



Universidad de Carabobo
Facultad de Ciencias de la Salud
Escuela de Bioanálisis



Departamento de Investigación y Desarrollo Profesional
Asignatura: Trabajo de Investigación

**Características epidemiológicas, clínicas y factores predisponentes
relacionados a la infección por Rotavirus y Adenovirus en niños
menores de tres años con diarrea aguda.**

Autor: Anisbelys Ramírez

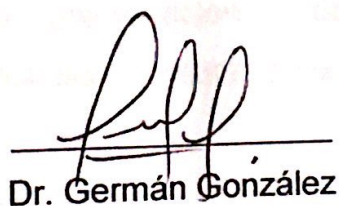
Tutor: Dr. Germán González

Asesora: Dra. Emilia Barrios

Bárbula, Enero 2014

CERTIFICACION DEL TUTOR

Yo, Germán González, portador de la cedula de identidad N.º V- 10.105.054, por medio de la presente certifico que he tenido conocimiento del trabajo de investigación que lleva por titulo: "CARACTERÍSTICAS EPIDEMIOLOGICAS, CLÍNICAS Y FACTORES PREDISPONENTES RELACIONADOS A LA INFECCIÓN POR ROTAVIRUS Y ADENOVIRUS EN NIÑOS MENORES DE TRES AÑOS CON DIARREA AGUDA", desde su inicio hasta su culminación. El mismo fue realizado por la bachiller: AnisbelysRamírez portadora de la cedula de identidad N.º V- 19.588.835, respectivamente. Considero que el presente estudio reúne los requisitos suficientes para ser sometidos a evaluación.



Dr. Germán González

C.I: 10.105.054



ACTA DE EVALUACIÓN

Quienes suscriben, miembros del Jurado designado por la Coordinación de la Asignatura Trabajo de Investigación, para evaluar el trabajo titulado: **"Características epidemiológicas, clínicas y factores predisponentes relacionados a la infección por Rotavirus y Adenovirus en niños menores de tres años con diarrea aguda"**, realizado por la estudiante: **Ramírez Anisbelys**, titular de la Cédula de Identidad No. V-19.588.835, respectivamente; y tutorado por el Profesor: **González Mago German**, titular de la Cédula de Identidad No. V-10.105.054. Hacemos de su conocimiento que hemos actuado como jurado evaluador del informe escrito, presentación y defensa del citado trabajo. Consideramos que reúne los requisitos de mérito para su **APROBACIÓN**.

En fe de lo cual se levanta esta Acta, en Valencia a los 17 días del mes de Enero del año dos mil catorce.

Prof. Tomas Rojas
C.I: 7.014.751
Jurado Principal

Prof. Liliana Castro
C.I: 6.882.353
Jurado Principal

Prof. Emilia Barrios
C.I: 9.636.868
Jurado Principal

AGRADECIMIENTO

Les agradezco a Dios, a mi abuela y padres por su apoyo y consejos, por ellos he alcanzado una de mis grandes metas, la cual constituye la herencia más valiosa que pudieron regalarme; gracias por darme la oportunidad de existir, por sus sacrificios, por su tiempo, por su ejemplo de superación, confianza, amor y amistad.

Agradecida con la Universidad de Carabobo por permitirme ejecutar esta investigación y por ser mi segunda casa, en la cual me forme por cinco años junto a excelentes profesores, los cuales me brindaron sus conocimientos y apoyo incondicional.

Gracias a mi tutor y asesoras metodológicas (Germán González, Emilia Barrios y Carmen Betancourt) por guiarme en la realización de esta investigación, su paciencia y dedicación.

DEDICATORIA

Primeramente a Dios, por darme la fortaleza, salud y esperanza para terminar este trabajo.

A mi familia por apoyarme incondicionalmente en cada etapa de mi vida, en especial a mis padres y abuela por estar presentes en todo momento, dándome esperanza y enseñarme que se debe luchar para alcanzar las metas.

A mi mamá Yanetsi Briceño por tu cariño, paciencia y por recordarme día a día que estuviste conmigo que nada es imposible, y que con fe y perseverancia todo se puede lograr. Donde estés espero te sientas orgullosa.

A mi hermana por ser mi otra mitad, por el entusiasmo y tolerancia que me ha brindado, ha sido parte importante en el desarrollo de este trabajo.

A mis primas y amigas por motivarme y estar conmigo cuando más lo necesito, por hacerme reír, y aguantar mis loqueras durante estos cinco años de carrera, las adoro.

ÍNDICE

	Pág.
Agradecimientos.....	iv
Dedicatoria.....	v
Índice de tablas.....	vii
Resumen.....	viii
Introducción.....	1
Objetivo General.....	5
Objetivo Específicos.....	5
Materiales y Métodos.....	6
Tipo de investigación.....	6
Población de estudio.....	6
Detección de Rotavirus y Adenovirus.....	6
Análisis de los resultados.....	9
Resultados.....	10
Discusión y conclusión.....	15
Referencias bibliográficas.....	17

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla	Descripción	Pág.
1	Características epidemiológicas en niños con diarrea aguda. Hospital "Julia Benítez". Guacara, Edo. Carabobo	12
2	Manifestaciones clínicas en niños con diarrea aguda. Hospital "Julia Benítez". Guacara, Edo. Carabobo.	13
3	Factores predisponentes en niños con diarrea aguda. Hospital "Julia Benítez". Guacara, Edo. Carabobo	14

RESUMEN

Características epidemiológicas, clínicas y factores predisponentes relacionados a la infección por Rotavirus y Adenovirus en niños menores de tres años con diarrea aguda

Autora: AnisbelysRamírez

Tutor: Dr. GermánGonzález

Lugar: Departamento de Microbiología, Instituto de Biología de Parásitos (Biomolp) y Centro de Investigaciones Microbiológicas Aplicadas (CIMA) - Universidad de Carabobo.

Las enfermedades diarreicas constituyen un problema de salud pública en el mundo, especialmente en los países en vías de desarrollo donde representan una importante causa de morbi-mortalidad en niños menores de 5 años. El objetivo del presente estudio fue relacionar las características epidemiológicas, clínicas y los factores predisponentes a la infección por Rotavirus y Adenovirus en niños menores de tres años con diarrea aguda que acuden al Hospital "Julia Benítez", Municipio Guacara, entre los meses de enero- abril 2012. Se realizó un estudiodescriptivo correlacional, no experimental y transversal. Se seleccionaron 40 pacientes mediante un muestreo no probabilístico intencional, los datos fueron obtenidos previo consentimiento de los representantes y a través de una encuesta. La detección de virus se llevó a cabo mediante un método inmunocromatográfico comercial. Se identificó rotavirus en 13 (32,5%) de las muestras analizadas y sólo una (2,5%) resultó positiva para ambos virus. La diarrea por rotavirus fue más frecuente en varones (69,2%), de 12-23 meses de edad (38,5%), pertenecientes a la clase media (46,2%). Las principales manifestaciones clínicas de la diarrea por rotavirus fueron: fiebre (100%), vómitos (69,2%, $P=0,013$), una media de 3,5 evacuaciones al día, heces semi-liquidas (53,8%), con moco (69,2%) y sangre (7,7%). Se encontró una asociación significativa entre los niños que habitan en ranchos rurales y la infección por rotavirus. En conclusión, este estudio demuestra la relevancia de los rotavirus como agente etiológico de la diarrea aguda en niños menores de tres años en nuestro medio.

Palabras clave: diarrea aguda, rotavirus, inmunocromatografía, epidemiología.

INTRODUCCIÓN

Las enfermedades diarreicas constituyen un problema de salud pública en el mundo, especialmente en los países en vías de desarrollo donde representa una importante causa de morbi-mortalidad en niños menores de 5 años. Según datos de la Organización Mundial de la Salud (OMS), cada año se presentan más de 1.300 millones de episodios de diarrea aguda infantil. Se estima que la cifra de muerte debida a gastroenteritis aguda se ubica entre 4 y 6 millones; lo que sitúa esta enfermedad entre las primeras 5 causas de muertes en todo el mundo (1). Existe una amplia gama de microorganismos que pueden causar diarrea en niños, entre los agentes infecciosos destacan principalmente virus como rotavirus, calicivirus, adenovirus y astrovirus; seguido de bacterias como *E. coli* enteroinvasiva, *Salmonella*, *Shigella*, *Yersinia* y *Vibrio cholerae* y parásitos intestinales tales como *Blastocystis sp.*, *Giardia intestinales*, complejo *Entamoeba histolytica/dispar*, *Trichuris trichiura*, *Ascaris lumbricoides*, *Strongyloides stercoralis*, *Cyclospora sp.*, *Cryptosporidium sp.*, *Isospora belli* (2). A pesar de que algunos microorganismos son geográficamente universales, tales como los rotavirus, que se estima puede infectar 90% de la población del mundo menor de 5 años de edad, la mayoría son infecciones entéricas ambientalmente relacionadas al bajo grado de saneamiento ambiental como consecuencia de una mala disposición de excretas y basuras alrededor de las viviendas o deficientes hábitos higiénicos (3).

Entre los agentes virales, los rotavirus son responsables del 40% de las hospitalizaciones por diarreas en menores de 5 años y más de 400.000 muertes al año, constituyendo la principal causa de gastroenteritis aguda en este grupo de edad (4). Los norovirus, son también causa importante de diarreas esporádicas en todas las edades, particularmente en pacientes pediátricos, aislado en diversos ambientes como en hogares de cuidado diario, cruceros, restaurantes, se han asociado a infecciones entéricas por comidas contaminadas, y ocupan el segundo lugar en frecuencia después de los rotavirus (5). Los adenovirus entéricos son

responsables del 1% al 20% de los casos de diarrea infantil y los astrovirus son menos frecuentes, causantes entre el 5% y 10% de las hospitalizaciones en pacientes pediátricos (6). En general, las manifestaciones clínicas más relevantes producidas por los virus entéricos son cuadros de diarrea seguido en ocasiones por náuseas y vómitos, acompañada de dolor abdominal, ruidos abdominales aumentados y febrícula o hasta fiebre alta que dura de 2 a 7 días y que aparece tras un periodo de incubación de 1-3 días (7). Los síntomas de los diferentes agentes infecciosos virales son semejantes; sin embargo, la severidad de estos puede variar, desde asintomáticos hasta grave, como en el caso de rotavirus donde la complicación puede llegar a causar cuadros de deshidratación severa, choque y hasta la muerte; mientras que la infección por calicivirus, adenovirus entéricos y astrovirus resultan poco severas y no causan problemas graves como hospitalización y deshidratación (8).

En Venezuela en el año 2012, la diarrea ocupó el segundo lugar entre las principales causas de consulta, registrándose 31.393 casos (14,06%) (9). La gastroenteritis por rotavirus constituye la primera causa de muerte infantil por diarrea en nuestro país (10). Estimaciones obtenidas al hacer extrapolación de los datos provenientes del Sistema de Vigilancia de Diarreas en la Ciudad Hospitalaria Dr. "Enrique Tejera", en la ciudad de Valencia, indican que los rotavirus causan al año 118.000 episodios de diarrea, 39.000 hospitalizaciones, que explican el 3% de todas las consultas hospitalarias en edad pediátrica y 300 muertes, que representan el 3% de las muertes totales en niños menores de 5 años. En otras palabras, 1 de cada 5 niños consulta al médico debido a la diarrea por rotavirus; 1 de cada 14 niños es hospitalizado y 1 de cada 1.800 niños, muere por causa de la infección por rotavirus (11).

El diagnóstico rápido de las infecciones por rotavirus y adenovirus permite tanto instaurar el tratamiento adecuado y evitar el uso innecesario de antibióticos, como implantar medidas preventivas para evitar la transmisión comunitaria o nosocomial, además de disminuir el número de casos de diarrea de etiología desconocida (12).

Aunque existen distintos métodos para detectar rotavirus en las heces, los más habituales en la práctica clínica son las técnicas inmunológicas (enzimoinmunoensayo, aglutinación con látex e inmunocromatografía), que detectan antígeno de rotavirus del grupo A. Entre estos métodos inmunológicos, el enzimoinmunoensayo es el considerado de referencia por su elevada sensibilidad. La inmunocromatografía, es una técnica introducida más recientemente, y numerosas casas comerciales han desarrollado pruebas para el diagnóstico de rotavirus y adenovirus basados en este método. Se trata de métodos diagnósticos sencillos, rápidos, que no requieren instrumental especial y que presentan valores de sensibilidad y especificidad muy similares a los mostrados por el enzimoinmunoensayo (12).

En un estudio realizado en niños menores de 5 años que presentaron síndrome diarreico agudo (SDA), ingresados en el área de Pediatría del Hospital Verdi Cevallos Balda, durante los meses de abril a octubre de 2011, se reportó que el 54% de los niños eran menores de un año, 58% del sexo masculino, y el 62% residentes de zonas urbanas marginales. El rotavirus fue identificado mediante prueba inmunocromatográfica en un 14,4% (10/69), de los cuales el 70% fue en varones y el 30% en hembras (13). Por otra parte, García et al. (14), evaluaron las características epidemiológicas y clínicas de la gastroenteritis aguda en niños menores de 5 años en una institución privada de Buenos Aires, en el cual el 18,5% de las muestras fueron positivas para rotavirus. Los autores reportaron una mayor frecuencia de casos graves en niños menores de dos años que requirieron hospitalización (14). Con el propósito de conocer la etiología de diarrea aguda en niños menores de 5 años en Ciudad Bolívar, Venezuela, se analizaron 110 muestras de heces para la identificación de parásitos, virus (adenovirus y rotavirus) y bacterias. La prevalencia de parasitosis intestinal fue 27,3%, siendo *Blastocystis hominis* y *Giardia lamblia* las más frecuentes (11,8% y 9,2% respectivamente). Los rotavirus se detectaron en 11 (10%) muestras, con predominio en el grupo de 1-2 años de edad. El 2,7% (3/110) resultó positivo para adenovirus. Las enterobacterias identificadas fueron *Escherichia coli* enteropatógena (2,7%), *Salmonella spp* (1,8%) y *Shigella spp* (0,9%). No se

encontró asociación significativa entre la presencia de virus y las manifestaciones clínicas de los pacientes. Los síntomas clínicos fueron: fiebre (49,1%), dolor abdominal (27,3%) y vómitos (19,1%), en ningún caso se observó deshidratación durante la admisión. Los autores concluyen que la etiología de las diarreas agudas en niños menores de 5 años en Ciudad Bolívar, durante el período de estudio, fue principalmente de origen parasitario y viral (15).

El objetivo del presente estudio fue relacionar las características epidemiológicas, clínicas y los factores predisponentes en niños con diarrea aguda de origen viral; además de enfatizar en el individuo, familia y comunidad, en colaboración con el equipo de salud, el uso de la terapia de rehidratación oral como tratamiento de las diarreas, ya que el uso sistemático de esta terapia en centros de salud y en el hogar favorecerá indudablemente a reducir las tasas de morbi-mortalidad por este motivo (16).

Objetivo General

Relacionar las características epidemiológicas, clínicas y los factores predisponentes a la infección por Rotavirus y Adenovirus en niños menores de tres años con diarrea aguda que acuden al Hospital "Julia Benitez", Municipio Guacara, Estado. Carabobo.

Objetivos específicos

1. Identificar rotavirus y adenovirus entéricos en muestras de heces de niños menores de 3 años que acuden al Hospital "Julia Benitez", Municipio Guacara, Estado. Carabobo.
2. Relacionar los aspectos epidemiológicos, las manifestaciones clínicas y los factores predisponentes a la diarrea aguda con los virus identificados.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se llevo a cabo un estudio descriptivo correlacional, no experimental y transversal, con un muestreo tipo no probabilístico e intencional

Población de estudio

Se analizaron 40 muestras fecales provenientes de niños menores de tres años con síndrome diarreico agudo que acudieron durante los meses de enero-abril 2012 al Laboratorio Clínico Municipal "Dr. Rafael Rangel", ubicado en el Hospital "Julia Benítez", Municipio Guacara, Edo. Carabobo. Se definió como diarrea aguda a la presencia de tres o más evacuaciones de consistencia alterada (líquida o semilíquida) con moco o sangre en un período de 24 horas, con una duración no mayor de 14 días (17).

Luego de obtener el consentimiento informado de los representantes, se registró información epidemiológica (edad, sexo, estrato socioeconómico), clínica (fiebre, vómitos, número de evacuaciones, tipo de heces, área de atención) y factores predisponentes (tipo de vivienda, número de personas en el hogar, disposición de excretas, agua para el consumo y tipo de alimentación), en una historia clínica.

El estrato socioeconómico se calculó mediante el método de Graffar modificado (18)

Detección de rotavirus y adenovirus

Ensayo inmunocromatográfico

El procedimiento consistió en tomar 100 μ L de cada muestra y se diluyó en tubos conteniendo una solución tampón, se agitó para facilitar la dispersión de la muestra y se observó la aparición de las bandas en un tiempo no mayor a los 10 min.

Para el estudio de los agentes virales, las heces debidamente recolectadas fueron preservadas a -20°C hasta su procesamiento. Los virus se identificaron mediante

una prueba cualitativa inmunocromatográfica empleando el estuche comercial (CerTest Rotavirus-Adenovirus, (España), siguiendo las instrucciones de fabricante. La prueba permite la doble detección cualitativa de rotavirus del grupo A y adenovirus entéricos (serotipos 40/41) en muestras fecales. La prueba se realizó mediante un dispositivo que contiene un pocillo para dispensar la muestra y una zona de resultados compuesta por una membrana a la cual se han fijado previamente anticuerpos monoclonales contra los 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) proporcionados en el soporte de la prueba. Este complejo avanza por capilaridad a través de la membrana del test al colocarle la muestra fecal.

Para un resultado positivo de Rotavirus y/o Adenovirus los anticuerpos específicos presentes en la membrana, capturarán los antígenos conjugados a las partículas coloreadas. 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 lo cual se hace evidente con una línea verde que además indica que el volumen de muestra y flujo de reactivos fue el adecuado.

La presencia de una banda de color rojo indica un resultado positivo para rotavirus, una banda de color azul indica la presencia de adenovirus y en caso de coinfecciones, se visualizarán ambas bandas.

Inicialmente para la identificación de rotavirus se utilizó el método de electroforesis vertical en gel de poliacrilamida (PAGE) y horizontal en gel de agarosa, previa extracción del ácido nucleico viral.

Extracción del ácido nucleico

Para la extracción del ARNdc viral se utilizó un estuche comercial (Favorgen, Taiwan), siguiendo las instrucciones del fabricante. Para ello, se tomaron 150 μ l de la suspensión fecal al 10% en agua destilada, se le añadieron 570 μ l de tampón VNE (sales caotrópicas) conteniendo ARN "carrier", se incubaron por 10 min. a temperatura ambiente. Se añadieron 570 μ l de etanol (96-100%), se agitaron en un vortex (MyLab TM-Vortex SLV1) por 15 seg y se centrifugaron a 8.000 x g (Eppendorf, Modelo 5415c, Brinkmann Instruments Inc., NY, EEUU.) por un minuto. Se tomaron 700 μ l de la solución anterior y se colocaron en el concentrador conteniendo la membrana de silica, se centrifugaron a 8.000 x g por 1 min, se descartó el filtrado, se colocó la columna en un nuevo tubo y se repitió el paso anterior. Se realizaron dos lavados; para el primero, se añadieron 500 μ l de solución de lavado 1, se centrifugó a 8.000 x g por 1 min, se descartó el filtrado y se colocó la columna en un nuevo tubo. Para el segundo lavado, se agregaron 750 μ l de la solución de lavado 2. Se centrifugó a 8.000 x g durante 1 min, se descartó el filtrado y se repitió nuevamente este último paso de lavado. Se procedió a centrifugar a 13.000 x g durante 3 min, para secar completamente la columna. Para eluir el ácido nucléico, se colocó la columna en un tubo nuevo y se agregaron 50 μ l de agua libre de ARNasas en el centro de la columna, se incubó por 1 min. a temperatura ambiente y se centrifugó a 8.000 x g por 2 min. Así, el ARN aislado se almacenó a -20°C hasta su uso.

Electroforesis en geles de poliacrilamida y agarosa

Para la separación de los segmentos de ARN se realizó una electroforesis horizontal en geles planos de agarosa 1% y la corrida se llevó a cabo a temperatura ambiente a 100V por 90 min utilizando el buffer de corrida TBE 1X. Los geles de agarosa se sumergieron en la solución de bromuro de etidio (1 μ g/ml) por 15 minutos, luego las bandas se visualizaron sobre un transiluminador UV (19). La electroforesis en gel de poliacridamida (PAGE) se realizó en un gel plano a una concentración de 5%, utilizando buffer de corrida tris-glicina y la

electroforesis vertical se dejó correr por 5 horas a temperatura ambiente con una corriente constante de 30mA (19). Finalizada la corrida, los geles fueron lavados con agua bidestilada por 30 minutos. Seguidamente, se reemplazó por una solución de nitrato de plata 12 mM por 30 minutos y luego se enjuagó dos veces con agua bidestilada. La etapa de reducción se llevó a cabo con una solución de hidróxido de sodio 0.75M que contiene formaldehído 0,76% (20). Para ambas técnicas se utilizó como control de referencia la cepa OSU (Ohio State University) de rotavirus porcino, mantenida y crecida en el laboratorio en células MA-104, la cual fue gentilmente cedida por el Dr. José Luis Zambrano (Lab. de Biología de Virus, IVIC).

Análisis de los resultados.

La información epidemiológica, clínica, factores predisponentes a la infección y los resultados de los virus se introdujeron en una base de datos. Se aplicaron métodos de estadística descriptiva (porcentajes) para cada una de las variables en estudio. Para la búsqueda de asociaciones entre las variables cualitativas entre dos grupos, se utilizó la prueba exacta de Fisher (dos colas). Los valores $P < 0,05$ fueron considerados como estadísticamente significativos. Se compararon frecuencias de cada una de las variables en individuos positivos para alguno de los patógenos en estudio, versus individuos sin agente etiológico viral conocido. Finalmente, los datos fueron expresados en tablas.

RESULTADOS

La población estuvo conformada por 27 (67,5%) varones y 13 (32,5%) hembras, con una edad promedio de 12 meses. La distribución por grupos de edad fue la siguiente: 30% de 0 a 5 meses, 17,5% de 6 a 11 meses, 30% de 12 a 23 meses y 22,5% >3 años. En relación al nivel socioeconómico de la población, el 50% perteneció a la clase media (estrato socioeconómico 2 y 3), el 42,5% a la clase obrera y el 7,5% a la clase marginal. El 75% de los niños fueron atendidos de forma ambulatoria y el 25% ingresado al área de hospitalización (Tabla 1).

La detección del ARN viral mediante la determinación del perfil electroforético en geles de poliacrilamida y agarosa empleado para detectar la presencia de rotavirus en las muestras fecales, no fue exitosa. En vista de los resultados anteriores, se evaluaron un total de 40 muestras fecales provenientes de niños menores de tres años con diarrea aguda mediante pruebas inmunocromatográficas de las cuales 13 (32,5%) fueron positivas para rotavirus, 26 (65%) negativas, 1 (2,5%) presentó coinfección rotavirus / adenovirus.

En cuanto a las características epidemiológicas de la población de estudio, se observó una mayor frecuencia de casos positivos a rotavirus en el grupo de edad de 12-23 meses (38,5%, 5/13), del sexo masculino (69,2%, 9/13), pertenecientes a la clase media (46,2%, 6/13) (Tabla1). Sin embargo, no se encontró asociación estadísticamente significativa entre las características epidemiológicas y la presencia de rotavirus.

Con relación a las manifestaciones clínicas, el 97,5% (39/40) de los niños evaluados presentó fiebre y el 40% (16/40) vómitos. Se presentaron hasta un máximo de seis evacuaciones en un período de 24 horas (media: 4 evacuaciones), el 52,5% (21/40) de las heces fueron de consistencia semi-líquida y el 15% (6/40) líquida, siendo la presencia de moco en las mismas, la característica más frecuente (65%, 26/40) y sólo 4 (10%) muestras presentaron sangre. Asimismo, se

observó una asociación significativa entre la presencia de vómitos y la diarrea por rotavirus (69,2% vs. 23,1%, $P=0,013$) (Tabla 2).

Al evaluar los factores predisponentes relacionados a los episodios de diarrea, sólo se encontró asociación significativa entre aquellos niños que habitan en rancho rural y la infección por rotavirus (53,8% vs. 3,8%, $P=0,001$) (Tabla 3).

Tabla 1. Características epidemiológicas en niños con diarrea aguda. Hospital "Julia Benítez". Guacara, Edo. Carabobo

	Rotavirus positivos (n=13)	Rotavirus negativos (n=26)	Población total (n=40)
Edad (meses)			
0-5	3 (23,1)*	8 (30,8)	12 (30)
6-11	3 (23,1)	4 (15,4)	7 (17,5)
12-23	5 (38,5)	7 (26,9)	12 (30)
24-35	2 (15,3)	7 (26,9)	9 (22,5)
Género			
Masculino	9 (69,2)	17 (65,4)	27 (67,5)
Femenino	4 (30,8)	9 (34,6)	13 (32,5)
Estrato socioeconómico (Graffar)			
1 (clase alta)	0	0	0
2 - 3 (clase media alta y baja)	6 (46,2)	14 (53,9)	20 (50)
4 (clase obrera)	5 (38,5)	11 (42,3)	17 (42,5)
5 (clase marginal)	2 (15,3)	1 (3,8)	3 (7,5)
Área de atención			
Ambulatorio	11 (84,6)	19 (73,1)	30 (75)
Hospitalización	2 (15,4)	7 (26,9)	10 (25)

*Número de casos (%)

Tabla 2. Manifestaciones clínicas en niños con diarrea aguda. Hospital "Julia Benítez". Guacara, Edo. Carabobo.

	Rotavirus positivos (n=13)	Rotavirus negativos (n=26)	Población total (n=40)
Fiebre	13 (100)*	25 (96,2)	39 (97,5)
Vómitos	9 (69,2)**	6 (23,1)	16 (40)
Nº de evacuaciones en 24 horas			
1-3	7 (53,8)	19 (73,1)	26 (65)
4-6	6 (46,2)	7 (26,9)	14 (35)
Tipo de heces			
Semi-liquida	7 (53,8)	13 (50)	21 (52,5)
Liquida	4 (30,8)	2 (7,7)	6 (15)
Con moco	9 (69,2)	16 (61,5)	26 (65)
Con sangre	1 (7,7)	3 (11,5)	4 (10)

*Número de casos (%)

**P= 0,013. Prueba exacta de Fisher (dos colas)

Tabla 3. Factores predisponentes en niños con diarrea aguda. Hospital "Julia Benítez". Guacara, Edo. Carabobo.

	Rotavirus positivos (n=13)	Rotavirus negativos (n=26)	Población total (n=40)
Tipo de vivienda			
Apartamento	1 (7,7)*		
Casa	3 (23,1)	1 (3,8)	25 (5)
Rancho urbano	2 (15,4)	14 (53,9)	17 (42,5)
Rancho rural	7 (53,8)**	10 (38,5)	13 (32,5)
		1 (3,8)	8 (20)
Nº de personas en hogar			
<5	1 (7,7)	9 (34,6)	10 (25)
5	5 (38,5)	9 (34,6)	14 (35)
>5	7 (53,8)	8 (30,8)	16 (40)
Disposición de excretas			
Aire libre	2 (15,4)	1 (3,8)	3 (7,5)
Letrina	0	0	0
Pozo séptico	4 (30,8)	5 (19,2)	10 (25)
Poceta	7 (53,8)	20 (77)	27 (67,5)
Agua para consumo			
Botellón	2 (15,4)	2 (7,7)	4 (10)
Filtrada	1 (7,7)	3 (11,5)	4 (10)
Hervida	0	1 (3,8)	1 (2,5)
Chorro	10 (76,9)	20 (77)	31 (77,5)
Presencia de animales en el hogar			
Si	9 (69,2)	15 (57,7)	25 (62,5)
No	4 (30,8)	11 (42,3)	15 (37,5)

*Número de casos (%)

**P= 0,001. Prueba exacta de Fisher (dos colas)

DISCUSION

La infección por rotavirus ocupa el primer lugar en la incidencia de enfermedades diarreicas agudas en menores de 5 años, generando una gran cantidad de consultas ambulatorias, hospitalizaciones y muertes en todo el mundo. Los rotavirus son responsables de más de 400.000 muertes anuales y aproximadamente 40% de las hospitalizaciones por diarrea en este grupo de edad (4). En el presente estudio, se relacionaron las características epidemiológicas y clínicas con la presencia de rotavirus y adenovirus causantes de diarrea aguda en niños menores de tres años. Los resultados de las electroforesis en geles de agarosa y poliacrilamida, posterior a la extracción del ácido nucleico viral, no mostraron bandas visibles de ARN viral, tal como se ha reportado en otros estudios realizados en el país (21-24). En cuanto a este hallazgo, la literatura refiere que el ARN es lábil y susceptible a la degradación por ARNasas presentes en muestras biológicas (25); otra posibilidad es que el método comercial de extracción de ácidos nucleicos empleado en el presente estudio, no sea el más adecuado para obtener la cantidad suficiente de ARN rotaviral que permita la visualización de las bandas en los geles de agarosa y/o poliacrilamida.

Una vez analizadas las muestras mediante pruebas inmunocromatográficas el principal patógeno viral aislado en este estudio fue rotavirus, con una frecuencia de 32,5% (13/40), observándose un predominio del género masculino 69,2% (9/13). Este resultado es similar al reportado por otros autores en el país (26-28), pero difiere de otros estudios que señalan una frecuencia de rotavirus menor al 25% (11, 29). Solo se detectó una muestra positiva para adenovirus entérico (2,5%), la cual a su vez presentó coinfección con rotavirus. La baja frecuencia de adenovirus hallada en el presente estudio coincide con los resultados obtenidos por otros autores (15, 30).

En este trabajo, la diarrea aguda se observó principalmente en el grupo de edad de 12 meses, tal como se reportó por Cermeño et al. (15). De

acuerdo al área de atención, se encontró que los rotavirus se asocian al 84,6% de las diarreas ambulatorias y al 15,4% de las hospitalizaciones, lo cual difiere con lo reportado por González et al., quienes hallaron un 36% de diarreas por rotavirus en casos ambulatorios y un 45% en pacientes hospitalizados (31).

Al comparar la frecuencia de infección por rotavirus con las manifestaciones clínicas de la diarrea aguda, se observó que los rotavirus se asocian con la presencia de vómitos (69,2% $P=0.013$) y fiebre (100%), tal como se ha reportado en otros estudios realizados Valencia y Latinoamérica (10, 11, 32-35). Sin embargo, contrasta con otro estudio donde la fiebre y los vómitos no fueron frecuentes (36). Asimismo, la mayoría de los niños (53,8%) presentaron de 1 a 3 evacuaciones diarias, el (84,6%) entre semilíquidas y líquidas y la mayoría de ellas (62,9%) con moco, circunstancias que también se ha descrito en otros estudios (15, 35).

En cuanto a los factores predisponentes a la diarrea por rotavirus se encontró una asociación estadísticamente significativa entre los niños que habitan en rancho rural y la presencia de rotavirus, así como una mayor frecuencia (53,8%) en aquellos que viven con un mayor número de personas en el hogar, lo que sugiere que la pobreza, las inadecuadas técnicas de higiene y el hacinamiento, pueden influir en la diseminación del virus mediante la contaminación ambiental y la transmisión fecal-oral.

Finalmente, este estudio confirma la relevancia que tienen los rotavirus como principales agentes etiológicos de la diarrea aguda en niños menores de tres años y da a conocer las características socio-epidemiológicas que influyen en su diseminación, con el fin de prevenir los factores de riesgos descritos, a través de la educación permanente como medida tendente a aumentar los conocimientos y hábitos saludables en la población.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Wilhelmi I, Mohedano R, Sánchez F A. Rotavirus y otros virus productores de gastroenteritis. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2008; 26:61-65.
2. Rivero Z, Maldonado A, Bracho A, Castellanos M, Torres Y, Costa L. et al. Prevalencia de enteroparásitos, rotavirus y adenovirus en niños aparentemente sanos. *Kasmera* 2009; 37: 62-73.
3. Petri W, Miller M, Binder H, Levine M, Dillingham R, Guerrant R et al. Enteric infections, diarrhea, and their impact on function and development. *Clin Invest*. 2008; 118:1277–1290.
4. Organización Panamericana de la Salud. Alerta Epidemiológica: Actualización, diarreas por rotavirus (7 de abril de 2010). [Consultada el 15 marzo de 2012]. Disponible en: http://new.paho.org/hq/dmdocuments/2010/alertas_epi_2010_07_abril_rotavirus_GUT.pdf.
5. Glass RI, Parashar UD, Estes MK. Norovirus gastroenteritis. *N Engl J Med* 2009; 361:1776-1785.
6. Ramón E, Marcel J. La Microbiología Actualizada en Enfermedades Emergentes y Re-emergente Parte II. *VITAE* 2005; (24): 1-72.
7. Guix A S. La proteína nsp1a/4 y el ciclo biológico de Astrovirus: Aplicación en epidemiología molecular [tesis doctoral]. Barcelona: Universitat de Barcelona; 2003.
8. Organización Panamericana de la Salud. Vigilancia epidemiológica de diarreas causadas por rotavirus: guía práctica. Washington, D.C: OPS, 2007. (Publicación Científica y Técnica No. 623). ISBN 92 75 31623 6.
9. EPI-12. Dirección de vigilancia epidemiológica Ministerio del Poder Popular Para la Salud (MPPS). 2012. [Consultado el 18 de abril 2012]. Disponible

en:

http://www.mpps.gob.ve/index.php?option=com_content&view=article&id=927&Itemid=948

10. Pérez-Schael I, Salinas B, González R, Salas H, Ludert JE, Escalona M, et al. Rotavirus mortality confirmed by etiological identification in Venezuelan children with diarrhea. *Pediatr Infect Dis J*. 2007; 26:393-397.
11. Salinas B, González G, González R, Escalona M, Materán M, Perez-Schael I et al. Epidemiologic and clinical characteristics of rotavirus disease during five years of surveillance in Venezuela. *Pediatr Infect Dis J*. 2004; 23 (Suppl):161-167.
12. Téllez C, Montava R, Ribes J, Tirado M, Buesa J. Evaluación de dos equipos inmunocromatográficos comerciales para el diagnóstico rápido de la infección por rotavirus. *Rev Argent Microbiol*. 2008; 40: 167-170.
13. Mejía J, Santana V, Incidencia de síndrome diarreico agudo por rotavirus en niños menores de 5 años ingresados en el área de pediatría "Dr. Hospital Verdi Cevallos Balda" abril a octubre de 2011. [Consultado el 23 de noviembre de 2013]. Disponible en: <http://repositorio.utm.edu.ec/bitstream/123456789/385/1/TESIS%20COMPLETA.pdf>
14. García C, Larr N, Pastene H, Gutiérrez L, Vaccaro J, Sciarrotta J et al. Características epidemiológicas y clínicas de las gastroenteritis agudas según su etiología por rotavirus u otra en niños menores de 5 años atendidos en una institución privada de la Ciudad Autónoma de Buenos Aires. *Arch Argent Pediatr*. 2013; 111: 218-223
15. Cermeño J, Hernández I, Camaripano M, Medina N, Guevara A, Hernández C et al. Etiología de diarrea aguda en niños menores de 5 años. Ciudad Bolívar, Venezuela. *Rev Soc Ven de Microbiol*. 2008; 28: 55-60.

16. Gorter A, Sanchez G, Pauw J, Pérez M, Sandiford P, Smith P. Diarrea infantil en la Nicaragua rural: creencias y prácticas de salud tradicionales. Bol Ofic Sanit Panam. 1995; 119: 377-381.
17. Romero C, Herrera B.I. Síndrome Diarreico Infeccioso. España: editorial Panamericana 2002; 1-84
18. Méndez-Castellano H, De Méndez MC. Estratificación social y biología humana: método Graffar modificado. Arch Venez Puerc Pediatr 1986; 49: 93-104.
19. Chudzio T, Kasatiya S, Irvine N, Sankar-Mistry P. Rapid screening test for the diagnosis of rotavirus infection. J Clin Microbiol. 1989; 27: 2394-2396.
20. Herring AJ, Inglis NF, Ojeh CK, Snodgrass DR, Menzies JD. Rapid diagnosis of rotavirus infection by direct detection of viral nucleic acid in silver-stained polyacrylamide gels. J Clin Microbiol. 1982; 16: 473-477.
21. Callejas D, Estévez J, Blitz-Dorfman L, García D. Epidemiología molecular de subgrupos y serotipos de rotavirus en niños menores de cuatro años de la ciudad de Maracaibo con síndrome diarreico. Invest Clin. 1994; 35: 3-18
22. Sulbarán M, Maldonado A, Bastardo J. Método rápido de diagnóstico de rotavirus en heces. Rev Saber. 2000; 12: 29-36.
23. Sulbarán M, Maldonado A, Rojas Y, Bastardo J. Características clínicas de la gastroenteritis por rotavirus y su asociación con distintos electroferotipos. Kasmera 2002; 30: 126-136.
24. Rojas Y, Bastardo JW, Sulbarán MZ. Prevalencia de rotavirus y su relación con factores climáticos en Cumaná, Venezuela. Kasmera. 2003; 31:20-28.
25. Rivera M, Vial P, Potin M, Prado P, Amarales P, O'Ryan M. et al. Evaluación de cuatro métodos para detección de rotavirus en deposiciones en niños chilenos. Rev Chil Pediatr. 1995; 66: 150-155.

26. Urrestarazu M, Liprandi F, Pérez de Suárez E, González R, Pérez-Schael I. Características etiológicas, clínicas y sociodemográficas de la diarrea aguda en Venezuela. *Rev Panam Salud Pública* 1999; 6:149-156.
27. O'Ryan M, Perez-Schael I, Mamani N, Peña A, Salinas B, González G et al. Rotavirus-associated medical visit and hospitalizations in South America: a prospective study three large sentinel hospitals. *Pediatr Dis J* 2001; 20:685-693.
28. Pérez-Schael I, González I, Fernández F, Alfonzo E, Inaty D, Boher et al. Epidemiological features of rotavirus infection in Caracas, Venezuela. *J Med Virol* 1999; 59: 520-526.
29. González R, Salas-Maronsky H, Balebona E, Martínez J, Serran N, Pérez-Schael I. Estudio epidemiológico y clínico de las diarreas por rotavirus en niños menores de 5 años atendidos en centros asistenciales del estado Miranda-Venezuela. *Invest Clin* 2008; 49: 499-510.
30. Pérez W, Decia M, Guzzo F, Montano A. Gastroenteritis aguda en lactantes. *Arch Pediatr Urug* 2011; 82: 4-9.
31. González F, Sordo M, Rowensztein G, Sabbag L, Roussos S, Petre E. Diarrea por rotavirus. *Medicina* 1999; 59: 321-326
32. González G, Liprandi F, Ludert J. Molecular epidemiology of enteric viruses in children with sporadic gastroenteritis in Valencia, Venezuela. *J Med Virol* 2011; 83: 1972-1982.
33. Felipe F, Gutiérrez C, Villa S, Calva J, Arias C, Padilla L et al. Pronóstico de la diarrea por rotavirus. *Salud Pública de Méx* 2001; 43: 524-528.
34. Sabbaj L, Petre E, Gómez J, Sordo M. Rotavirus en la diarrea aguda. *Arch Argent. Pediatr.* 2001; 99: 486-490.

35. Maldonado A, Franco M, Blanco A, Villalobos L, Martínez R, Hagel I et al. Características clínicas y epidemiológicas de la infección por rotavirus en niños de Cumaná, Venezuela. Invest Clin 2001; 51: 519-529.
36. Macias J, Delgado Y. Incidencia de síndrome diarreico agudo por rotavirus en menores de 3 años ingresados en el Hospital Verdi Cevallos Balda. Enero-junio 2005. [Consultado el 12 de octubre de 2013]. Disponible en: <http://es.scribd.com/doc/52939685/ROTAVIRUS>.