#### INTERPRETACIÓN:

Del total de niños/as que resultó positivo para rotavirus; 21 niñas presentaron enfermedad diarreica aguda lo que corresponden al 72% y en un número menor de 8 varones con 28%; es decir el género con mayor frecuencia de EDA fue el género femenino. Este análisis contrasta con los datos científicos donde asevera que el género más vulnerable es el masculino. Situación entendible en este caso puesto que la mayoría de pacientes son mujeres porque la mayor población infantil es de género femenino y las condiciones de salud y económicas no son las más favorables.

## GRAFICA N° 5

### FRECUENCIA DE ENFERMEDAD DIARREICA AGUDA POR ROTAVIRUS DE ACUERDO A LA EDAD.



**Fuente:** Registro interno del Laboratorio Clínico del Centro de Salud N° 1.

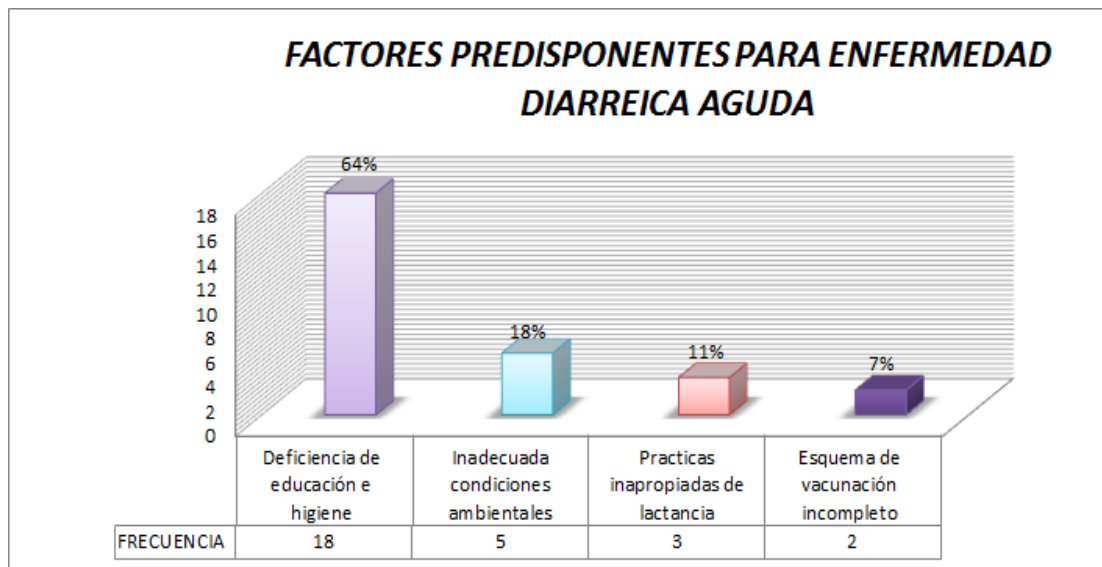
**Autora:** Paulina Ochoa Vargas.

### INTERPRETACIÓN:

Del total de niños/as que resultaron positivos para rotavirus; 14 niños/as tenían de 13 meses a 18 meses, 11 niños/as de 19 meses a 24 meses, 3 niños/as de 7 meses a 12 meses y finalmente 1 niño/a en edad de 0 meses a 6 meses; es decir la edad donde fue mas frecuente la positividad para rotavirus fue de 13 meses a 18 meses. Este dato final se da porque los pequeños en esta edad interactúan con el medio que los rodea y están propensos a adquirir infecciones si no hay el cuidado y la higiene adecuada.

## GRAFICA N° 6

### FACTORES PREDISPONETES PARA ENFERMEDAD DIARREICA AGUDA POR ROTAVIRUS.



**Fuente:** Encuestas.

**Autora:** Paulina Ochoa Vargas.

#### INTERPRETACIÓN:

Los factores de riesgo para enfermedad diarreica aguda prácticamente están bien establecidos si se comparan con otras enfermedades humanas , por tal razón se considera los siguientes factores epidemiológicos en el presente trabajo investigativo : como primer factor de riesgo se encontró deficiencia de educación e higiene en los niños/as que presentaron la infección en un 64 % , inadecuada condiciones ambientales 18%, prácticas inadecuadas de lactancia 11%,esquema de vacunación incompleto 7% . Estos factores confirman en la práctica que la teoría de la información científica recopilada en la revisión bibliográfica es comprobada.

# DISCUSIÓN

## DISCUSIÓN

En Ecuador, las EDA se presentan en alrededor del 30% de la población total de niños menores a 5 años, produciéndose anualmente más de 12 000 muertes. En la ciudad de Loja similar a otras regiones de Ecuador, las EDA son una de las principales causas de consulta y hospitalización en la población infantil. Así, en el año 2008 se registraron casos de diarreas en el 9.2 % de los niños menores a 5 años y 6.066 hospitalizaciones por esta causa, con un tasa por 10.000 habitantes de 211.6%. (1)

Para el desarrollo del presente trabajo investigativo se plantearon algunos objetivos, tanto generales como específicos, con el propósito de poder direccionar la investigación hacia donde se pretende llegar. Una vez realizado el trabajo de campo se llegó a la sustentación y verificación de resultados. Llegando a cumplir con el objetivo general que señala:

**Determinar la presencia de rotavirus en niños menores de 5 años con EDA que acuden a recibir atención en el Centro de Salud N° 1 de la Ciudad de Loja.**

Luego de realizado el presente estudio se obtuvo que del total de niños/as (60) a quienes se les realizó la determinación de Rotavirus, 29 resultaron positivos a la prueba inmunocromatografica lo que corresponde al 48 % del total de la población, y el género con mayor frecuencia de EDA fueron las mujeres con un 72% y en menor proporción 8 varones con 28% ,de los cuales 14 niños/as tenían de 13 meses a 18 meses, 11 niños/as de 19 meses a 24 meses, 3 niños/as de 7 meses a 12 meses y finalmente 1 niño/a en edad de 0 meses a 6

meses; es decir la edad donde fue mas frecuente la positividad para rotavirus fue de 13 meses a 18 meses; los signos y síntomas mas frecuentes fueron el primer lugar la diarrea 29 niños/as 100%, 20 presentaron vómitos 69% , 15 presentaron fiebre 52 % y finalmente 10 dolor abdominal 34 %, del total de niños/as que resultaron positivos para rotavirus; 13 presentaron deshidratación leve 45%, 12 deshidratación moderada 41% y 4 deshidratación severa 14%; los factores de riesgo para EDA en estos niños /as fueron deficiencia de educación e higiene en los niños/as que presentaron la infección en un 64 % , inadecuadas condiciones ambientales 18%, prácticas inadecuadas de lactancia 11%, esquema de vacunación incompleto 7% .

Los resultados así obtenidos mostraron que 29 niños/as presentaron EDA por rotavirus lo que corresponde a un 48% en edades comprendidas de 0 meses a 24 meses; edades que según la literatura tienen mayor probabilidad de presentar infección por rotavirus, esto creemos, se debe principalmente a que el niño se encuentra en una etapa de exploración del medio y los objetos a través de la boca y las manos y por otra parte está adquiriendo sus propias defensas inmunológicas y los anticuerpos adquiridos pasivamente van disminuyendo progresivamente con la edad. (29)

Por otra parte, si consideramos que dado que nuestro país está en vías de desarrollo, existen muchos problemas de salud e higiene y que según investigaciones realizadas, los índices de parasitosis y EDA son bastante elevados en las poblaciones de menores recursos económicos, no sería difícil pensar que un gran porcentaje de esta población puede tener rotavirus y parásitos de diferente tipo. (30)

Aunque se observaron algunos signos y síntomas más frecuentes en el grupo positivo para rotavirus, y estos concuerdan con lo informado por otros investigadores (31), no podemos señalar este porcentaje más elevado como significativo del cuadro diarreico por rotavirus pues el grupo negativo también presentó estos signos y síntomas en un porcentaje menor aunque similar. Estos signos y síntomas son la diarrea y el vómito. Se ha comunicado que la diarrea por rotavirus tiene algunas características especiales: amarillo-verdosa, acuosa o mucosa y raras veces presenta sangre. Además de las anteriores características, se encontró frecuentemente diarrea fétida y nuevamente los porcentajes entre los dos grupos son bastante similares y sería difícil describir un tipo de diarrea específico o característico de la infección por rotavirus.

En el análisis de los factores de riesgo nosotros vimos que aquellos relacionados con la falta de educación y medidas higiénicas inadecuadas como la falta de lavado de alimentos, falta de lavado de manos, consumo de agua no hervida, eran los principales factores para la ocurrencia de diarrea.

En un estudio realizado en el Hospital Verdi Cevallos Balda de Manabí, cuyo objetivo principal fue determinar la incidencia de síndrome diarreico agudo por rotavirus en los niños menores de tres años ingresados al área de hospitalización pediátrica, se obtuvo que de 131 pacientes menores de tres años que presentaron síndrome diarreico agudo 67 que corresponde a un porcentaje del 51,10% de la población dieron positivo para rotavirus, resultados que difieren del presente estudio debido a que nuestra población fue de (60) pacientes los cuales no fueron hospitalizados y el rango de edad varia . (32)



Otro estudio elaborado por Carla Romero y colab, denominado enfermedades diarreicas agudas asociadas a Rotavirus, se encontró que la frecuencia de infección por rotavirus en la población estudiada fue de 19% (220) encontrándose diferencias estadísticamente significativas (0,005) entre pacientes hospitalizados (24%) y ambulatorios (17%). (33)

En un estudio realizado por Henríquez Camacho César y colb, en Perú con la finalidad de determinar incidencia y factores de riesgo para adquirir diarrea aguda en niños, se obtuvo que los factores de riesgo mas frecuentes son la falta de medidas higiénicas tales como la falta de lavado de alimentos, falta de lavado de manos, consumo de agua no hervida, eran los principales factores para la ocurrencia de diarrea; situación que es similar a la nuestra en donde los principales factores de riesgo son los mismos mencionados anteriormente (34)

# CONCLUSIONES

## CONCLUSIONES.

- Concluyo con este estudio, que existió una frecuencia de enfermedad diarreica aguda por Rotavirus de un 48 % de un total de 60 niños/as menores de 5 años que acudieron a consulta en el Centro de Salud N°1 de la Ciudad de Loja.
- Con respecto a los signos y síntoma determiné que la diarrea fue el signo más predominante en este caso y en segundo lugar el vómito aunque a mi criterio considero que ambos signos pueden estar presentes a lo largo del desarrollo de la enfermedad en mayor o menor grado.
- Del total de la población, la edad pediátrica más frecuente en menores de 5 años positivos para rotavirus, predominantemente lo constituyeron los niños/as en edades 13 meses a 24 meses.
- Del total de niños/as que resultaron positivos para rotavirus; 13 presentaron deshidratación leve 45%, 12 deshidratación moderada 41% y 4 deshidratación severa 14%.
- Con respecto al sexo pediátrico de los pacientes positivos para rotavirus, se observó y determinó que la población predominante fue la femenina sobre la masculina.

- Los factores de riesgo para EDA en estos niños /as fueron deficiencia de educación e higiene en un 64 %, inadecuada condiciones ambientales 18%, prácticas inadecuadas de lactancia 11%, esquema de vacunación incompleto 7%. Además concluyo que los niños amamantados con leche materna son menos propensos a esta enfermedad.

# RECOMENDACIONES

## RECOMENDACIONES.

1. Todo paciente con síndrome diarreico agudo de etiología desconocida y que presenta fiebre, vómito y diarrea; a más, de los exámenes coproparasitarios tradicionales debe ser mandatorio el uso de examen de inmunocromatografía para rotavirus en todos los menores de 5 años.
2. Los pacientes pediátricos menores de 5 años que tengan diagnóstico de intolerancia a la lactosa debe de realizarse examen en heces para Rotavirus, debido a que lesionan en forma focal las células de las vellosidades del intestino delgado, disminuyendo la producción de la lactasa, disacaridasa responsable de la digestión de la lactosa, lo que condiciona mayor secreción de agua, que se pierde a través de las heces.
3. Al realizar el examen de inmunocromatografía para rotavirus, este siempre se lo recomienda realizar inmediatamente para disminuir el riesgo de contaminación de la muestra por etiológicos virales nosocomiales lo que disminuiría la sensibilidad del examen.
4. A todas las madres recomiendo dar la leche materna a sus hijos (as) porque ninguna formula reúne los nutrientes y vitaminas que aportan defensas a los infantes como la leche materna que es irremplazable. No solo por la lactaderina que contiene, sino el vínculo afectivo que se establece entre madre e hijo.

5. La información previene, por ello es importante concienciar a madre y padres de familia, niñeras y a todos los encargados del cuidado de menores sobre las causas que provocan la enfermedad. En el caso de presentar los signos y síntomas acudir inmediatamente al médico con el fin de disminuir el impacto socio-económico que representaría para una Institución de Salud Pública.

# BIBLIOGRAFÍA



## **BIBLIOGRAFÍA.**

1. INEC. Anuario de Estadísticas Hospitalarias .Camas y Egresos. Año 2008.
2. Organización Mundial de La Salud (OMS). Sitio web del departamento de Salud y desarrollo del niño y el adolescente (<http://www.who.int/child-adolescent-health>) 2010.
3. Parashar UD, Hummelman EG, Joseph S, Molinero MA, el Vaso RI: La Enfermedad Global y Muertes Causadas por Rotavirus en los Niños. *Emerg Infect Dis* 2009; 9: 565-71.
4. ÁNGEL, Gilberto, Diccionario de Laboratorio Aplicado a Clínica. Editorial Médica-Panamericana, México, tercera Edición 2010.
5. ABENDAÑO, L F, et al .Infección Intra-hospitalaria por rotavirus en Lactantes. Editorial Internacional, Chile, primera Edición 2009.
6. ANDERSON, Lois E., Diccionario de Medicina Océano Mosby. Editorial Océano Internacional, España, edición 2002.
7. BRAS, J., et al. Pediatría en atención primaria. Editorial Masson, España, Segunda edición ,2008.
8. CLOHERTY, J. P., et al. Manual De Cuidados Neonatales. Editorial Masson, España, cuarta edición 2008.
9. GAGGERO, Aldo, et al. Prevalencia de la infección aguda por Rotavirus en Niños con gastroenteritis aguda. Editorial Interhispana, Cuernavaca-México, 2008.
10. GAGGERO, Aldo, et al. Transmisión nosocomial de Rotavirus en Pacientes Admitidos por Diarrea. Editorial Interhispanica, Cuernavaca- México, 2009.

11. GARCÍA, G, et al. Guías de Pediatría Práctica Basada en Evidencia. Editorial Mediciencia, Buenos Aires-Argentina, Edición 2010.
12. GONZALES, Napoleón Saldaño, et al. Infectología Clínica Pediátrica. Editorial Mc Graw Hill Interamericana S.A., Cuernavaca-México, séptima Edición 2009.
13. HOEKELLMAN, Adam, et al. Atención Primaria en Pediatría. Editorial Océano-
14. MMI by Mosby Inc., Barcelona-España, cuarta edición, volumen II, 2007.
15. KLIEGMAN, Robert, et al. Practical Strategies in Pediatric Diagnosis And Therapy. Editorial Elsevier, EE UU, segunda Edición, 2007.
16. MENEGHELLO J., et al. Pediatría Práctica en Diálogos. Editorial Médica Panamericana, Chile, 2008.
17. NELSON, Waldo Emerson. Estrategias Diagnósticas en Pediatría. Editorial Mc
18. Graw-Hill, Cuernavaca-México, primera edición, 2009.
19. WILLIAN, W. Hay Jr., et al. Diagnóstico y Tratamiento Pediátrico. Editorial Manual Moderno S.A., Cuernavaca-México, Décima edición, 2008.
20. WUETHRICH, Bernice, et al, Sexto Simposio Internacional sobre El Rotavirus.
21. 2004. Instituto de Vacunas Albert B. Sabin - Oficina de Programas Internacionales, Editorial Saunders Design, Washington-EEUU, Primera edición, 2007.
22. OMS, et al. Manejo y prevención de la diarrea-Pautas prácticas. Editorial Organización Panamericana de la Salud, Bogota-Colombia, quinta Edición 2011.

23. RYAN, Miguel, et al. Infectología Pediátrica. Editorial Saunders, EE UU, Quinta edición 2010.
24. OSBORN, Lucy M., et al. Pediatrics. Editorial Saunders, EE UU, Primera Edición, 2009.
25. PLATA RUEDA, Ernesto, et al. Plata Rueda El Pediatra Eficiente. Editorial Mediciencia, Buenos Aires - Argentina, Edición 2002.
26. POSADA DIAZ, Álvaro, et al. El Niño Sano. Editorial Médica Panamericana, México, tercera edición 2007.
27. PEREZ MORGAN, Renato, Desequilibrio Electrolítico, Editorial Graficart, Quito-Ecuador, séptima edición, 2010.
28. QUIÑONEZ, Ernesto, et al. Bases de Pediatría Crítica. Editorial Nación, Quito-Ecuador, tercera edición 2008.
29. ROMERO CABELLO, Raúl, et al. Síndrome Diarreico Infeccioso. Editorial Médica-Panamericana, México D. F, Primera Edición, 2012.
30. WWW.Spanishmexicocityproceedings.pdf Acta del Sexto Simposio Internacional sobre el Rotavirus celebrado en México del 7-9 Julio del 2009, versión online, editado por Bernice Wuethrich. Primera edición 2010.
31. WWW.AEG.ASOCIACIÓN española de gastroenterología.htm Secretaría técnica: Ediciones Doyma, S.L.Travessera de Gracia, 17 - 2ª edición 08021 Barcelona.
32. [WWW.bbmundo.bbsalud.rotavirus.htm](http://WWW.bbmundo.bbsalud.rotavirus.htm) PDF created with pdf Factory trial version [www.pdfactory.com](http://www.pdfactory.com)
33. ROMERO CARLA, MAMANI NATANIEL, HALVORSEN KJETIL, IÑIGUEZ VOLGA. Enfermedades Diarreicas Agudas asociadas a Rotavirus. Rev.

chil. pediatr. [revista en la Internet]. 2007 Oct [citado 2012 Jul 18] ;  
78(5): 549-558.

Disponible en:

[http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0370-](http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0370-)

41062007000500014&lng=es. doi: 10.4067/S0370-41062007000500014.

34. *Universidad Peruana Cayetano Heredia* Facultad de Medicina "Alberto Hurtado" Av. Honorio Delgado 430 Urb. Ingeniería, San Martín de Porres  
Lima 100 - Perú

# ANEXOS

## ANEXO 1

Loja, 02 de agosto del 2012

Dr.

**Vicente Reyes Rodríguez**

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

Srta. PAULINA MARIBEL OCHOA VARGAS, portadora de la cedula de identidad 1104612534, por medio del presente me dirijo respetuosamente ante su autoridad para desearle éxitos a las delicadas funciones a usted encomendadas, a su vez pongo en su conocimiento que soy estudiante de la Carrera de Medicina del Área de la Salud Humana de la UNL cursando en la actualidad el internado rotativo, y que en meses anteriores solicité se me permita realizar mi trabajo de campo titulado DETERMINACIÓN DE ROTAVIRUS EN NIÑOS (AS) CON ENFERMEDAD DIARREICA AGUDA DE LA CIUDAD DE LOJA, en la población a la cual usted representa, orientada a menores de 2 años de edad y que padezca de tal patología, en el periodo agosto-septiembre 2012; la misma que tuvo una respuesta positiva, es por ello que al haber cambiado la autoridad de tal centro de salud, me siento en la obligación de informarle lo acontecido y solicitarle me ofrezca también su aprobación.

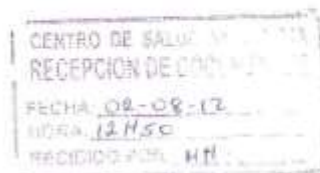
Segura de contar con su valiosa respuesta positiva e indudable sentido de colaboración, me despido de usted no sin antes expresarle mis más sinceros sentimientos de consideración y estima.



**Srta. Paulina Maribel Ochoa Vargas**

C. I. -1104612534

SOLICITANTE .



**ANEXO 2**



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA**

**ÁREA DE LA SALUD HUMANA**

**CARRERA DE ENFERMERIA**

**CONSENTIMIENTO ESCRITO**

Por medio de la presente YO

..... Con cédula de identidad

N°.....madre de familia del niño

.....atendido en esta institución

autorizo a que mi niño/a participe libre y voluntariamente en el presente estudio y autorizo a la Sta., Paulina Ochoa Vargas realizar todos los procedimientos necesarios para realizar el estudio planteado.

Firma del paciente

.....

Firma Familiar

## **ANEXO 3**

GUIA DE INSTRUCCIONES PARA LA TOMA DE MUESTRAS EN HECES

**CENTRO DE SALUD N° 1 DE LA CIUDAD DE LOJA**

**LABORATORIO CLÍNICO**

INDICACIONES GENERALES A LOS NIÑOS/AS QUE SE LES REALIZARÁ EXÁMENES DE ROTAVIRUS.

Se le solicita seguir las siguientes instrucciones:

- Acercarse al laboratorio clínico inmediatamente de recogida la muestra.
- No llevar la muestra en el pañal, luego de la deposición traspasar al frasco recolector de heces.

GRACIAS POR SU COLABORACIÓN.



**ANEXO 4. (HOJA DE DATOS DE LAS PACIENTES Y SOLICITUD DE EXÁMEN)**

**CENTRO DE SALUD N° 1**

**1. DATOS DEL PACIENTE**

Nombre y apellidos completos del paciente.

.....

Edad o fecha de nacimiento.

.....

Domicilio y teléfono

.....

Fecha y hora de recolección de la muestra.

.....

Diagnóstico presuntivo.

.....

**2. SOLICITUD DE EXÁMEN**

**PEDIDO MÉDICO**

**ROTAVIRUS**

<b>ROTAVIRUS</b>	<b>X</b>

**ANEXO 5.**



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA**

**ÁREA DE LA SALUD HUMANA**

**CARRERA DE MEDICINA**

**ENCUESTA**

Encuesta realizada con el propósito de Determinar Rotavirus en niños con Enfermedad Diarreica Aguda y los factores de riesgo más frecuentes. Por favor, con la honestidad que el caso lo requiere, sírvase en contestar las siguientes preguntas:

**DATOS GENERALES:**

1. Edad: .....

0 meses a 6 meses

7 meses a 12meses

13 meses a 18 meses

19 meses a 24 meses

2. Genero: M..... F.....

**3. ¿Tiene alguno de las siguientes molestias su niño/ a?**

Diarrea Si ( ) No ( )

Vomito Si ( ) No ( )

Fiebre Si ( ) No ( )

Dolor abdominal Si ( ) No ( )

Cuáles:.....

**4. ¿Conoce usted que es el Rotavirus?**

Si ( )

No ( )

**5. Ha recibido información sobre Rotavirus?**

Si ( )

No ( )

**6. Sus hijos han sido vacunados contra el Rotavirus?**

Si ( )

No ( )

**7. Usted lava las manos de su niño/a antes de darle un alimento?**

Si ( )

No ( )

**8. Usted desinfecta los objetos o juguetes que su niño/a manipula?**

Si ( )

No ( )

**9. Su hijo asiste a guarderías?**

Si ( )

No ( )

**10. ¿Su vivienda cuenta con los siguientes servicios básicos?**

Agua potable

Luz Eléctrica

Servicios Higiénicos

Otros.....

**12. ¿Dónde se encuentra ubicada su vivienda?**

Área Urbana

Área rural

**13. ¿El lugar donde vive tienes condiciones tales como?**

Suelos húmedos

Temperaturas inapropiadas

Deficientes condiciones

**14. Que tipo de alimentación recibe su hijo ?**

Leche materna

Leche de formula

Otros alimentos.....

**GRACIAS POR SU COLABORACIÓN**



## ROTA-ADENOVIRUS combo cassette CE

PRESENTACION			
REF	4200220	Rota-Adenovirus	20 Tests
Sólo para uso profesional de diagnóstico in vitro			

### ROTA-ADENO VIRUS

Test rápido para la detección cualitativa de Rotavirus y/o Adenovirus en heces.

ONE STEP

#### FUNDAMENTO

Rota-Adenovirus Cassette 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 contra antígenos virales. Durante la prueba, la muestra reacciona con los conjugados coloreados (anticuerpos monoclonales anti-rotavirus-microesferas rojas y anticuerpos monoclonales anti-adenovirus-microesferas azules) previamente secados en la tira de reactiva. Este complejo 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. Independientemente de que haya presencia o no de Rotavirus y/o 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 presencia de esta línea se utiliza: 1) para verificar que el volumen añadido ha sido suficiente; 2) que el flujo ha sido el apropiado; y 3) como control interno de los reactivos.

#### CONTENIDO

- 20 Rota-Adenovirus test Devices
- 20 Tubos de dilución de muestras-tampón de extracción

#### PRECAUCIONES

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).

#### ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

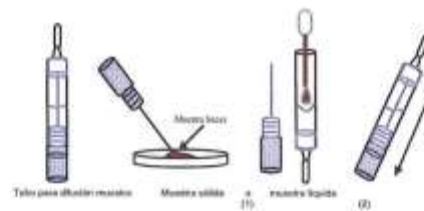
Almacenar a 2-30°C. El dispositivo de ensayo es estable hasta la fecha de caducidad impresa en el blister, siempre que se mantenga en el sobre bien sellado hasta su uso. **NO CONGELAR**. No usar una vez superada la fecha de caducidad.

#### MUESTRAS Y PREPARACION

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 la cubierta 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.



#### EQUIPO ADICIONAL

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

#### TECNICA

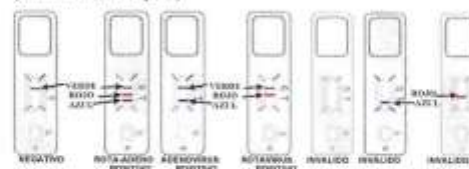
Previamente el dispositivo, las muestras de heces y los controles se deben acondicionar a la temperatura ambiente (15-30°C). No abrir el envase hasta el momento de la prueba.

1. Agitar el tubo de dilución de la muestra para asegurar una buena dispersión. Cortar la punta del tapón (3).
2. Sacar el dispositivo de reacción Rota-Adeno virus 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 5 gotas o 150 µL del líquido y depositarlas en la ventana circular marcada con una fecha o una S en el dispositivo (4).
4. Leer el resultado a los 10 minutos (las líneas coloreadas aparecen).



#### INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

(ver la ilustración adjunta)



**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 verá una línea VERDE en la zona de control y una línea ROJA y una AZUL en la zona de resultados.

**INVALIDO:** Cuando la línea de control (VERDE) no aparece independientemente de que aparezca o no las líneas de resultado (ROJA/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 una nueva tira de reacción. Si persistiese el problema, debe contactar con su proveedor y dejar de utilizar la prueba.

#### NOTAS

La intensidad de las líneas de color rojo y/o azul en la zona de resultados de la tira de reacción variará 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 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.

#### SIGNIFICADO CLINICO

Rotavirus y Adenovirus 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).

#### LIMITACIONES

- Una vez abierto el envase individual, la tira reactiva no debe usarse después de 2 horas.
- 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.
- 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.
- Esta prueba diagnóstica 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 ESPERADOS

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

#### CARACTERISTICAS DEL TEST

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

#### Sensibilidad

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

La detección de Adenovirus presenta un 90% de concordancia en sensibilidad.

#### Especificidad

La detección de Rotavirus presenta un 99% de concordancia en especificidad.

La detección de Adenovirus presenta un 100% de concordancia en especificidad.

El uso de anticuerpos monoclonales en el diseño de Rota - Adeno virus Cassette asegura un alto grado de especificidad para la detección de estos virus.

#### BIBLIOGRAFIA

- Cukor G., and Blacklow N. R., "Human viral gastroenteritis", *microbiological reviews*, vol. 48 no 2, june 1984, pp. 167-179
- Estes, M. K. and Cohen, J., "rotavirus gene structure and function", *microbiological reviews*, vol. 53 no 4, dec. 1989, pp. 410-449
- 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
- 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

04286-1/0757 esp.



**ANEXO 8**

**CENTRO DE SALUD Nº 1**

**ENTREGA DE RESULTADOS**

**FORMATO DE ENTREGA DE RESULTADOS**

**Solicita Dr. (a)** \_\_\_\_\_

**Nombre** \_\_\_\_\_

**Edad** \_\_\_\_\_

**Fecha** \_\_\_\_\_

**MICROBIOLOGIA**

**EXAMEN**

**RESULTADO**

**ROTAVIRUS** \_\_\_\_\_

**Firma del responsable**

**Firma de la Tesista**



## **ANEXO 9**

### **UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA**

#### **ÁREA DE LA SALUD HUMANA**

#### **EXAMEN FISICO**

### **E.D.A POR ROTAVIRUS**

#### **Signos :**

Diarrea: Si ( ) No ( ) N° diario: .....

Vómitos: Si ( ) No ( ) N° diario: .....

#### **Ojos**

Normales Algo hundidos Hundidos

#### **Mucosas**

Normal Seca Agrietada

#### **Lagrimas**

Presentes Disminuidas Ausentes

#### **Fontanela**

Normal Algo deprimida Hundida

#### **Pliegue cutáneo**

Normal < de 2 seg.> 2 seg.

#### **Respiración**

Tranquila Rápida Profunda

#### **Ingestión de Líquidos**

Toma normal Toma ávidamente No bebe

#### **Extremidades**

Calientes Frías Pálidas o azules

**Estado Neurológico**

Normal Irritabilidad Apático o somnoliento

**Fiebre** Si No

T° centígrados.

**Síntomas:**

**Dolor abdominal**

Si No

## CRONOLOGIA FOTOGRAFICA



