

**VALIDEZ Y CONFIABILIDAD DEL MÉTODO INMUNOCROMATOGRÁFICO  
PARA DIAGNÓSTICO DE ROTAVIRUS EN HECES DIARREICAS EN  
MENORES DE 5 AÑOS HOSPITAL SAN MARTIN DE PORRES IBUELO  
ENERO 2017 - AGOSTO 2018**

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA “JUAN MISAEL SARACHO”  
SECRETARIA DE EDUCACIÓN CONTINÚA  
DIRECCIÓN DE POSTGRADO  
POS GRADO EN SALUD**



**Tesis de grado**

**Validez y confiabilidad del método inmunocromatográfico para diagnóstico de rotavirus en heces diarreicas en menores de 5 años Hospital San Martin de Porres Ibuelo enero 2017 - agosto 2018**

**Por:**

**Lic. Lenny Romanet Quiroga Bustos**

**Tesis presentada a consideración de la Universidad Autónoma Juan Misael Saracho, como requisito para la obtención del título de Maestría en Bioquímica Clínica y Microbiología Cochabamba–Estado Plurinacional de Bolivia**

**2018**

El tribunal calificador de este trabajo no se solidariza con la forma, términos, modos y expresiones, vertidas en el mismo, siendo esta responsabilidad del autor (a)

**APROBADO:**

---

**(Nombre tutora o tutor)**

---

**SECRETARIO EDUCACIÓN CONTINUA**

**TRIBUNAL:**

---

**MSc.**

---

**MSc.**

---

**MSc.**

Doy gracias a Dios y a mis padres y amigas (os) por el apoyo incondicional que me brindaron siempre.

# INDICE GENERAL

**INTRODUCCIÓN.....¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.**

**1. CAPÍTULO: PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN.....¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.**

1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.
1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA .....	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.
1.3. OBJETIVOS .....	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.
1.3.1. OBJETIVO GENERAL .....	6
1.3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	6
1.4. JUSTIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN.....	6
1.5. VIABILIDAD.....	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.

**2. CAPÍTULO: MARCO TEÓRICO.....¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.**

2.1.1. ANTECEDENTES .....	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.
2.1.2. ENFERMEDAD DIARREICA AGUDA.....	9
2.1.3. ROTAVIRUS.....	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.2
2.1.3.1. ESTRUCTURA .....	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.
2.1.3.2. CLASIFICACION .....	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.4
2.1.3.3. PATOGENIA.....	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.4
2.1.3.4. CUADRO CLINICO.....	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.5
2.1.3.5. TRANSMISION DEL ROTAVIRUS.....	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.6
2.1.3.6. TRATAMIENTO Y CONTROL.....	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.6
2.1.4. FACTORES PREDISONENTES.....	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.7
2.1.5. PREVENION Y CONTROL.....	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.
2.1.6. DIAGNOSTICO DIFERENCIAL .....	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.
2.1.7. DIAGNOSTICO DE LABORTORIO .....	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.20
2.1.7.1. FUNDAMENTO DE LAS TECNICAS DE DETECCION DE ANTIGENO ...	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.20
2.1.7.2. TECNICAS DE DETECCION DE ANTIGENO.....	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.1
2.1.8. METODOS USADOS EN LA INVESTIGACION .....	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.4
2.1.8.1. METODO INMONOCROMATOGRAFICO ICT .....	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.4
2.1.8.2. ELISA PROSPECT .....	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.6
2.1.9. CONTROLES DE CALIDAD .....	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.26
2.1.10. CONSIDERACIONES FINALES.....	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.7
2.2. MARCO TEORICO REFERENCIAL.....	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.7
2.3. ALCANCE DEL ESTUDIO.....	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.4
2.4. HIPOTESIS.....	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.5

**3. CAPÍTULO: DISEÑO METODOLÓGICO.....¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.6**

3.1.	TIPO DE ESTUDIO .....	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.6
3.2.	UNIVERSO .....	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.7
3.3.	CRITERIOS DE SELECCIÓN .....	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.7
3.3.1.	CRITERIOS DE INCLUSIÓN.....	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.7
3.3.2.	CRITERIOS DE EXCLUSIÓN. ....	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.7
3.4.	UNIDAD DE ANÁLISIS. ....	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.
3.5.	POBLACIÓN DE ESTUDIO (DIANA).....	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.8
3.6.	MUESTRA .....	38
3.7.	OPERACIONALIZACION DE VARIABLES .....	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.9
3.7.1.	VARIABLES DEFINICION CONCEPTUAL .....	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.9
3.7.2.	OPERACIONALIZACION DE VARIABLES .....	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.4
3.7.2.1.	OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES DEL OBJETIVO 1 .....	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.4
3.7.2.2.	OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES DEL OBJETIVO 2 .....	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.4
3.7.2.3.	OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES DEL OBJETIVO 3 .....	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.
3.7.2.4.	OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES DEL OBJETIVO 4 .....	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.
3.8.	RECOLECCIÓN DE DATOS, FUENTES, TÉCNICAS E INSTRUMENTOS	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.6
3.9.	PLAN DE ANÁLISIS ESTADÍSTICO .....	50
3.10.	ASPECTOS ÉTICOS DE LA INVESTIGACIÓN .....	51

#### **4. CAPÍTULO: RESULTADOS ANÁLISIS Y DISCUSIÓN..... 53**

4.1.1.	FRECUENCIA DE ENFERMEDAD DIARREICA AGUDA CAUSADA POR ROTAVIRUS SEGUN GRUPO ETARIO Y GENERO EN LA POBLACION DE ESTUDIO. ....	53
4.1.2.	POSITIVIDAD DE ROTAVIRUS SEGÚN ESQUEMA DE VACUNACION	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.6
4.1.3.	VALIDEZ Y CONFIABILIDAD DE LA PRUEBA INMUNOCROMATOGRAFICA PARA EL DIAGNOSTICO DE ROTAVIRUS EN RELACION AL ELISA.....	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.7
4.1.4.	GRADO DE CONCORDANCIA ENTRE EL METODO INMUNOCROMATOGRAFICO Y LA PRUEBA DE ELISA PARA DIAGNOSTICO DE ROTAVIRUS.....	60
4.5.	DISCUSION .....	60

#### **5. CAPÍTULO: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES ..... ¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.65**

5.1.	CONCLUSIONES .....	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.65
5.2.	RECOMENDACIONES .....	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.66

#### **BIBLIOGRAFÍA..... ¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.67**

Anexos.....	74
-------------	----

## Lista de acrónimos

<b>ELISA</b>	Ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas
<b>EIA</b>	Enzimo inmuno análisis
<b>PCR</b>	Reacción en cadena de la polimerasa
<b>WB</b>	Western Blot
<b>RV</b>	Rotavirus
<b>Ac*</b>	Anticuerpo específico
<b>Ag</b>	Antígeno
<b>VP6</b>	Proteína estructural del rotavirus
<b>NSP4</b>	Glicoproteína no estructural del rotavirus
<b>ICT</b>	Prueba inmunocromatográfica
<b>IBMB</b>	Instituto de Biología Molecular y Biotecnología
<b>AIEPI</b>	Atención Integrada a las Enfermedades Prevalentes De la Infancia
<b>EDA</b>	Enfermedad diarreica aguda
<b>PAGE</b>	Electroforesis en gel de poliacrilamida
<b>ICT-RV</b>	Inmunocromatografía rotavirus
<b>EPP</b>	Elementos de protección personal

## RESUMEN

**Objetivo:** Evaluar la validez y confiabilidad del método inmunocromatográfico (ICT OneSite™ Rotavirus Ag Rapid test), en el diagnóstico del rotavirus grupo A, tomando como referencia al método ELISA ProsPect (uno de los ensayos recomendado por la OMS), en muestras de heces diarreicas en niños menores de 5 años del hospital san Martín de Porres Ibuelo de enero del 2017 a agosto del 2018.

**Material y métodos:** Estudio cualitativo, descriptivo correlacional, transversal, prospectivo y no experimental en el que se aplicó una ficha de recolección de datos sobre muestras

**Resultados:** Se seleccionaron 272 muestras de heces fecales de niños que presentaban síntomas de diarrea aguda, los resultados obtenidos en este estudio indican que se tuvo 66 (24%) de positividad y de este resultado los niños varones fueron los más afectados siendo en número 40 (61%), así mismo la edad más afectada por el virus se encontró en el rango de 7 a 12 meses de edad, de las 66 muestras positivas para rotavirus 35 (53%), tienen esquema completo de inmunización y 28 (42%) no recibió vacunas, por no encontrarse en la edad de aplicación de la vacuna.

Los resultados obtenidos por el método de ELISA ProsPect de las 272 muestras 66 mostraron positividad para rotavirus, mientras que por el ICT se identificaron a 131 muestras como positivas para rotavirus, Las muestras que dieron resultados discrepantes entre ambos métodos fueron evaluadas por RT-PCR para confirmar la presencia del RNA del virus, siendo los resultados concordantes con los obtenidos por ELISA. Por lo que se obtuvo una sensibilidad 93,9% y una especificidad de 66.5% para el método ICT. Los valores predictivos positivo (VPP) y negativo (VPN) fueron del 47,33% y 97,16% respectivamente.

La probabilidad de concordancia según el índice de Kappa fue de 0.453 lo cual indica un valor moderado.

**Conclusiones:** Los datos obtenidos indican que el método ICT puede ser utilizado como alternativa para el diagnóstico rápido de rotavirus en heces, pero para una mayor precisión sus resultados deberán confirmarse por ELISA.

**Palabras clave:** Inmunocromatografía, Rotavirus, Infección, Elisa.

## INTRODUCCION

Las infecciones por Rotavirus se suman a las 7 pandemias mundiales que diezman a la población del planeta tierra, consideradas como las epidemias virales del Siglo XXI. Los costos médicos directos de atención a pacientes por gastroenteritis viral son alrededor de 264 millones de dólares, en Estados Unidos supera los mil millones de dólares. (7)

Las enfermedades diarreicas son la segunda mayor causa de muerte de niños menores de cinco años, y ocasionan la muerte de 525.000 niños cada año. En todo el mundo se producen unos 1.700 millones de enfermedades diarreicas infantiles cada año, siendo la diarrea una de las principales causas de malnutrición de niños menores de cinco años. (29)

El rotavirus puede provocar desde una infección asintomática en menores de 3 meses, hasta una diarrea grave con deshidratación que puede ocasionar la muerte. En los países más pobres la letalidad es mayor, producto de la desnutrición y de las dificultades para acceder oportunamente a los servicios de salud. La enfermedad se caracteriza por inducir un cuadro clínico de diarrea aguda, vómitos, fiebre y diferentes grados de deshidratación, que pueden, incluso, causar la muerte del paciente.

En los laboratorios clínicos los métodos rápidos como pruebas de aglutinación de látex, enzimoimmunoensayo e inmunocromatografía, son los más utilizados. Estos se basan en la identificación del antígeno viral VP6, (debido a que es el más abundante del virión), presentando la limitación de detectar exclusivamente rotavirus del grupo A. La literatura refiere valores muy variables de sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y valor predictivo negativo cuando se evalúan los diversos métodos diagnósticos de rotavirus, como aglutinación de látex, ELISA e inmunocromatografía de diversas marcas comerciales. Las más recomendadas para el diagnóstico son las basadas en inmunocromatografía, porque precisan menor cantidad

de muestras, requiere menor entrenamiento previo del personal que la realiza y son más rápidas.

En esta investigación se determinará la sensibilidad y especificidad del método inmunocromatográfico, utilizado para el diagnóstico de rotavirus en muestras de heces diarreicas de menores de 5 años del hospital San Martin de Porres Ibuelo de enero del 2017 a agosto 2018. Con el fin de aprobar o rechazar la fiabilidad de la misma en la práctica laboratorial en el diagnóstico de esta infección, lo cual servirá para poner a conocimiento del personal de salud, por lo tanto, un diagnóstico acertado de estos virus impide la administración innecesaria de antibióticos en los niños.

## CAPITULO I

### 1.- PROBLEMA DE INVESTIGACION

#### 1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Los rotavirus son la principal causa de diarrea grave con deshidratación en niños menores de cinco años de todo el mundo, y se estima que las infecciones por rotavirus son responsables de más de 25 millones de visitas ambulatorias y más de 2 millones de hospitalizaciones al año. En los países en desarrollo, tres cuartas partes de los niños experimentan su primer episodio de diarrea por rotavirus antes de alcanzar los 12 meses de edad, mientras que en los países desarrollados es frecuente que el primer episodio no aparezca hasta los 2-5 años. (10)

La gastroenteritis grave por rotavirus afecta fundamentalmente a niños de entre 6 y 24 meses. Los desenlaces mortales, que en 2004 se estimaron en 527 000 (475 000-580 000) al año, se producen principalmente en países de bajos ingresos. La reinfección por rotavirus es frecuente, aunque la infección primaria suele ser la más significativa desde el punto de vista clínico. En climas templados, la incidencia de gastroenteritis por rotavirus alcanza generalmente su máximo durante el invierno, mientras que en los ambientes tropicales las infecciones por rotavirus se presentan durante todo el año y las altas tasas de base pueden ocultar una marcada estacionalidad. (30)

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. (32)

En Bolivia, 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 Cochabamba similar a otras regiones de Bolivia, las EDA son una de las principales causas de consulta y hospitalización en la población infantil. Así, en el año 2002 se registraron casos de diarreas en el

36% de los niños menores a 5 años y 1395 hospitalizaciones por esta causa. (31)

El sitio geográfico donde se encuentra el Hospital San Martín de Porres es la zona tropical del departamento de Cochabamba sitio turístico, a 169 km de la misma, en la carretera nueva a Santa Cruz, en la localidad llamada Ibuelo.

Es un Hospital de atención materno infantil de segundo nivel acreditado, administrado por la congregación católica Amor de Dios, trabaja como hospital de convenio con la subalcaldía de Shinahota, ofreciendo servicios a través de SUS (seguro universal de salud) a niños menores de cinco años, mujeres embarazadas y al adulto mayor.

La zona tropical de Cochabamba tiene tres hospitales de segundo nivel y muchos de primer nivel y sin embargo solo el Hospital San Martín de Porres cuenta con laboratorio de microbiología, razón por la que es el único hospital del trópico que se encuentra dentro de la red de vigilancia de rotavirus.

Además cabe mencionar que por encontrarse en una zona de clima tropical los casos de diarreas por rotavirus suelen ocurrir durante todo el año, aunque pueden registrarse picos más altos en invierno. Por lo tanto, los niños que nacen en esta zona tropical estará expuesto durante todo el año, es por esto que el promedio de edad de las infecciones es más bajo en las zonas de clima tropical, donde los niños se enferman en su primer año de vida.<sup>10</sup>

Durante la gestión 2017 aproximadamente 7773 menores de 5 años, acudieron a los servicios que brinda el Hospital San Martín de Porres, la cual la mayoría son niños con diferentes sintomatologías, la proporción de niños que llegan con enfermedades diarreicas agudas es de un 29% (2232).

La necesidad de realizar un diagnóstico rápido de las gastroenteritis por rotavirus y de instaurar un tratamiento eficaz de la diarrea ha impulsado el desarrollo de técnicas diagnósticas que disminuyan el tiempo necesario para la obtención de los resultados y que tengan altos niveles de fiabilidad, para

orientar el tratamiento de las gastroenteritis y restringir la transmisión de los virus.

Los métodos inmunocromatográficos cumplen estos requerimientos y, por tanto, tienen utilidad en el diagnóstico de las infecciones por rotavirus. Por lo que con este estudio se pretende evaluar la validez y confiabilidad del método inmunocromatografico utilizado como prueba diagnóstica en el hospital San Martin de Porres, tomando como método de referencia el método ELISA (*ProsPect*), uno de los ensayos recomendado por la OMS Por lo que se plantea la siguiente formulación del problema:

**Campo:** Medicina

**Área:** virología

**Tema:** Evaluar la validez y confiabilidad del método inmunocromatográfico para diagnóstico de rotavirus en heces diarreicas en menores de 5 años del Hospital San Martin de Porres de Ibuelo enero 2017 - agosto 2018

## **1.2. Formulación del problema**

¿Se podrá usar el método inmunocromatográfico para el diagnóstico de rotavirus en muestras de heces diarreicas en niños menores de 5 años del hospital san Martin de Porres Ibuelo de enero 2017 a agosto del 2018?

## **1.3. Objetivos**

### **1.3.1. Objetivo general**

Evaluar la validez y confiabilidad del método inmunocromatográfico utilizado para el diagnóstico de rotavirus en muestras de heces diarreicas en niños menores de 5 años del hospital san Martin de Porres Ibuelo de enero del 2017 a agosto del 2018.

### **1.3.2. Objetivos específicos**

- Determinar la frecuencia de enfermedades diarreicas agudas, causadas por rotavirus, según grupo etario y género en la población de estudio.
- Identificar el porcentaje de positividad de rotavirus según esquema de vacunación.
- Determinar la validez y confiabilidad de la prueba inmunocromatográfico para diagnóstico de rotavirus en relación a la prueba ELISA.
- Calcular el grado de concordancia entre el método inmunocromatografico y la prueba de ELISA para diagnóstico de rotavirus.

### **1.4. Justificación de la investigación**

Los agentes patógenos que pueden causar diarreas pueden ser de diferente etiología siendo el rotavirus la causa más importante de diarrea en la población infantil en países en desarrollo, pudiendo producir en muchos de los casos la muerte del infante.

Las manifestaciones clínicas de la diarrea provocada por rotavirus son semejantes a las producidas por otros agentes etiológicos, por lo que es necesario detectar el virus en las deposiciones de los pacientes afectados para su diagnóstico. Un diagnóstico temprano de la infección por rotavirus es importante para evitar el establecimiento de tratamientos inadecuados que no mejoran la sintomatología, sino que pueden agravar y prolongar la diarrea, que normalmente es auto limitante.(11)

En nuestro medio, a pesar de haberse introducido la vacuna antirotavirus en el esquema de vacunación, se han presentado casos de diarreas por rotavirus en pacientes que recibieron la vacuna, de ahí que surge la importancia práctica que puede tener el diagnóstico rápido en el manejo del niño con diarrea; Además que el diagnóstico microbiológico precoz permitiría

el aislamiento rápido de los pacientes infectados para limitar la extensión de un brote, disminuir el número de diarreas de origen desconocido y de pruebas complementarias como el coprocultivo.

La realización de este trabajo es debido a la incidencia de infección por rotavirus en los niños menores de 5 años que alcanza al 30% a nivel nacional y del 29% en el Hospital San Martín de Porres como EDA, y en ausencia de financiación pública por el alto costo para la adquisición de pruebas como el ELISA y pruebas moleculares, es que es necesario recurrir a las pruebas Inmuncromatográficas de costo accesible y de una respuesta rápida y sencilla en su uso, es que planteamos la presente investigación, que beneficiara a los menores de 5 años de la población del trópico cochabambino y el uso indiscriminado de antimicrobianos en el tratamiento de diarreas causado por rotavirus.

### **1.5 Viabilidad**

Esta investigación es viable debido al incentivo de investigar la situación actual de las pruebas rápidas que se usa en el hospital en el diagnóstico del rotavirus, los insumos y las pruebas rápidas están disponibles en las importadoras comerciales de la ciudad de Cochabamba, los mismos fueron financiados por el propio investigador.

Así mismo se realizó la solicitud al Instituto de Biología Molecular y Biotecnología (IBMB) UMSA, para realizar el método de referencia (ELISA ProsPect) y las muestras discrepantes poder ser evaluadas por RT-PCR. Además de haber realizado la solicitud a la dirección del H.M.I. San Martín de Porres para la realización de la investigación hasta su culminación.

## CAPITULO II

### 2.- MARCO TEORICO

#### 2.1. MARCO TEORICO CONCEPTUAL

##### 2.1.1 Antecedentes

En el año 1929, el pediatra *John Zahorsky* describió la enfermedad emética del invierno, que se acompañaba de diarrea en la mayoría de los pacientes. Tal denominación no era informativa en cuanto a su etiología, pero daban fe de su contagiosidad tanto los experimentos con voluntarios, así como los brotes que se producían. (26)

En 1963, uno de esos brotes surgió en una escuela de Gran Bretaña en donde enfermaron 142 de 830 escolares. Los intentos por desvelar la causa infecciosa fueron infructuosos, pero por si acaso, muestras fecales de un joven de 18 años fueron congeladas a  $-70^{\circ}$  C. Casi 8 años después, esas muestras se descongelaron para llevar a cabo un nuevo intento de identificar al supuesto virus en un experimento en el laboratorio de salud pública de Bristol con voluntarios, a los cuales se les administró un vaso de bicarbonato sódico diluido en agua y enseguida otro vaso con zumo de naranja al que se le había añadido la emulsión fecal abacteriana, con ello se verificó algo que ya era conocido, la transmisibilidad de la enfermedad; sin embargo, respecto a la etiología sólo se pudo afirmar que el “agente” era una partícula estable al calor, menor de 50 nm. En 1968 surgió un nuevo brote epidémico de gastroenteritis en una escuela de una localidad llamada Norwalk, en Ohio (EEUU), donde enfermaron 116 de 232 personas; el episodio fue diagnosticado como brote de la enfermedad emética del invierno, el agente causal, “agente Norwalk” quedó sin identificar entonces a pesar de los esfuerzos de los investigadores. Las muestras fecales abacterianas fueron guardadas y entregadas pocos años después a otro grupo de investigadores

dirigidos por *Albert Kapikian*. En esta ocasión la muestra fue sometida a procedimientos de investigación nuevos en este campo, mediante inmunomicroscopía electrónica (IME) se identificaron en las heces unos conglomerados de partículas redondas estructuradas de pequeño tamaño (27 nm) que resultaron ser el agente causal de aquel brote. (1)

La etiología de la mayoría de casos de diarrea en los niños era un misterio. En 1973, partículas virales con forma de rueda fueron observadas en biopsias de mucosas obtenidas del duodeno de niños con gastroenteritis (2). Partículas similares han sido observadas en ratones, micos y ganado con enfermedades diarreicas. Estas partículas, llamadas “rotavirus”, por la palabra en latín para “rueda”, pronto fueron descritas como la principal causa de gastroenteritis en lactantes y niños a nivel mundial. La carga que esta enfermedad representa es intimidante y el rotavirus se mantiene como una de las infecciones de la niñez que necesitan control a través de la vacunación. (3)

Se ha documentado en muchos estudios epidemiológicos que los rotavirus son los agentes causales más importantes de diarrea grave en niños en el mundo entero. La mayoría de las infecciones primarias por rotavirus están asociadas con diarreas agudas en niños menores de 2 años en todo el mundo, que pueden conducir a la deshidratación y, ocasionalmente, a la muerte. Se estima que los rotavirus (RV) producen casi 1 millón de muertes por diarrea anualmente a nivel mundial. (4)

### **2.1.2 Enfermedad diarreica aguda**

Habitualmente esta infección se presenta antes de los 5 años de vida, pero los cuadros de gastroenteritis severa presentan mayor incidencia entre los 3 meses y 3 años de edad (5), pudiendo ser la infección en neonatos

asintomática. (6) Existen ocasionalmente casos sintomáticos entre adultos por contacto con menores infectados, aunque con mayor frecuencia ocurre una infección subclínica. Por otro lado, rotavirus aparece como la principal causa de diarrea nosocomial en lactantes y pre escolares, y también se le ha descrito como agente de brotes en guarderías infantiles, identificándose en 25 a 40% de los brotes de diarrea con tasas de ataque de 40 a 70% (7).

Esta enfermedad es una inflamación de la mucosa gástrica e intestinal, habitualmente de causa infecciosa. La excreción viral es iniciada antes de la aparición de síntomas, encontrándose partículas virales en deposiciones desde aproximadamente 48 horas antes del inicio del cuadro clínico (8); un niño infectado elimina 100 ( $10^8$ ) billones de partículas virales por gramo de deposición; el virus se elimina en las heces por un promedio de 4 días, pudiendo ser mayor a 30 días en pacientes inmunocomprometidos o en quienes cursan con diarrea severa y excreción viral variable desde 4 a 57 días (9).

Los rotavirus tienen la capacidad de adherirse al revestimiento epitelial del tracto gastrointestinal. El principal sitio de replicación del rotavirus son los enterocitos

Los rotavirus tienen la capacidad de adherirse al revestimiento epitelial del tracto gastrointestinal. El principal sitio de replicación del rotavirus son los enterocitos maduros sobre las vellosidades del intestino delgado alto, pero también se disemina hasta el íleon. Las lesiones en las mucosas se producen como resultado de la destrucción selectiva de las puntas de las vellosidades del intestino.

El mecanismo principal de la inducción de la diarrea debido a la inducción por rotavirus es la disminución de absorción de sal, glucosa y agua como resultado del daño intestinal, y el remplazo de células epiteliales de absorción

por células secretoras de las criptas vellosas. La duración de los síntomas será proporcional a la severidad de la lesión.

Hay evidencia de otro mecanismo de inducción de la diarrea por la actuación de una glicoproteína no estructural del rotavirus (NSP4) como una enterotoxina viral. Esta glicoproteína conduce a elevaciones de niveles de calcio e induce a una diarrea secretora, de manera semejante a las infecciones bacterianas como shigelosis y cólera. (10) La proteína NSP4, funciona como receptor intracelular, considerada como la primera enterotoxina viral que estimula la secreción de cloro, por lo que desequilibra el balance entre los iones de la célula. (10)

La vacunación frente a rotavirus constituye hoy día la mejor estrategia en la prevención de la infección ya que, aunque en las pasadas 2 décadas ha disminuido la mortalidad, no se han producido sin embargo cambios apreciables en la incidencia de diarrea causada por este virus. Esto indica que las mejoras en las medidas higiénicas tienen poco efecto en la transmisión de la enfermedad y, la amplia disponibilidad de soluciones de rehidratación oral no ha disminuido la morbilidad ni las tasas de hospitalización. (48)

El impacto potencial de estas vacunas en la disminución de la morbimortalidad infantil es claro y significativo, especialmente en los países más pobres del mundo. (49)

La vacunación en edad temprana dirigida a reproducir la historia natural de la infección podría evitar la aparición de gastroenteritis aguda grave por rotavirus, así como la necesidad de ingreso hospitalario y la morbimortalidad por este motivo, reducir los costes económicos directos e indirectos generados por la enfermedad, y prevenir el impacto emocional que la enfermedad supone para el niño y sus familias. (48)

Las vacunas antirrotavíricas actuales se consideran equivalentes en cuanto a seguridad y eficacia, pero difieren respecto de la composición antigénica y el

calendario de vacunación. Por lo general, proporcionan una protección del 90%-100% frente a la enfermedad grave por rotavirus y del 74%-85% frente a la diarrea por rotavirus de cualquier grado, según la pauta de administración y la población evaluada. Se ha comprobado que la protección contra enfermedad grave por rotavirus persiste con ambas vacunas durante el segundo año de seguimiento.

El país fue uno de los primeros países de la Alianza Global para Vacunas e Inmunización (GAVI) elegibles para la introducción de la vacuna RV1, que se introdujo en el Programa Nacional de Inmunización en agosto de 2008. Desde entonces, el rendimiento de la vacuna contra el rotavirus se ha evaluado, revelando una disminución significativa en la mortalidad, las hospitalizaciones y las visitas de atención médica observadas relacionadas con las diarreas agudas causadas por rotavirus, durante el período posterior a la vacuna. (50)

### **2.1.3 Rotavirus**

El género rotavirus pertenece a la familia *Reoviridae*, tiene una apariencia característica parecido a una rueda, cuando es visualizado mediante microscopio electrónico. Es un virus ácido ribonucleico (ARN) de doble cadena, el genoma de rotavirus consta de 11 segmentos de ARN bicatenario, son virus desnudos con simetría icosaédrica de 70 - 75 nm de diámetro. Se han identificado siete grupos principales de rotavirus, denominados de la A a la G. Sin embargo, sólo los grupos A, B y C infectan a los seres humanos, siendo el grupo A el más importante. (11)

Se ha demostrado que el Rotavirus es capaz de ser infectivo, después de ser mantenido 7- 9 meses a temperatura ambiente (18-20°C), en heces. (33)La deshidratación también juega un rol importante en la inactivación

viral por ruptura de la cápside del virus y la remoción del ácido nucleico. (34)

### **2.1.3.1 Estructura**

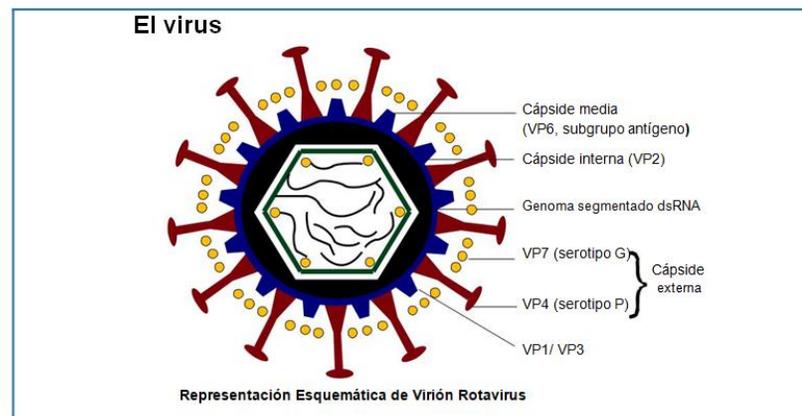
La partícula viral está compuesta de tres capas proteicas concéntricas alrededor del genoma, cuyo tamaño es de aproximadamente 18,550 pares de base (pb) y segmentos de 667 a 3302 nucleótidos, codifica 6 proteínas estructurales (VP1-VP4, VP6 Y VP7) y 6 proteínas no estructurales (NSP1-NSP6).<sup>25</sup> La capa proteica más externa de la partícula de virus está compuesta por dos proteínas virales superficiales: VP4 y VP7. La glicoproteína VP7 le da un aspecto liso a la partícula viral y la proteína VP4 el aspecto en forma de espigas. La intermedia, de aproximadamente 10 nm de grosor, está constituida por trímeros de la proteína VP6, dándole a la partícula un aspecto rugoso, esta proteína es la más abundante del virus, constituyendo aproximadamente el 40% de la proteína total del virión. La capa interna formada por la proteína VP2 es la que encierra en su interior al genoma viral. (12)

En función de la especificidad serológica de la VP6, se han descrito siete grupos diferentes, asignándoles letras, de la A a la G. Los virus del grupo A son los que producen infecciones habituales en el ser humano, aunque los del grupo B y C también han sido asociados ocasionalmente con la enfermedad en humanos. Los rotavirus de los grupos D, E y F sólo se han aislado de especies animales.<sup>13</sup> Los rotavirus humanos del grupo A se subdividen a su vez en dos subgrupos (subgrupo I y subgrupo II). (14)

La naturaleza del genoma facilita el intercambio de fragmentos de material genético. Así, la coinfección celular con cepas diferentes de rotavirus puede dar lugar a virus "reagrupados" con mezcla de material genético de ambas cepas, capacidad que se ha utilizado en el desarrollo de vacunas. (48)

### 2.1.3.2. Clasificación

La clasificación de rotavirus de acuerdo con el serotipo está basada en especificaciones antigénicas de estas dos proteínas. Tanto la proteína VP7, llamada de tipo G por ser una glicoproteína, como la VP4, llamada de tipo P por ser sensible a la proteasa, inducen la producción de anticuerpos neutralizantes y están involucradas con la inmunidad protectora. Existen 15 serotipos G y 14 serotipos P. Para los serotipos G se observa una perfecta correlación entre serotipo y genotipo. Sin embargo, para el serotipo P no se observa esa correlación. Existen 20 genotipos P, siempre denominados por un número de 1 a 20 en corchetes. Los genes que codifican los antígenos G y P se agregan independientemente, lo que permite observar varias combinaciones de G y P. (11)



### 2.1.3.3. Patogenia

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

cantidades de virus, que aparecen en las heces (hasta  $10^{11}$  partículas por gramo de heces). (27)

La diarrea se produce por una reducción de la superficie de absorción debido a daño celular, por efectos enterotoxigénicos de la proteína NPS4 o por estimulación del sistema nervioso entérico. La alteración se acompaña de antigenemia y viremia detectable, lo que sugiere que los rotavirus escapan el tracto intestinal. (26)

En ocasiones la diarrea por rotavirus se debe a alteraciones de la absorción de sodio y glucosa a medida que las células lesionadas en las vellosidades son remplazadas por células inmaduras de las criptas que no absorben. El establecimiento de la función puede tardar tres a ocho semanas. (15)

Además, existe pérdida de la permeabilidad intestinal a las macromoléculas (incluida la lactosa) asociada con niveles disminuidos de disacaridasas intestinales. La deficiencia de lactasa inducida por los rotavirus puede durar de 10 a 14 días. (6)

#### **2.1.3.4. Cuadro clínico**

La infección por rotavirus invariablemente se acompaña de la invasión del epitelio del intestino proximal. Esta infección puede extenderse al resto del intestino delgado y quizá hasta del epitelio y el colon. El cuadro clínico varía en su presentación, desde aquellos casos que se muestran únicamente como portadores asintomáticos, hasta aquellos casos fatales. (16)

El periodo de incubación es de 48 a 72 horas seguido por la instalación súbita de vómito y diarrea. Muchos niños tienen un cuadro prodrómico respiratorio. Hasta en casi la mitad de los pacientes el vómito precede a la diarrea por 2 a 6 horas; en los demás aparecen de manera simultánea. En el

10% de los pacientes no ocurre vómito, pero la diarrea es invariable. El número de evacuaciones varía de 3 a 12 en un día, con característica acuosa, abundante y con poco material sólido, y mucho gas.(17)

#### **2.1.3.5. Transmisión del rotavirus**

Las vías de transmisión de rotavirus pueden ser:

- Directa de persona a persona
- Indirecta (aguas)
- Oro fecal: 10-100 partículas son infectantes

Las heces de una persona infectada puede contener más de 10 billones de partículas infecciosas por gramo.; menos de 100 ya suelen transmitir la infección a otra persona. (18)

#### **2.1.3.6. Tratamiento y control**

El tratamiento de la gastroenteritis originada por rotavirus es de apoyo para corregir las pérdidas de agua y de electrolitos capaces de conducir a la deshidratación, acidosis, choque y muerte.

El tratamiento consiste en reponer los líquidos perdidos. Cuando el vómito y la diarrea son graves es necesaria una terapia de rehidratación oral y, en los casos más severos, puede ser necesaria la rehidratación venosa. El uso de antibióticos es inapropiado. (11)

El primer paso es establecer el grado de deshidratación a partir de los signos presentes, para elegir el tratamiento más apropiado. El niño debe ser evaluado y tratado según las reglas y planes de prevención y manejo de diarreas, disponibles en los manuales de AIEPI (Atención Integrada a las Enfermedades Prevalentes de la Infancia) de la OPS:

- **Plan A:** Es para los casos sin signos de deshidratación. Se recomienda dar al niño más líquidos que de costumbre y alimentarlo adecuadamente para prevenir la deshidratación y la malnutrición; es aconsejable llevar el niño al servicio de salud si no mejora en tres días o si presenta signos de gravedad, como vómitos repetidos, fiebre, numerosas deposiciones o resistencia a comer o beber. (11)
- **Plan B:** Es una terapia de rehidratación oral que comienza en el servicio local de salud y luego continúa en el hogar. (11)
- **Plan C:** Es el tratamiento indicado para los casos más graves, cuando el niño bebe poco o no es capaz de beber, se presenta con ojos hundidos, mucosas muy secas, o letárgico o inconsciente y es necesaria la rehidratación por vía endovenosa. (11)

#### **2.1.4. Factores predisponentes**

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

- No aplicar lactancia materna exclusiva durante los 4 o 6 meses primeros de vida.
- No esterilizar los biberones para alimentar a sus hijos.
- Guardar los alimentos a temperatura ambiente.
- No hervir el agua de consumo.
- No lavarse las manos después de defecar, limpiar las heces de los niños o de lavar los pañales y antes y después de manipular o servir los alimentos.
- Higiene personal deficiente (lavado de manos).
- Desnutrición y prácticas inapropiadas de lactancia materna.
- Peso bajo al nacimiento.
- Esquema de vacunación incompleto.
- Falta de capacitación de la madre para la higiene familiar.

- Contaminación fecal del agua y alimentos.

### **2.1.5. Prevención y control**

La lactancia materna reduce la incidencia de diarrea, especialmente en países en vía de desarrollo, pero su papel en la prevención de diarrea por rotavirus es dudoso. Los niños con diarrea por rotavirus tienen la misma posibilidad de haber recibido lactancia materna que los niños que tienen diarrea por una causa diferente del rotavirus, pero la severidad y la duración de la enfermedad parecen ser menores en los niños que recibieron seno materno.

La adherencia estricta a las precauciones entéricas y un lavado adecuado de las manos son importantes para reducir la transmisión del virus. La contaminación fecal de las superficies y objetos ocurre frecuentemente en jardines infantiles, salas de hospitalización pediátricas, geriátricas y guarderías y debido a que el rotavirus puede sobrevivir en el ambiente por varias semanas, estas deben ser desinfectadas con sumo cuidado.

Desinfectantes efectivos incluyen peróxido de hidrógeno al 6%, etanol al 80%, desinfectantes etano-fenólicos, radiación ultravioleta y calor. Los contenedores no desechables quedan más limpios si se lavan a 176° F (80° C) por 1 minuto o más. (2)

Actualmente la mejor estrategia de prevención frente al RV es la vacunación universal. (19,20,21)

Un aspecto primordial en la prevención es la interrupción de la transmisión de la infección. Para ello hay que reforzar las medidas higiénicas y realizar la limpieza de superficies con desinfectantes adecuados, aunque con frecuencia estas medidas son insuficientes. (20) Estas medidas junto con la rehidratación oral e intervenciones en salud pública (depuración de las

aguas, mejoría del nivel socioeconómico, etc.) han hecho disminuir en todo el mundo la mortalidad de la enfermedad, pero la incidencia ha disminuido poco. En edad temprana, ya que evita la aparición de la infección y protege frente a las “formas graves” de EDA aguda, previniendo muertes, hospitalizaciones, pérdidas de jornadas de trabajo en los padres, reduciendo así los costes económicos directos e indirectos generados por la enfermedad y el impacto emocional que la enfermedad supone para los niños y las familias. (19,20,21)

### **2.1.6. Diagnóstico diferencial**

Son útiles antecedentes epidemiológicos (estación del año, contacto con pacientes infectados), las manifestaciones clínicas y los exámenes complementarios. El diagnóstico diferencial se debe realizar con las infecciones digestivas producidas por otros microorganismos, sobre todo enterotoxigénicos que también originan diarrea acuosa y en casos complicados, incluso con cuadros quirúrgicos. (22)

Los síntomas pueden ser semejantes a otros agentes infecciosos que causan diarrea acuosa en infantes, tales como: Adenovirus entérico, Astrovirus, Calicivirus, *Shigella*, *Salmonella*, *Escherichia coli* enterotoxigénica, *Vibrio cholerae*, *Campylobacter jejuni*, *Staphylococcus aureus* hongos, como *Isospora belli*, que son más comunes en inmunodeprimidos. Los parásitos más frecuentes que causan diarrea son *Giardia lamblia*, *Entamoeba histolytica* y *Cryptosporidium*. (11)

Los virus, a diferencia de las bacterias invasivas, producen una diarrea sin sangre ni pus. Sin embargo, esta diarrea no se diferencia de la producida por bacterias toxigénicas como *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* enterotoxigénico o *Clostridium perfringens*. Cabe añadir que un porcentaje de niños con gastroenteritis puede presentar una infección mixta, virus-virus o virus-bacteria. La presencia de signos y síntomas clínicos, como fiebre, dolor abdominal, náuseas, vómitos y diarrea. (26)

### **2.1.7. Diagnóstico de laboratorio**

Los individuos enfermos eliminan una gran cantidad de Rotavirus (hasta  $10^{11}$  por gramo de heces). (27) Esto facilita su detección en muestras clínicas. El diagnóstico de laboratorio suele realizarse de rutina mediante el uso de técnicas de detección antigénica. (26)

El diagnóstico de la infección se basa en la detección de antígeno en heces fecales por métodos rápidos comerciales de enzimoimmunoensayo (ELISA) o métodos de inmunocromatografía que muestran una alta sensibilidad y especificidad y/o aglutinación con antisueros específicos o con partículas de látex sensibilizadas, pero tan solo para virus del grupo A. La sensibilidad y especificidad de una prueba inmunológica debe mantener un nivel mayor del 80,0% para considerarse como buena. (60)

Un inconveniente de estas técnicas es que, si bien por su sencillez se encuentran muy generalizadas, no proporcionan información específica sobre las características de las diferentes cepas. (23,24)

Las técnicas de amplificación genómica permiten realizar, además de la identificación, el genotipado de Rotavirus. No obstante, el empleo de esta última técnica se encuentra muy limitado en la práctica clínica.

Si bien la detección serológica de anticuerpos circulantes frente a Rotavirus se ha empleado con éxito para la realización de estudios de inmunogenicidad frente a vacunas, su uso carece de utilidad práctica para el diagnóstico de la infección aguda. (26)

#### **2.1.7.1. Fundamento de las técnicas de detección de antígeno**

Las técnicas de detección de antígeno son técnicas inmunológicas que se fundamentan en la afinidad antígeno-anticuerpo. Definiríamos el antígeno como aquella molécula estructural o metabólica de origen microbiano que es reconocida como extraña por el organismo humano y que es capaz de desencadenar una respuesta inmunitaria. Por otro lado, un anticuerpo es una

gammaglobulina sintetizada por las células plasmáticas en respuesta a la estimulación ejercida por un antígeno, con el que reacciona de forma específica, gracias a la correspondencia entre sus estructuras. (51)

De forma que si disponemos de anticuerpos específicos podemos detectar los antígenos correspondientes en una muestra clínica. Esta es la base de las técnicas de detección de antígenos microbianos.

Los anticuerpos específicos empleados en estas técnicas son obtenidos como antiseros de animales inmunizados, que serían anticuerpos policlonales, o por producción *in vitro* mediante hibridomas con la obtención de anticuerpos monoclonales. Los anticuerpos monoclonales pueden utilizarse solos o combinando diferentes anticuerpos dirigidos contra dos o más epítomos diferentes. (51)

La principal ventaja de los anticuerpos monoclonales es su alto grado de especificidad, lo cual los hace extremadamente útiles para distinguir entre microorganismos muy próximos antigénicamente. Sus limitaciones incluyen, por lo tanto, una incapacidad de detectar todas las variedades de un mismo microorganismo debido a su alta especificidad y una teórica baja afinidad. (51)

#### **2.1.7.2. Técnicas de detección de antígeno**

Las principales técnicas de detección de antígenos son:

##### **A Pruebas Inmunocromatográficas**

Son pruebas cualitativas, que dan un resultado positivo o negativo, pero que no permiten cuantificar la intensidad del inóculo bacteriano o de la carga viral, ni diferenciar un estado de portador de una infección activa. Sólo en algunos casos de detección de antígenos virales en heces, las pruebas pueden ser catalogadas como semicuantitativas, al estar la intensidad del color en relación con la carga viral. Por lo tanto, son pruebas complementarias a la clínica, subsidiarias de la clínica e interpretables únicamente en el contexto

de la clínica a la que en ningún modo pueden sustituir. No nos dan un diagnóstico, sino que nos informan de la presencia o ausencia de un determinado germen en una muestra biológica. Es el profesional quien tiene que interpretar esta información y situarla en su contexto clínico y epidemiológico para utilizarla adecuadamente. (28)

Es un método en fase sólida donde se fijan los Ac específicos para el virus en la superficie de una matriz, tubo o microplaca. La muestra con el Ag a analizar se coloca en la zona de siembra de la tira o dispositivo cassette, y fluye por capilaridad hasta la zona del conjugado, en donde se encuentra el Ac\* específico marcado y en caso de haber Ag en la muestra forma inmunocomplejo (Ac\*-Ag), los cuales siguen migrando lateralmente hasta la zona de detección en la cual se hallan fijados a la membrana Acs específicos contra otro epítipo del Ag, de manera que los inmunocomplejos (Ac\*-Ag-Ac), son fijados en esta zona de detección, formando una banda coloreada, rosa o azul dependiendo del metal utilizado en el conjugado. (29)

### **B Inmunofluorescencia directa (ID):**

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

La muestra clínica que presuntamente contiene el virus, es colocada sobre portaobjetos donde se dejan fijar. Luego se agregan Ac específicos marcados con isotiocianato de fluoresceína que se dirigen contra los Ag víricos. Si el Ag esperado está presente se formará un complejo Ag-Ac, el cual se visualiza con el microscopio de fluorescencia (emite luz ultravioleta de una determinada longitud de onda), por la aparición de fluorescencia de color verde manzana. (1)

### **C Test de aglutinación:**

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

### **D Enzimoimmunoanálisis (EIA):**

A través de ELISA se pueden identificar antígenos del virus (proteína de cápside VP6) en muestras de materia fecal. Las muestras diluidas son enfrentadas con anticuerpos anti VP6 fijados a un soporte sólido. En caso de que la muestra contenga partículas virales de rotavirus, estas se unirán al anticuerpo y formarán un complejo, que será posteriormente revelado por una reacción enzimática de color. La intensidad del color que adquiera puede medirse por absorbancia en espectrofotómetro y está en proporción directa con la cantidad de antígenos virales presentes en la muestra. (11)

### **E Reacción en cadena de la polimerasa (PCR):**

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

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

La función natural de la DNA polimerasa consiste en replicar el DNA. Los desoxinucleótidostrifosfatos se necesitan como ladrillos para la construcción. El nucleótido al cual se une la polimerasa será complementario de la base en la posición correspondiente de la cadena templada. Se sintetiza así una cadena simple de DNA, complementaria y alineada a cada cebador. (1)

#### **F Western Blot (WB):**

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

#### **G Microscopía electrónica: El virus como partícula viral**

Mediante el microscopio electrónico es posible observar la morfología de los viriones presentes en muestras clínicas. La limitación del método además del costo del microscopio, es que necesita de una alta concentración de viriones (aproximadamente  $10^9$  partículas virales/ml, dependiendo del virus) presentes en la muestra, por ello es inespecífica.

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

### **2.1.8. Métodos usados en la investigación**

2.1.8.1. **Método Inmunocromatográfico ICT (ICT OneSite™ Rotavirus Ag Rapid test):**

Para la investigación se usó el test OnSite™ Rotavirus Ag Rapid Test La que se ejecutó siguiendo estrictamente las recomendaciones del fabricante (CTK Biotech). Cuya relativa sensibilidad es del 100% y relativa especificidad del 97.2 %

- Tomar las heces de tres sitios diferentes de la muestra con el fin de obtener una muestra lo más representativa posible. Desenroscar el tampón del vial.
- Con el extremo del aplicador tomar una cantidad suficiente de heces, de 5 diferentes sitios. Si las heces son líquidas coger con ayuda de una pipeta 100 microlitros y transferirlos al vial.
- Introducir el aplicador con la muestra en el vial. Enroscar bien el vial. Enroscar bien el tampón y agitar vigorosamente para asegurar una mezcla homogénea.
- Sacar el dispositivo de reacción de la bolsa de aluminio.
- Romper el extremo superior del vial
- Añadir de 2 gotas en la zona para la muestra del dispositivo de reacción
- Esperar 15 minutos, leer e interpretar los resultados

#### **Lectura de resultado**

**NEGATIVO:** Solo aparece una línea transversal roja/rosa en la zona central de la tira de reacción. Siempre debe aparecer esta línea. (Simple alineada con la letra "C" control marcada en la carcasa)

**POSITIVO:** Además de la línea roja/rosa de control aparece otra línea ROJA/ROSA en la zona central de la tira de reacción. La intensidad de esta coloración va a ser variable según la concentración presente del antígeno.

### **2.1.8.2. ELISA (ProsPect)**

La prueba ELISA ProsPect Rotavirus La prueba utiliza un anticuerpo policlonal para detectar proteínas específicas del grupo, incluida la principal proteína interna de la cápside (VP6), presente en los rotavirus del Grupo A. cuya sensibilidad es del 100% y especificidad del 99.2%. siguiendo estrictamente las indicaciones del fabricante.

### **2.1.9. Controles de calidad**

En la interpretación de los resultados obtenidos por técnicas inmunológicas de detección de antígeno es fundamental introducir suficientes medidas de control que aseguren la calidad de los mismos. Es imprescindible incluir siempre controles positivos y negativos. Estos controles pueden ser facilitados por los fabricantes de los métodos comercializados, pueden ser muestras propias del laboratorio o bien pueden ser adquiridos controles comercializados y estandarizados de laboratorios y agencias internacionales. En función de la técnica puede ser necesario controles adicionales, como “blancos” en las técnicas de EIA o controles de partículas no sensibilizadas en las técnicas de aglutinación. (51)

Por otro lado, no debe descuidarse el registro de control de lotes, de temperaturas de neveras para la conservación de los reactivos, control de las incubadoras y calibración de las pipetas automáticas y de los aparatos necesarios. La participación en programas nacionales e internacionales de control de calidad en los que se debe determinar la presencia o no de antígeno en un lote de muestras, es vital para asegurar la calidad de los resultados.

### **2.1.10. Consideraciones finales y perspectivas de futuro**

El futuro en este campo está fundamentalmente en manos de las compañías de reactivos de laboratorio, que han de ser capaces de ofrecer una batería de técnicas sensibles y específicas que, empleando preferentemente muestras clínicas no obtenidas por procedimientos invasores, proporcionen un diagnóstico etiológico rápido, de forma que sea posible establecer una orientación terapéutica adecuada y precoz de las enfermedades infecciosas. Qué duda cabe que la activa investigación en nuevos formatos de estas técnicas que se está llevando a cabo actualmente, puede conducir a que en poco tiempo hayan cambios significativos que modifiquen las pautas de actuación.

### **2.2. Marco teórico referencial**

La OMS reportó para el año 1999 una prevalencia de los rotavirus de 34,0% a 52,0% en países desarrollados y de 20,0% a 40,0% en países en vías de desarrollo. En Venezuela la prevalencia es cercano al 28,6 % (OPS, 2007) y para Cumaná, de acuerdo al último estudio realizado entre 2006 y 2007 (Maldonado *et al.*, 2010), es de 19,5%. De acuerdo a esta información, se escogió para esta investigación la prevalencia del 20,0% para los cálculos de los valores predictivos.

El Hospital de Niños “Dr. Ricardo Gutiérrez”, de Buenos Aires en 1999 realizó un estudio donde 691 pacientes fueron estudiados. De ellos, se obtuvo una muestra de heces para diagnóstico de rotavirus en 648 (94%) pacientes, observándose 13 (2%) resultados indeterminados, 233 (36%) positivos y 402 (62%) negativos. De todas las diarreas asociadas a rotavirus (233 casos), el 52% (121 casos) ocurrió durante el primer año de vida, el 38% (88 casos) durante el segundo año y el 10% (24 casos) durante el tercer año. El porcentaje de diarreas asociada a rotavirus en la muestra estudiada varió

según la edad. En el grupo etario de 0-5 meses fue de 36%, en el de 6-11 meses fue de 41%, en el de 12-23 meses fue de 35% y en el de 24-35 meses fue de 25%. Las diferencias observadas en la frecuencia de identificación de rotavirus hasta los 23 meses de edad no fueron estadísticamente significativas. En cambio, la frecuencia de rotavirus observada en niños de 24-35 meses (25%) fue significativamente menor a la observada en niños de 0-11 meses (Chi cuadrado, p: 0.0118), e incluso a la observada en niños de 0-23 meses (Chi cuadrado, p: 0.015). (37)

El año 1999 en el hospital severo ocho de Madrid España se realizó un estudio en el que se utilizaron tres pruebas inmunológicas comerciales diferentes para la detección rápida del rotavirus del grupo A (un método inmunocromatográfico, aglutinación del látex e inmunoensayo enzimático) para evaluar 228 muestras fecales obtenidas de niños españoles entre 0,1 – 5,1 años con gastroenteritis aguda. Después de la resolución de 30 (13,2%) resultados discordantes por RT-PCR para rotavirus, los valores estadísticos del enzimoimmunoensayo, aglutinación de látex y método inmunocromatográfico fueron, respectivamente, 96%, 68% y 99% de sensibilidad; 99%, 99% y 96% para la especificidad; 98%, 96% y 92% para el valor predictivo positivo; y 98%, 88% y 99% para el valor predictivo negativo. La técnica inmunocromatográfica mostró alta sensibilidad y especificidad y fue rápida y fácil de realizar en el laboratorio clínico de rutina. (35)

El año 2002 en la Universidad Estatal de Michigan, se realizó un estudio con un total de 54 muestras diarreicas de heces fecales, que se utilizaron para evaluar el rendimiento de la prueba ICT-RV frente a ELISA y RT-PCR. Los resultados de esta comparación mostraron que la prueba ICT-RV tenía una sensibilidad del 87% y una especificidad de 93,6%, un alto valor predictivo

positivo de más del 90% y un alto valor predictivo negativo 90,6% con un índice Kappa: 0,81. (36)

EL 2006 en Paraguay se realizó un estudio de evaluación de la sensibilidad y especificidad del método inmunocromatográfico (ICT), en el que se basan muchos kits comerciales utilizados para el diagnóstico de rotavirus grupo A, tomando como referencia el método de electroforesis en gel de poliacrilamida (PAGE). Se seleccionaron muestras de heces de 317 pacientes con diarrea aguda que concurren a un laboratorio privado de mayo a noviembre del 2006, con pedido de análisis de rotavirus. Se utilizaron kits de las marcas comerciales Operón simple (n=154) o SD Bioline rotavirus (n=163), siguiendo estrictamente las instrucciones del fabricante. Las muestras fueron conservadas en frío y remitidas al Instituto Investigación Ciencias Salud para la realización de los estudios moleculares. La sensibilidad obtenida por el método ICT fue de 97,8% y la especificidad de 84%. La concordancia absoluta fue del 90%. Las muestras que dieron resultados discrepantes entre ICT y PAGE, fueron confirmadas por nRT-PCR, resultados que coincidieron con los obtenidos por PAGE. La sensibilidad del método ICT es muy buena, si bien la especificidad es moderada el método puede ser utilizado como screening para el diagnóstico rápido de rotavirus y sería aconsejable utilizar métodos más específicos como los moleculares para estudios epidemiológicos. (44)

El 2009 Se llevó a cabo la evaluación de un método inmunocromatográfico para el diagnóstico de rotavirus y adenovirus 40/41 conocido comercialmente como GastroVir-Strip, de la casa comercial Coris BioConcept, utilizando como método de referencia (prueba de oro) la electroforesis en gel de poliacrilamida (PAGE). Para ello se utilizaron 125 muestras de heces de niños que cursaron diarrea aguda en el año 2009 y que se mantenían en el Laboratorio de Virología del Postgrado en Biología Aplicada de la Universidad de Oriente, Núcleo de Sucre. Estas muestras, anteriormente

examinadas por ELISA, fueron reexaminadas por electroforesis en geles de poliacrilamida, y luego analizadas por el método inmunocromatográfico. Se obtuvo una sensibilidad de 98,5% y una especificidad de 100,0% para el método inmunocromatográfico. Los valores predictivos positivo (VPP) y negativo (VPN), sin tomar en cuenta la prevalencia de la infección fueron del 100,0% y 98,3% respectivamente, mientras que tomando en cuenta la prevalencia los valores fueron de 92,4% y 99,5% respectivamente. (43)

En Cuba el 2010 se realizó un estudio, durante el periodo comprendido de marzo 2010 a febrero 2011, se realizó la detección de rotavirus mediante la técnica de RT-PCR Y ELISA respectivamente, a 88 muestras de heces fecales de niños menores de 5 años con EDA, se obtuvo un 61.4 % de positividad a rotavirus, encontrándose una mayor prevalencia de rotavirus en 43,2 % en el grupo de 7-24 meses de edad.(41)

El 2010 se realizó un estudio de comparación entre 3 métodos: ELISA, aglutinación por látex y inmunocromatografía, en niños menores de 5 años que presentaron un cuadro de diarrea aguda y que acudieron a dos laboratorios privados en el área central del departamento de Petén, durante octubre de 2010 a abril 2011. La muestra correspondió a 334 niños. El 54% de los niños eran hombres y el restante 46% mujeres, con una edad comprendida entre los 0 y 23 meses (79.3%), y 24 a 60 meses (20.7%). La prueba de inmunocromatografía presentó mejor desempeño que aglutinación por látex en relación a la sensibilidad (91.5% contra 67.8%). Ambas pruebas presentaron valores altos de especificidad (inmunocromatografía = 98.2%; aglutinación por látex = 97.3%) con relación a ELISA. En cuanto a la concordancia entre los métodos de detección en relación a ELISA, según los índices de Kappa calculados, la concordancia entre inmunocromatografía y ELISA fue muy buena (índice de Kappa= 0.84); y entre látex y ELISA fue buena (índice de Kappa = 0.63). (42)

Durante el periodo 2012-2013 realizó un estudio descriptivo, prospectivo y transversal de 72 pacientes menores de 18 meses de edad con enfermedad diarreica aguda por rotavirus de tipo A, quienes fueron ingresados en el Servicio de Gastroenterología del Hospital Infantil Docente Sur “Dr. Antonio María Béguez César” de Santiago de Cuba, durante el período comprendido de marzo del 2012 a diciembre del 2013, con vistas a caracterizarles según algunas variables clínicas, epidemiológicas y terapéuticas. En el análisis estadístico se aplicaron el cálculo porcentual y la prueba de la X<sup>2</sup> (con un nivel de significación igual a 0,05), que revelaron un predominio del grupo etario de 12-18 meses, de los estilos de vida regular y malo, así como de la procedencia rural y la lactancia artificial. Así mismo fueron más frecuentes el cuadro sintomático de diarrea, vómito y fiebre, y la complicación deficiencia transitoria de la enzima lactasa. (39)

Durante el año 2014, la prevalencia de los pacientes diagnosticados con Rotavirus en el Hospital del IESS de Manta, dio como resultado un 63,7 % a nivel local. La prevalencia en el Ecuador oscila entre 47% al 60% según reporte del MSP. Más de 500 mil niños sufren de Diarreas especialmente en lactantes y niños menores de dos años, En América Latina la prevalencia oscila entre el 65 al 85% PAHO/OMS 2014. La edad mediana de los niños están de 6 a 7 meses, lo que demuestra que están entre el 20 al 60 percentil. La Gastroenteritis por Rotavirus, se presenta principalmente entre los 6 a 24 meses de edad (Cáceres et al 2004). El porcentaje entre niños es casi igual con una diferencia de menos de un 1% siendo el 50,3% de sexo femenino y 49,7 de sexo masculino. La enfermedad por Rotavirus es más común en niños pequeños menores de dos años, sin embargo, también pueden infectarse niños mayores y adultos, la sintomatología aparece dos días después de estar expuesto al virus. (40)

En otro estudio que se realizó acerca del comportamiento clínico y epidemiológico de los pacientes menores de 5 años con enfermedad diarreica aguda causada por rotavirus ingresados en el Hospital Manuel de Jesús Rivera comprendido en el periodo de 1º mayo 2012 a 31 diciembre 2014. Encontrándose una frecuencia de rotavirus del 12% que corresponde a los 85 niños en estudio. La incidencia de infección de rotavirus por año se encontró que en el año 2012 fue de 37.0 casos x 10,000 niños egresados menores de 5 años, en el año 2013 44.1 casos x 10,000 niños egresados y el año 2014 con el 36.2 casos x 10,000 niños egresados. Del total de niños que presentaron diarrea por rotavirus 46 (54%) tenían la edad comprendida entre 1 a 2 años, Seguido de 24(28%) entre 1 a 11 meses de edad, 8 (10 %) de los niños entre 3 a 4 años y 7(8%) de 4 a 5 años de edad. Padeciendo más los niños del sexo masculino que fueron 47 (55 %) de los cuales 21 (44.6%) de ellos tenían la edad de 1 a 2 años, seguido de 16 (34%) niños con edad de 1 a 11 meses, 5 (10.6%) niños entre las edades de 3 a 4 años y 5 (10.6%) de 4 a 5 años de edad. Seguido del sexo femenino que fueron 38 (45%) donde 25 (66%) tenían la edad de 1 a 2 años, 8 (21%) de 1 a 11 meses de edad ,3 (8%) entre las edades de 3 a 4 años y 2 (5%) de 4 a 5 años de edad. (38)

Durante el año 2015 se realizó un estudio en el Hospital Alemán Nicaragüense en niños menores de 5 años con diarrea aguda con sospecha de Rotavirus. De 66 pacientes a quienes se les tomó ELISA para la detección de antígenos para rotavirus, 21 pruebas fueron positivas, teniendo una incidencia del 32% en menores de 5 años en comparación con el año siguiente, donde se estudiaron 139 niños siendo positivo para Rotavirus 21 pacientes, con menor incidencia 15%. Se detectaron el mismo número de niños con rotavirus. La edad que predominó fueron los rangos de 4 a 11 meses y de 12 a 23 meses con 31% (63 pacientes) respectivamente y en menor cantidad de 1 a 3 meses con un 8% (17). Estos datos vincularon, con la presencia de anticuerpos maternos que protegen a los menores de 3

meses. El cuadro diarreico en ambos años, se presentó en 56% de los niños y 44% de las niñas. El sexo que predominó fue el masculino. (47)

Estudios realizados por Arias (1988) en el Hospital Obrero N° 1 de la Caja Nacional de Salud en La Paz Bolivia diagnosticó 51.74% de diarreas causadas por rotavirus en niños de 6 a 24 meses de edad en pacientes hospitalizados, estudió 1.109 muestras de pacientes hospitalizados, tomadas entre 1988 y 1994, encontrando que la media anual de casos oscila entre 25,7% – 32,6%, afectando principalmente a niños de 6 a 12 meses de edad. Dos años después, Zarcillo (1997), comunicó que las diarreas por rotavirus en niños de 6 a 23 meses de edad, residentes en Santa Cruz, Bolivia, fue .19,3%.

Las pequeñas variaciones observadas entre la sensibilidad y especificidad arrojadas por los diferentes métodos cromatográficos estudiados pudieran deberse a varios factores como, la utilización de diferentes estándares de oro en los diversos trabajos, al transporte y conservación de la muestra, tiempo entre la recolección y procesamiento, calidad de los anticuerpos de captura y presencia en la muestra de enzimas que degradan proteínas o ácidos nucleicos, entre otros.

La sensibilidad y especificidad de una prueba inmunológica debe mantener un nivel mayor del 90,0% para considerarse como buena. Esto concordaba con los resultados obtenidos en esa investigación, donde tanto la especificidad como la sensibilidad del método inmunocromatográfico evaluado, se encontraron por encima de ese valor. (43)

Se ha señalado que la presencia de sangre en las heces puede originar resultados falsos positivos con los métodos inmunocromatográficos. Debido a la posibilidad de que se produzca una reacción cruzada de alguno de los anticuerpos con antígenos distintos de los de rotavirus presentes en la muestra. (48)

Se realizó un estudio prospectivo para evaluar dos equipos comerciales inmunocromatográficos para el diagnóstico rápido de infección por rotavirus a partir de muestras fecales: VIKIA® Rota-Adeno, de bioMérieux, y Simple Rota- Adeno, de Operon. Como método de referencia se utilizó la transcripción reversa y reacción en cadena de la polimerasa (RT-PCR) con cebadores específicos del gen de la proteína VP7 de rotavirus del grupo A. La sensibilidad y la especificidad respecto de la RT-PCR fueron del 98,4% y 84,8% para el Simple Rota-Adeno, y del 100% y 24,2% para el VIKIA® Rota-Adeno. Es de destacar la baja especificidad de este último equipo diagnóstico, que presentó un elevado número de falsos positivos, por lo que el valor predictivo de un resultado positivo es sólo del 71,6%.

El 2012 en Santa Marta un estudio de tipo prospectivo de carácter descriptivo, conformado por 300 niños menores de cinco años, dando 11,37% muestras positivas para rotavirus y 88,96% negativos para rotavirus. En esta investigación los análisis arrojaron que el 55,9% (19) de los participantes son de género femenino y el 44,1% (15) de los participantes son de género masculino. Además, se evidencia que el 44% de los participantes positivos no fueron vacunados para rotavirus, mientras un 55% sí recibieron la vacuna. Siendo la mayoría vacunados con resultados positivos para rotavirus. (52)

### **2.3. Alcance del estudio**

Esta investigación tiene un alcance de nivel descriptivo/correlacional.

- Descriptivo ya que se pretende determinar la validez y confiabilidad del método inmunocromatografico en enfermedades diarreicas agudas en menores de 5 años.
- Correlacional debido a que se determinara el grado de concordancia entre las variables del diagnóstico por inmunocromatografía Y ELISA.

## 2.4. Hipótesis

$H_0$  = La Sensibilidad y especificidad del método inmunocromatográfico, utilizado para el diagnóstico de rotavirus en muestras de heces diarreicas será mayor al 80% para ser considera como una buena prueba.

$H_1$  = La Sensibilidad y especificidad del método inmunocromatográfico utilizado para el diagnóstico de rotavirus en muestras de heces diarreicas no será mayor al 80% para ser considera como una buena prueba.

## CAPITULO III

### 3. DISEÑO METODOLOGICO

#### 3.1. Tipo de estudio

Uno de los aspectos fundamentales en toda investigación es la decisión sobre el tipo de estudio a realizar, para lo cual tomamos en cuenta que el mismo se define preliminarmente desde la etapa de identificación y formulación del problema; sin embargo, cada etapa del proceso de investigación provee de elementos que sirven para su selección definitiva.

(53)

- El enfoque del estudio es cuantitativo, ya que se incluyen hechos o variables que se pueden contar como por ejemplo edad, sexo de los pacientes, etc. No se tomaron en cuenta aspectos subjetivos como creencias u opiniones sobre las variables del tema de investigación.
- El nivel de investigación es descriptivo correlacional por que se analizarán las variables en forma individualizada. La investigación es de tipo correlacional porque se establecerán relaciones entre variables sin precisar sentido de causalidad.
- En función al tiempo de realización de estudio es prospectivo, porque se tiene datos a medida que se avanza en la investigación y es de corte transversal porque se toma datos de enero del 2017 a agosto del 2018.
- Respecto al número de medidas realizadas, el estudio aplicó las medidas correspondientes en un solo periodo de tiempo continuo por lo que el estudio es de tipo transeccional.
- En cuanto al rol de la investigadora es una investigación no experimental la misma que puede definirse como la investigación que se realiza sin manipular deliberadamente variables. es decir, se trata de un estudio donde no hacemos variar en forma intencional algunas variables para ver su efecto en otras.

## **3.2 Universo**

Lo constituyen el total de pacientes con episodio de enfermedad diarreica aguda menores de 5 años, 2232 pacientes que acudieron a la consulta durante el periodo de estudio enero 2017 a agosto 2018.

## **3.3 Criterios de Selección**

Con frecuencia, no se puede obtener información de toda la población, sino tan sólo de unidades que cumplen una serie de características que son los criterios de inclusión/exclusión. La muestra se obtiene de la población de estudio, por lo que debe recordarse que las conclusiones extraídas de la muestra son generalizables a esta población y no al universo (54) y para delimitar esta población de estudio es necesario definir los criterios de selección de unidades de análisis.

### **3.3.1 Criterios de inclusión**

- Muestras de menores de 5 años, con diagnóstico de síndrome diarreico.
- Muestras de niños Inmunizados y No Inmunizados contra el Rotavirus.
- Todo muestra de menores de 5 años, cuyos padres firmaron el consentimiento informado.
- Muestras de Niños en condiciones idóneas, es decir que la muestra sea recolectada en un recipiente adecuado y que la cantidad de la misma sea representativa.
- Muestras de niños que tengan su ficha epidemiológica, correctamente llenadas.

### **3.3.2 Criterios de exclusión**

- Muestras de niños que no cumplieron con los criterios de inclusión.
- Muestras de niños mayores de 5 años.
- Muestras de niños, recogidas en recipientes inadecuados

- Muestras de niños emitidas hace más de dos horas que no han sido refrigeradas.

#### **3.4. Unidad de análisis**

En función a los criterios de selección la unidad de análisis son todas las muestras de menores de 5 años con diagnóstico de síndrome diarreico agudo, durante el periodo enero 2017 a agosto 2018 de menores de 5 años que acudieron a recibir atención médica en el Hospital “San Martín de Porres Ibuelo”

#### **3.5. Población de estudio (diana)**

Tomando en cuenta que la población de estudio es aquella sobre la cual pretendemos que recaigan los resultados o conclusiones de la investigación (55), en nuestro caso de acuerdo a los criterios de inclusión, de exclusión y la unidad de análisis el tamaño de la población de estudio son 272 casos

Es necesario mencionar que en esta investigación se trabaja con la “población accesible” es decir la que acude y se registra. Como menciona Fathalla MF (OPS), esta población no necesariamente representa a la población de toda la comunidad ya que no todas las personas acuden al consultorio al laboratorio o al hospital en el tiempo de estudio. (56). Por esta razón es que los resultados serán generalizables solo a la población registrada en la institución.

#### **3.6. Muestra**

Para la selección de pacientes se realizará un muestreo no probabilístico consecutivo.

Las muestras no probabilísticas, también llamadas muestras dirigidas, suponen un procedimiento de selección informal, en este caso se realizó un muestreo no probabilístico consecutivo de todos los pacientes con

diagnóstico de síndrome diarreico por rotavirus en un periodo de enero 2017 a agosto 2018.

Es no probabilístico porque no todos los pacientes registrados con diagnóstico de síndrome diarreico por rotavirus, tuvieron la misma probabilidad de estar en el momento y en el lugar donde se seleccionaron los sujetos.(57) y es consecutivo por que se incluyen a todos los pacientes del primero al último registrado y que cumpla con la definición de unidad de análisis en el periodo de estudio de manera consecutiva.

En este tipo de muestreo (no probabilístico y consecutivo) si se siguen los criterios técnicos y los criterios de inclusión y exclusión, existe una aproximación aceptable a las características de la población de estudio, aunque es necesario remarcar que las pruebas estadísticas en muestras no probabilísticas tienen un valor limitado a la muestra en sí, mas no a la población.

Existe una tendencia a considerar sinónimas las expresiones muestra probabilística y muestra representativa. El uso de una técnica de muestreo probabilístico tiende a asegurar que se obtendrá una muestra representativa, en especial si la población y la muestra son de gran tamaño. Sin embargo, puede que no sea así, ya que el propio azar puede conducir a una muestra que no tenga la misma distribución de las variables de interés que la población de referencia, sobre todo si su tamaño es reducido. Por otro lado, pueden obtenerse muestras representativas utilizando técnicas no probabilísticas. (58)

### **3.7. OPERACIONALIZACION DE VARIABLES**

#### **3.7.1. Variables definición conceptual**

##### **3.7.1.1. Enfermedades diarreicas agudas causadas por rotavirus**

Se define como «diarrea» una alteración en el movimiento característico del intestino con un incremento en el contenido de agua, volumen o frecuencia de las evacuaciones. Una disminución de la consistencia tornándose líquida

o blanda y un incremento de la frecuencia de los movimientos intestinales mayor o igual a tres evacuaciones en un día.

Es una gastroenteritis aguda, que produce inflamación de la mucosa gástrica e intestinal. Siendo rotavirus una de las más importantes causas de diarrea moderada a grave y el responsable de gastroenteritis y deshidratación grave en niños pequeños de países industrializados y en vías de desarrollo. La manifestación de una infección por rotavirus varía desde una forma asintomática hasta casos graves de vómitos y diarreas que pueden llevar a la deshidratación, shock y muerte. (10)

### **3.7.1.2. Porcentaje de positividad de rotavirus**

Es un cociente en el que el numerador está incluido en el denominador. Es decir: muestras positivas a rotavirus en relación a las muestras positivas a rotavirus más muestras negativas a rotavirus, expresado en porcentaje.

$$\% \text{ positividad de rotavirus} = \frac{\text{muestras (+)}}{(\text{muestras (+)} + \text{muestras (-)})} \times 100$$

### **3.7.1.3. Inmunización**

Inmunización es la acción y efecto de inmunizar. Este verbo, por su parte, refiere a hacer inmune (lograr que alguien o algo no sean atacables por enfermedades o flagelos). Aquel o aquello que recibe una inmunización, por lo tanto, está exento de ciertos problemas, trastornos, padecimientos, etc. La vacuna de rotavirus puede prevenir medio millón de muertes de niños al año.

#### 3.7.1.4. No inmunizados

Personas que no han sido inmunizados, por diferentes causas. Quienes se encuentran expuestas a contraer las enfermedades que pueden ser prevenibles gracias a la inmunización o aplicación de vacunas.

#### 3.7.1.5. Validez

La validez de una prueba diagnóstica, es el grado en que una prueba mide la variable que se busca medir, utilizando un Gold estándar. Siendo la sensibilidad y especificidad indicadores de la validez. Estos parámetros permiten cuantificar la capacidad de la prueba para clasificar correcta o erróneamente a una persona, según la presencia o ausencia de una enfermedad.

- **Sensibilidad**

Es definida como la capacidad de una prueba para identificar correctamente aquellos que tienen la enfermedad. Esta es igual al número de sujetos con un test positivo que tienen la enfermedad, dividido entre todos los sujetos que tienen la enfermedad.

$$\text{Sensibilidad} = \frac{\text{Verdaderos positivos}}{\text{Verdaderos positivos} + \text{Falsos Negativos}}$$

- **Especificidad**

Es definida como la capacidad de una prueba para identificar aquellos que no tienen la enfermedad, y es igual al número de sujetos que resultan negativos a la prueba y que no tienen la enfermedad, dividido entre el número de personas que no tienen la enfermedad o están sanos

$$\text{Especificidad} = \frac{\text{Verdaderos Negativos}}{\text{Verdaderos Negativos} + \text{Falsos Positivos}}$$

### 3.7.1.6. Confiabilidad

Capacidad de la prueba de obtener resultados comparables si se usa en condiciones idénticas. Siendo el valor predictivo positivo y valor predictivo indicadores de la fiabilidad.

Estos parámetros permiten cuantificar la capacidad de la prueba para clasificar correcta o erróneamente a una persona, según la presencia o ausencia de una enfermedad.

- **Valor predictivo positivo (VPP):**

Es la probabilidad que tiene un individuo de estar enfermo cuando el resultado de la prueba es positiva, en otras palabras, es una probabilidad condicionada a que un paciente que resulte positivo a la prueba, tenga la enfermedad.

$$\text{VPP} = \frac{\text{Verdaderos Positivos}}{\text{Verdaderos Positivos} + \text{Falsos Positivos}}$$

- **Valor predictivo negativo (VPN):**

Contrariamente el valor predictivo negativo es la probabilidad de que un individuo que obtenga un resultado negativo a la prueba, no presente la enfermedad o esté sano.

Esta probabilidad está condicionada a que un sujeto con resultado negativo no esté enfermo o esté sano. En otras palabras, es la probabilidad de que el paciente no tenga la enfermedad frente a un resultado negativo de la prueba.

$$VPN = \frac{\text{Verdaderos Negativos}}{\text{Verdaderos Negativos} + \text{Falsos Negativos}}$$

### 3.7.1.7. Concordancia

Es la probabilidad de que dos métodos de diagnóstico posean la misma característica, o que uno de ellos tenga una característica que haya sido observada en el otro. En este estudio se utilizó el índice Kappa.

El coeficiente kappa refleja la concordancia inter-observador y puede ser calculado en tablas de cualquier dimensión, siempre y cuando se contrasten dos observadores.

El coeficiente kappa puede tomar valores entre -1 y +1. Mientras más cercano a +1, mayor es el grado de concordancia interobservador, por el contrario, mientras más cercano a -1, mayor es el grado de discordancia inter-observador. Un valor de  $\kappa = 0$  refleja que la concordancia observada es precisamente la que se espera a causa exclusivamente del azar.

El coeficiente kappa se construye en base a un cociente, el cual incluye en su numerador la diferencia entre la sumatoria de las concordancias observadas y la sumatoria de las concordancias atribuibles al azar, mientras que su denominador incluye la diferencia entre el total de observaciones y la sumatoria de las concordancias atribuibles al azar. En términos conceptuales, la fórmula del coeficiente kappa puede expresarse de la siguiente forma:

$$\kappa = \frac{[(\sum \text{concordancias observadas}) - (\sum \text{concordancias atribuibles al azar})]}{[(\text{total de observaciones}) - (\sum \text{concordancias atribuibles al azar})]}$$

Valoración del Índice Kappa	
Valor de k	Fuerza de la concordancia
< 0.20	Pobre
0.21 – 0.40	Débil
0.41 – 0.60	Moderada
0.61 – 0.80	Buena
0.81 – 1.00	Muy buena

### 3.7.2. Operacionalización de variables

#### 3.7.2.1. Operacionalización de variables del objetivo 1

Determinar la frecuencia de enfermedades diarreicas agudas, causadas por rotavirus según grupo etario y género en la población de estudio.

VARIABLE	DEFINICION OPERACIONAL	DIMENSION	INDICADOR	VALOR FINAL	INSTRUMENTO DE RECOLECCION / SISTEMATIZACION
Frecuencia de consulta por diarrea causada por rotavirus	Muestras con positividad para rotavirus	EDAD	Numero de casos con la enfermedad en un momento dado sobre el total de poblacion en ese momento por edad	porcentaje de positividad por edad	Ficha de recoleccion de datos.
		SEXO	Numero de casos con la enfermedad en un momento dado sobre el total de poblacion en ese momento por sexo.	porcentaje de positividad por sexo	Ficha de recoleccion de datos.

#### 3.7.2.2. Operacionalización de variables del objetivo 2

Identificar el porcentaje de positividad de rotavirus, según esquema de vacunación.

VARIABLE	DEFINICION OPERACIONAL	DIMENSION	INDICADOR	VALOR FINAL	INSTRUMENTO DE RECOLECCION / SISTEMATIZACION
Positividad de rotavirus según esquema de vacunación	Muestra con positividad para rotavirus según el esquema de vacunación	Esquema de vacunación	Numero de casos confirmados para rotavirus en niños inmunizados sobre el total de casos sospechosos	1ra y 2da dosis 1ra dosis ninguna	Ficha de recolección de datos. Entrevista

### 3.7.2.3. Operacionalización de variables del objetivo 3

Demostrar la validez y confiabilidad de la prueba inmunocromatográfico para diagnóstico de rotavirus en relación al ELISA.

VARIABLE	DEFINICION OPERACIONAL	DIMENSION	INDICADOR	VALOR FINAL	INSTRUMENTO DE RECOLECCION / SISTEMATIZACION
Validez de la prueba ICT	presencia de la enfermedad	Sensibilidad de la prueba	Numero de casos verdaderos positivos sobre verdaderos positivos mas falsos negativos	Alta sensibilidad baja sensibilidad	Ficha de recolección de datos.
	Ausencia de la enfermedad	Especificidad de la prueba	Numero de casos verdaderos negativos sobre verdaderos negativos mas falsos positivos	Alta sensibilidad baja sensibilidad	Ficha de recolección de datos.
Confiabilidad de la prueba ICT	seguridad de la prueba en presencia de la enfermedad	Valor predictivo positivo	Numero de casos verdaderos positivos sobre verdaderos positivos mas falsos positivos	Presencia de la enfermedad frente a un resultado positivo de la prueba	Ficha de recolección de datos.
	seguridad de la prueba en ausencia de la enfermedad	valor predictivo Negativo	numero de casos verdaderos negativos sobre verdaderos negativos mas falsos negativos	Ausencia de la enfermedad frente a un resultado negativo de la prueba	Ficha de recolección de datos.

### 3.7.2.4. Operacionalización de variables del objetivo 4

Calcular el grado de concordancia entre el método inmunocromatográfico y la prueba de ELISA para diagnóstico de rotavirus.

VARIABLE	DEFINICION OPERACIONAL	DIMENSION	INDICADOR	VALOR FINAL	INSTRUMENTO DE RECOLECCION / SISTEMATIZACION
Concordancia del metodo inmunocromato grafico con el ELISA	Proporcion de casos con resultado similar para el ICT y el ELISA	Positividad o Negatividad de la prueba ICT Positividad o Negatividad de la prueba ELISA	Indice de concordancia, reproducibilidad de los resultados	Sin acuerdo Insignificante Mediano Moderado Sustancial Casi perfecto	Ficha de recoleccion de datos.

### 3.8. Recolección de datos, fuentes, técnicas e instrumentos

Para la recolección de datos se utilizaron las siguientes fuentes de información, técnicas e instrumentos de recolección de datos. una ficha de recolección diseñada previamente producto de la Operacionalización de variables:

Fuente de Informacion	Tecnica	Instrumento
Secundaria: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Reportes de Laboratorio</li> <li>• Historias Clinicas</li> <li>• Cuaderno de registros del Laboratorio</li> </ul>	Documental	Ficha de recoleccion de datos

#### 3.8.1 Metodología

##### 3.8.1.1 Recolección de muestras

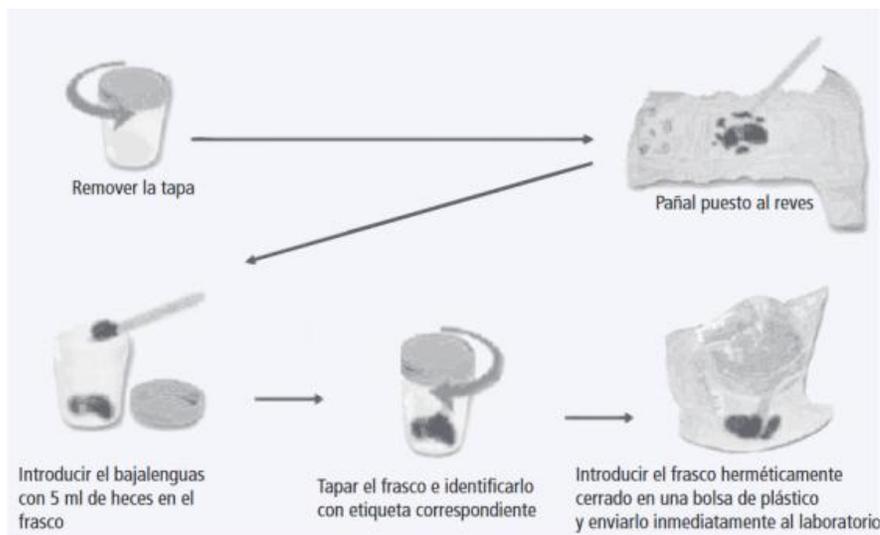
En la recolección de muestras se contó con la colaboración del personal de enfermería del servicio de pediatría, el personal del laboratorio del área de parasitología y toma de muestra a quienes se les informo de los objetivos y propósito del estudio, importancia de la manipulación individual de las muestras, recolección de datos para la identificación de las mismas y como

conservarlas hasta el envío al Instituto de Biología Molecular y Biotecnología (IBMB).

La toma de muestras de las heces fecales se realizó en recipientes desechables de plástico, depositando la materia fecal recién emitida directamente desde el pañal descartable puesto al revés para que no se absorba, con la ayuda de un baja lengua se recolecto de 5 a 10 ml de heces fecales, de preferencia sin signos de desecación ni encostramiento. Cada recipiente fue identificado con la fecha de toma de muestra, nombre del paciente, edad, sexo y código asignado.

Las muestras fueron utilizadas tanto para el estudio de enteroparasitosis, coprocultivo y diagnóstico de rotavirus por ICT en el laboratorio.

Figura 2. Procedimiento para la toma de heces de casos sospechosos de diarrea por rotavirus en menores de 2 años.



Fuente: Guía práctica para la Vigilancia Epidemiológica de Diarreas causadas por Rotavirus. OPS, 2007

### 3.8.1.2. Conservación y transporte de la muestra

Una vez procesadas las muestras, estas fueron alicuotadas en dos frascos de 10 ml, una para el laboratorio y la otra para su envío al IBMB. Cada

recipiente fue identificado con el nombre del paciente, edad, sexo, fecha de recolección de la muestra y código asignado según la hoja de recolección de datos y códigos para tabulación. Anexo 1.

Hasta el momento de traslado al IBMB, las muestras fueron conservadas en refrigeración a  $-20\text{ C}$ . El transporte de muestras desde Ibuelo a La Paz se realizó bajo refrigeración controlada en recipientes herméticos.



### **3.8.1.3. Detección de rotavirus por inmunocromatografía (ICT OneSite™Rotavirus Ag Rapid test)**

De acuerdo con la metodología sugerida por el fabricante, se introdujo con un aplicador de madera en cada tubo previamente rotulado, una cantidad suficiente de muestra fecal para obtener una dilución aproximada de 4% p/v. Para muestras líquidas, se tomaron aproximadamente 100 µl y se añadieron al tubo que contenía la solución tampón. Luego se agitó para homogeneizar la solución y se dejó reposar de 1 a 2 minutos. Seguidamente se añadió la muestra diluida en la zona para la muestra en el dispositivo de reacción, se esperó 15 minutos para la lectura e interpretación de resultados, según la intensidad del color de la reacción se obtuvieron resultados: positivo, débil positivo y muy débil positivo.

### **3.8.1.4. Control de calidad interno en la detección de rotavirus por inmunocromatografía (ICT OneSite™Rotavirus Ag Rapid test).**

La prueba contiene un control interno (banda C) la cual exhibe una banda de color borgoña del inmunocomplejo de cabra anti IgG de raton/conjugados IgG – oro que se forma durante la corrida, la mezcla de conjugado va avanzando por la membrana hasta la región de control donde se han inmovilizado los anticuerpos y siempre aparecerá una línea de color borgoña que se forma independientemente del color en la banda T (línea de la muestra), la cual se utiliza: 1) para verificar que se ha añadido el volumen de muestra suficiente y 2) que el flujo ha sido el apropiado; y 3) como control interno de los reactivos.

Durante esta investigación se utilizaron otros controles internos en cada corrida como: la proteína viral VP6 presente en los rotavirus del grupo A, obtenidos por biología molecular la cual fue proporcionada por el IBMB. Así también se utilizó como control positivo la vacuna de virus vivo atenuado, monovalente desarrollado a partir de una cepa de rotavirus de origen humano (RIX4414), tratándose de una cepa G1P1A. Se atenúa y desarrolla utilizando clonación y cultivo celular.

Se utilizó la solución Buffer del kit como control negativo. Obteniéndose una buena reproducibilidad en todas las corridas tanto en el ICT como en el ELISA.

### **3.9. Plan de análisis estadístico**

Se solicitó permiso escrito para realizar la investigación y para tener acceso a la información requerida, obteniendo la autorización verbal y escrita se procedió a la obtención de datos de las fuentes mencionadas.

Se procedió posteriormente a la aplicación de los instrumentos de recolección de datos los cuales fueron tabulados en Excel y que posteriormente se importaron al paquete estadístico Epidat (versión 3.1) donde fueron procesados.

Se utilizó la estadística descriptiva, para la obtención de medidas de tendencia central que conllevan información respecto a valores en torno a los que tienden a agruparse las variables estudiadas y medidas de dispersión que hacen referencia a la variedad o dispersión que muestran los datos.

Igualmente, en el análisis se emplearon valores de probabilidad matemática, expresados como porcentaje que resulta de la multiplicación de las fracciones por cien. De esta forma se midió la probabilidad de ocurrencia de los hechos investigados mediante un número entre cero y uno multiplicado por 100. (Un hecho que no puede ocurrir tiene una probabilidad de cero, y un evento cuya ocurrencia es segura tiene probabilidad de cien)

Se efectuó pruebas de significación estadística, exigiendo nivel de significación  $\alpha = 0,05$  e incluyó el estudio de significación en el análisis de grupos de datos con proporciones independientes y con dos desviaciones estándar. Las variables analizadas fueron: Edad, sexo, sensibilidad, especificidad, VPP y VPN.

Así mismo se usó el coeficiente kappa que refleja la concordancia inter-observador y puede ser calculado en tablas de cualquier dimensión, siempre y cuando se contrasten dos observadores.

El coeficiente kappa puede tomar valores entre -1 y +1. Mientras más cercano a +1, mayor es el grado de concordancia interobservador, por el contrario, mientras más cercano a -1, mayor es el grado de discordancia inter-observador. Un valor de  $\kappa = 0$  refleja que la concordancia observada es precisamente la que se espera a causa exclusivamente del azar.

### 3.10. Aspectos éticos de la investigación

El estudio ha sido aprobado por el comité científico docente asistencial del hospital San Martín de Porres - Ibuelo y del instituto de biología molecular – La Paz.

Los requisitos éticos de una investigación en salud se resumen en la Declaración de Helsinki(57) algunos de los cuales se incluyen en esta investigación:

- **Mérito científico.** El párrafo 21 de la DdH estipula que la investigación médica en seres humanos debe estar justificada por bases científicas, los pasos para la realización de esta tesis se basan en el método científico que se reflejan en la secuencia de sus capítulos.
- **Valor social.** Uno de los requisitos más polémicos de un proyecto de investigación médica es que contribuya al bienestar de la sociedad. Los resultados de la investigación contribuirán al conocimiento de las variables del problema y por lo tanto se contarán con mayores posibilidades de un abordaje más efectivo desde el sistema de salud particularmente en enfermedades diarreicas agudas. Al finalizar la investigación, ésta se pondrá a disposición de la comunidad científica en particular.

- **Riesgos y beneficios.** El riesgo es el potencial de un resultado adverso (daño) por el nivel de estudio y por el tipo de diseño NO experimental no existen riesgos para los sujetos de estudio. La tesis es de nivel descriptivo correlacional, no se manipularon intencionalmente variables de las unidades de investigación sino más bien el estudio se basó en datos registrados durante un periodo anterior. Además, debido a que se trata de un diseño retrospectivo, no existirán riesgos físicos y/o psicológicos, tampoco potencial invasión de la privacidad, riesgo de muerte y/o alteración de la calidad de vida ni daños a terceros.
- **Consentimiento informado.** Al ser el presente estudio prospectivo, se incluirá la participación directa de las pacientes, por tanto, requerirá la firma de un consentimiento informado, además para salvaguardar la confidencialidad no figurará en la ficha de recolección de datos los nombres de las pacientes, lo que permitirá la no identificación del mismo.

## CAPITULO IV

### 4. RESULTADOS

#### 4.1 Presentación de resultados y análisis

Para la redacción análisis y discusión de resultados se sistematizaron los mismos por objetivo específico.

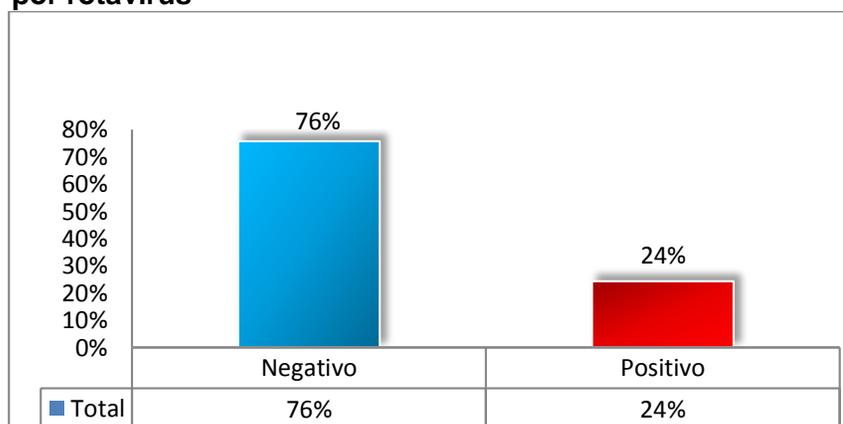
##### 4.1.1. Frecuencia de enfermedad diarreica aguda causada por rotavirus

**Tabla 1. Frecuencia de enfermedades diarreicas agudas por rotavirus**

Prueba	Frecuencia	Porcentaje
Negativo	206	76%
Positivo	66	24%
<b>TOTAL</b>	<b>272</b>	<b>100%</b>

Fuente: elaboración propia

**Grafica1. Frecuencia de enfermedades diarreicas agudas por rotavirus**



Fuente: elaboración propia

Del total de niños/as 272 (100%) a quienes se les realizó la determinación de inmunocromatografía para Rotavirus en el periodo de enero 2017 a agosto 2018, 66 resultaron positivos, lo que corresponde al 24 % y 206 fueron negativos que representa el 76% del total de la población en estudio. De las

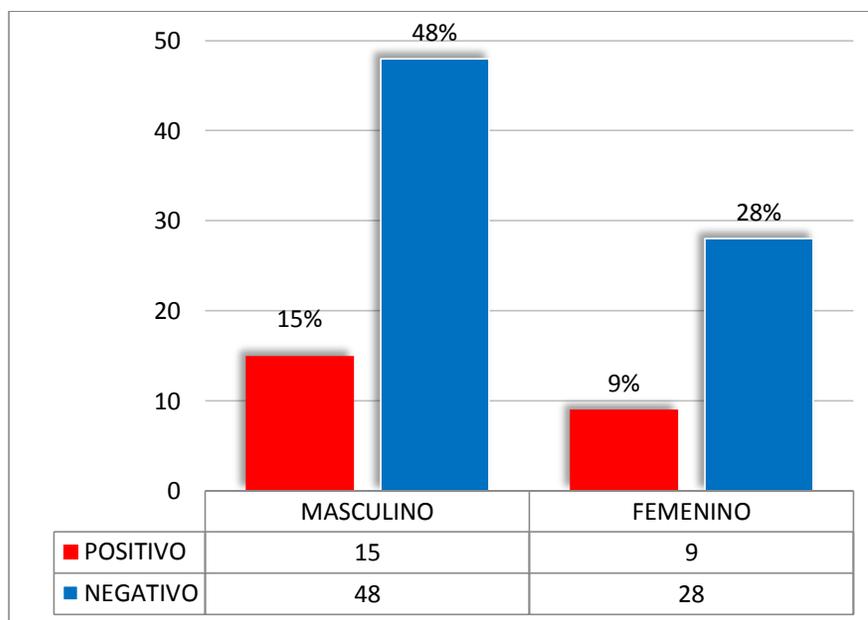
272 muestras analizadas la prevalencia de infección por rotavirus es del 24,3%.

**Tabla 2. Frecuencia de enfermedades diarreicas agudas por rotavirus, según género.**

DIAGNOSTICO	GENERO		TOTAL
	Masculino	Femenino	
<b>Positivo</b>	40	26	66
<b>Negativo</b>	131	75	206
<b>Total</b>	171	101	272

Fuente: elaboración propia

**Gráfico 2. Frecuencia de enfermedades diarreicas agudas por rotavirus, según género.**



Fuente: elaboración propia

El presente gráfico indica que de 66 casos positivos, 40 fueron del sexo masculino representando el 15% y 26 fueron del sexo femenino

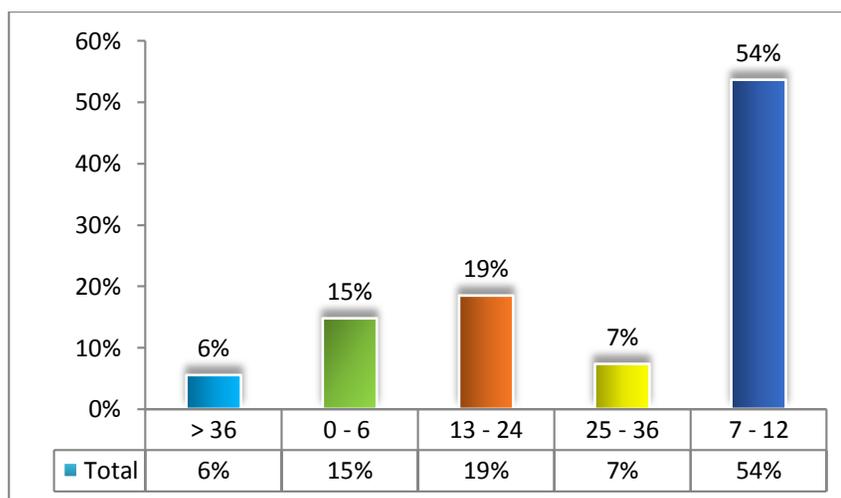
correspondiendo al 9%. Lo que nos indica que el sexo masculino fue el más afectado

**Tabla 3. Frecuencia de enfermedades diarreicas agudas por rotavirus, según grupo etáreo.**

Edad en meses	Frecuencia	Porcentaje
0 - 6	8	15%
7 - 12	38	54%
13 - 24	13	19%
25 - 36	4	7%
> 36	3	6%
<b>TOTAL</b>	<b>66</b>	<b>100%</b>

Fuente: elaboración propia

**Grafica 3. Frecuencia de enfermedades diarreicas agudas por rotavirus, según grupo etáreo.**



Fuente: elaboración propia

La población en estudio fue agrupada en 5 rangos de edad en meses (0-6, 7-12, 13-24, 25-36 y > 36). El promedio de edad de los niños estudiados en el hospital de Ibuelo fue de  $13.4 \pm 9.7$  meses (intervalo de confianza del 95%, IC95%= 12.2–14.7). El mayor porcentaje de la población en estudio se concentra en el rango de 7 a 24 meses de edad con un 73 %

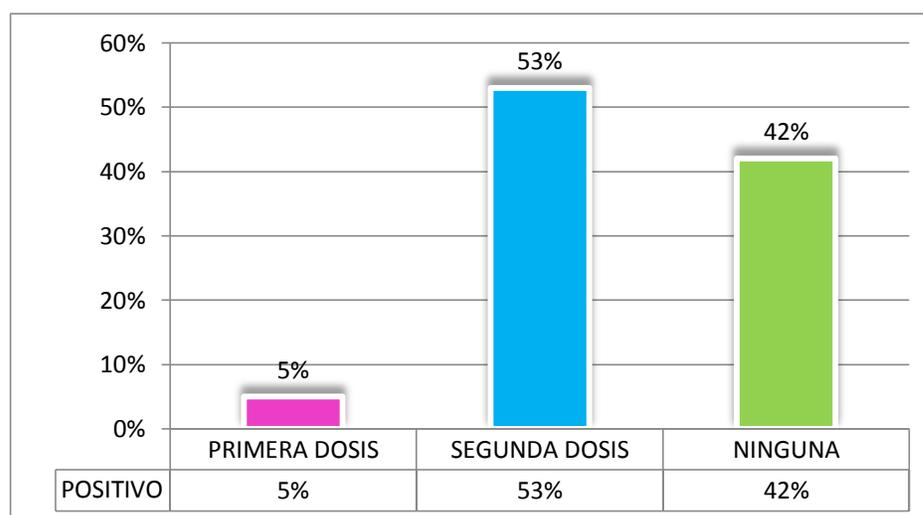
#### 4.1.2. Positividad de rotavirus según esquema de vacunación.

Tabla 4. Positividad de rotavirus según esquema de vacunación

Diagnostico	Esquema de vacunación			Total
	Primera dosis	Segunda dosis	Ninguna	
Positivo	3	35	28	66
Negativo	11	142	53	206
<b>Total</b>	14	177	81	272

Fuente: elaboración propia

Grafico 4. Positividad de rotavirus, según esquema de vacunación



Fuente: elaboración propia

De las 66 muestras positivas para rotavirus 35 niños (53%), tienen el esquema completo de inmunización, 3 niños (5%) solo recibieron la primera dosis y 28 niños (42%) no recibió vacunas, por no encontrarse en el rango de edad de aplicación de la vacuna o por no portar con el carnet de vacunas, en el momento de la toma de muestra.

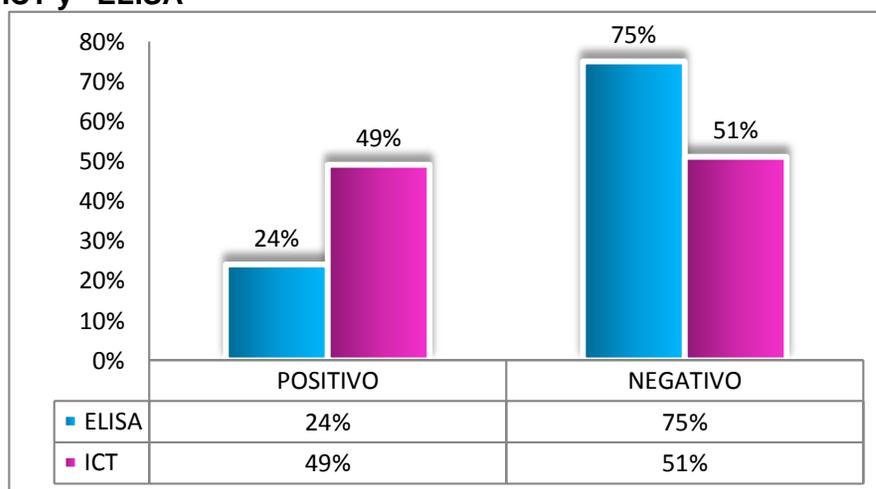
#### 4.1.3. Validez y confiabilidad de la prueba inmunocromatografica para el diagnóstico de rotavirus en relación al ELISA.

**Tabla 5. Frecuencia de validez y confiabilidad de Rotavirus según la prueba ICT y ELISA**

P. DIAGNOSTICO ICT	PRUEBA DE REFERENCIA ELISA		
	POSITIVO	NEGATIVO	TOTAL
POSITIVO	62	69	131
NEGATIVO	4	137	141
TOTAL	66	206	272

Fuente: elaboración Epidat 3.1

**Grafica 5. Porcentaje de validez de rotavirus según la prueba ICT y ELISA**



Fuente: elaboración propia

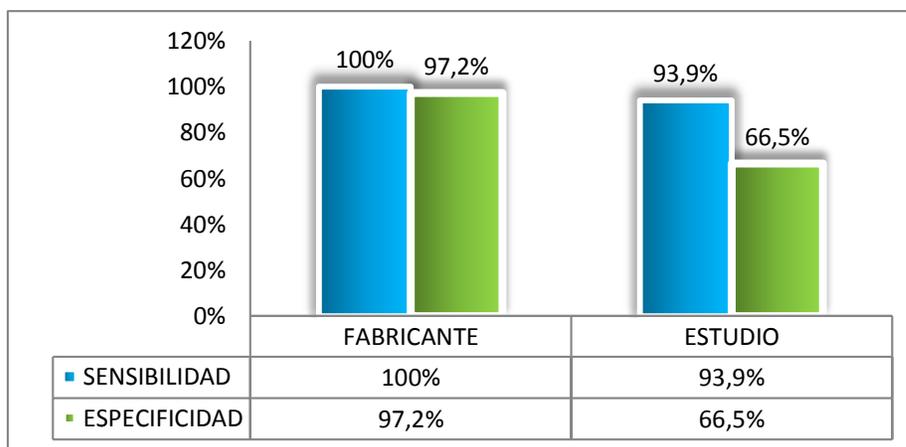
De las 272 muestras analizadas por ambos métodos, 49% dieron positivo para el método inmunocromatografico, viéndose una denota diferencia por la técnica ELISA ya que por este método únicamente el 24% resultaron positivos.

**Tabla 6. Sensibilidad y especificidad de la prueba Inmunocromatografica**

Validez	Fabricante	Estudio
<b>Sensibilidad</b>	100%	93,9%
<b>Especificidad</b>	97,2%	66,5%

Fuente: elaboración propia

**Gráfico 6. Sensibilidad y especificidad de la prueba inmunocromatografica**



Fuente: elaboración propia

De las 272 muestras estudiadas, 66 (24,2%) resultaron positivas para rotavirus por las dos técnicas. La prueba inmunocromatografica dio 69 falsos positivos y 4 falsos negativos, frente al ELISA método de referencia. Por lo que La sensibilidad y la especificidad del método inmunocromatografico respecto al ELISA fue del 93,9% y del 66,5%, respectivamente, al comparar estos resultados respecto a la relativa sensibilidad y especificidad del kit se observa

que la especificidad del fabricante es del 97,2%, y sensibilidad del 100% son altos en relación al obtenido en el estudio.

**Tabla 7. Confiabilidad de la prueba Inmunocromatografica**

WP POSITIVA	WP NEGATIVO	RAZON DE VEROSIMILITUD (+)	RAZON DE VEROSIMILITUD (-)	CERTEZA DIAGNOSTICA	K
47,3%	97,2%	2,8%	0,1%	73,2%	0.45

Fuente: elaboración propia

De las 272 muestras estudiadas, 66 (24,2%) resultaron positivas para rotavirus por las dos técnicas. La prueba inmunocromatografica dio 69 falsos positivos y 4 falso negativo, frente al ELISA usado como método de referencia. Los valores predictivos positivo (VPP) y negativo (VPN), fueron de 47,3% y 97,2% respectivamente. La razón de verosimilitud (+), nos indica que un resultado por ICT positivo para rotavirus es 2,8 veces más probable en un paciente con EDA por rotavirus que un paciente sin EDA por rotavirus. En cambio, la razón de verosimilitud (-), nos está indicando que un resultado por ICT negativo para rotavirus es más probable en un paciente sin EDA por rotavirus

#### 4.1.4. Grado de concordancia entre el método ICT y la prueba ELISA.

**Tabla 8. Concordancia de los métodos ICT y ELISA**

		ELISA		Total
		Positivo	Negativo	
ICT	Positivo	62	69	131
	Negativo	4	137	141
Total		66	206	272

Fuente: elaboración propia

El índice Kappa indicó que los resultados de detección de rotavirus por ICT y ELISA fueron concordantes en el 45,3% (0,453) de los casos, considerándose como una moderada concordancia. Se encontraron 69 falsos positivos y 4 falsos negativos por el método ICT, que fueron positivos por el ELISA.

#### **4.2. Discusión**

Una vez analizadas las 272 muestras se determinó que 66 casos fueron positivos, representando un 24%, con predominio del sexo masculino, en un 32%; concentrándose en el rango de 7 a 12 meses de edad con un 54% de positividad. Estos datos encontrados coinciden con los siguientes estudios:

Estudios realizados en el Área de Pediatría del Hospital Verdi Cevallos Balda de la provincia de Manabí en 2011 en donde se trabajó con una muestra de 69 niños, de los cuales 10 fueron positivos con un porcentaje de 14,5%

El estudio realizado en centros asistenciales del estado Miranda en Venezuela en el 2007, se evaluaron a 160 niños menores de 5 años con enfermedad diarreica aguda, de ellos 31 obtuvieron resultado positivo para rotavirus representando el 19,4%.

Otro estudio en Cuba realizado, durante el periodo comprendido de marzo 2010 a febrero 2011, se realizó la detección de rotavirus a 88 muestras de heces fecales de niños menores de 5 años con EDA, se obtuvo un 61.4 % de positividad a rotavirus, encontrándose una mayor prevalencia de rotavirus en 43,2 % en el grupo de 7-24 meses de edad. (41)

Durante el año 2015 se realizó un estudio en el Hospital Alemán Nicaragüense en niños menores de 5 años con diarrea aguda con sospecha

de Rotavirus. De 139 pacientes de los cuales 21 pacientes dieron positivos para rotavirus. La edad que predominó fueron los rangos de 4 a 11 meses y de 12 a 23 meses con 31% (63 pacientes) respectivamente y en menor cantidad de 1 a 3 meses con un 8% (17). Estos datos vincularon, con la presencia de anticuerpos maternos que protegen a los menores de 3 meses. El cuadro diarreico en ambos años, se presentó en 56% de los niños y 44% de las niñas. El sexo que predominó fue el masculino. (47)

Este predominio a la mayor susceptibilidad en los varones a las infecciones está ligada al cromosoma X, ya que en él se encuentran los genes responsables del control del nivel de las inmunoglobulinas, El cuadro diarreico en ambos años, se presentó en 56% de los niños y 44% de las niñas. El sexo que predominó fue el masculino. (47)

Una vez analizadas las 272 muestras se determinó que de 57 casos positivos 28 pacientes recibieron el esquema completo de vacunación y 29 paciente no recibió vacunas por no encontrarse en rango de edad de su aplicación o simplemente no contaban con la información. Datos que coinciden con estudios realizados el año 2015 en el Hospital Alemán Nicaragüense en niños menores de 5 años con diarrea aguda con sospecha de Rotavirus. De 139 pacientes de los cuales 21 pacientes dieron positivos para rotavirus. El esquema de inmunización de estos niños se completó para Rotavirus en un 81% respectivamente, y el 4% no recibió vacunas, por no encontrarse en rango de edad de su aplicación. (47)

El 2012 en Santa Marta un estudio evidencia que el 44% de los participantes positivos no fueron vacunados para rotavirus, mientras un 55% sí recibieron la vacuna. Siendo la mayoría vacunados con resultados positivos para rotavirus. (52) Estos datos coinciden con los datos obtenidos en este estudio.

Como indica Pertuz Meza et al. 2014, a pesar de la alta eficacia demostrada de la vacuna contra la diarrea por rotavirus en los ensayos clínicos, hay una continua necesidad de evaluar la efectividad administrada como parte de la atención clínica de rutina. Varios factores, incluyendo la entrega y almacenamiento de vacunas, la edad en la que la reciben, el intervalo entre las dosis, los genotipos de rotavirus naturales circulantes, y la inclusión de niños que puedan responder de manera diferente a la vacuna, podrían reducir la efectividad de la vacuna cuando se administra en la población. (52) Lo cual explica por qué, en esta investigación, hubo 28 niños (49%) vacunados pero a pesar de eso presentaron diarrea por rotavirus.

También llama la atención estudios donde se plantea la disminución de la efectividad de la vacuna, asociándola a la coadministración de la vacuna de poliomielitis y con la lactancia materna; planteándose la posibilidad de anticuerpos neutralizantes de la lactancia materna en contra de Rotavirus, son solamente estudios que requieren más investigación al respecto. IgG e IGA con altos títulos en el suero materno pueden ser transferidos a través de la placenta y pueden inhibir la respuesta inmune de la vacuna de rotavirus. (47)

La presente investigación usando el OnSite™ Rotavirus Ag Rapid Test prueba inmunocromatográfica nos dio un 93.9 % de sensibilidad y 66.5 % de especificidad utilizando el ELISA como técnica de referencia.

Sabiendo que sólo en algunos casos de detección de antígenos virales en heces, las pruebas ICT pueden ser catalogadas como semicuantitativas, al estar la intensidad del color en la ventana de lectura en relación con la carga viral. (28)

El año 2002 en la Universidad Estatal de Michigan, se realizó un estudio con un total de 54 muestras diarreicas de heces fecales, que se utilizaron para

evaluar el rendimiento de la prueba ICT-RV frente a ELISA y RT-PCR. Los resultados de esta comparación mostraron que la prueba ICT-RV tenía una sensibilidad del 87% y una especificidad de 93,6%, un alto valor predictivo positivo de más del 90% y un alto valor predictivo negativo 90,6% con un índice Kappa: 0,81. (36)

Los resultados encontrados en la investigación realizada tienen una alta sensibilidad en relación a la especificidad, esto sin duda deberá de tomarse en cuenta lo que indica Hurtado 2012 las pequeñas variaciones observadas entre la sensibilidad y especificidad arrojadas por los diferentes métodos inmunocromatográficos estudiados pudiera deberse a varios factores como, la utilización de diferentes estándares de oro en los diversos trabajos, al transporte y conservación de la muestra, tiempo entre la recolección y procesamiento, calidad de los anticuerpos de captura y presencia en la muestra de enzimas que degradan proteínas o ácidos nucleicos, entre otros. La sensibilidad y especificidad de una prueba inmunológica debe mantener un nivel mayor del 90,0% para considerarse como buena. (43)

También se deberá de considerar la subjetividad del observador en el momento de la lectura del ICT, en aquellas pruebas donde la lectura del resultado es apenas visible por lo que hoy en día para evitar esta subjetividad se tiene equipos que leen el resultado.

Concordancia para diagnóstico de rotavirus del método inmunocromatográfico en relación al ELISA: índice Kappa indicó que los resultados de detección de rotavirus por ICT y ELISA fueron concordantes en el 45,3% (0,453) de los casos, considerándose como una moderada concordancia. Se encontraron 69 falsos positivos y 4 muestras rotavirus positivas por ELISA que no fueron detectadas por el ICT. Este valor encontrado de concordancia difiere del realizado el año 2002 en la Universidad Estatal de Michigan donde se evaluó la prueba inmunocromatografica frente al ELISA. Los resultados de esta comparación

mostraron que la prueba inmunocromatografica tenía una sensibilidad del 87% y una especificidad de 93,6%, un alto valor predictivo positivo de más del 90% y un alto valor predictivo negativo 90,6% con un índice Kappa: 0,81 que corresponde a una concordancia buena (36), o el estudio realizado en Cuba donde el índice Kappa fue: 0,84 (43)

## CAPITULO V

### 5. CONCLUSION Y RECOMENDACIONES

#### 5.1. Conclusiones

- Teniendo en cuenta que para el diagnóstico individual se buscan pruebas sensibles, podemos concluir que el método de ICT puede ser utilizado como “*screening*” en el diagnóstico de rotavirus, ya que posee muy buena sensibilidad, es simple, rápido, no requiere de personal entrenado ni requiere de equipos especiales, posibilitando un diagnóstico en los servicios de urgencias, permitiendo la hidratación inmediata de los pacientes, el aislamiento de los infectados o portadores, evitando el uso innecesario de antibiótico.
- Si bien la especificidad encontrada en nuestro estudio es bajo, los falsos positivos no constituyen un riesgo para el paciente, dado que el tratamiento convencional de la gastroenteritis por rotavirus es la rehidratación y el restablecimiento del equilibrio hidroelectrolítico. Para asegurar que una diarrea de origen bacteriano, que se dé concomitantemente con un falso positivo, no quede sin cobertura antibiótica siempre que fuere necesaria, sería aconsejable realizar además coprocultivos en los casos en que la clínica y el Coproparasitológico del paciente así lo ameriten.
- Los resultados obtenidos permiten concluir que el método de diagnóstico rápido ICT puede ser utilizado como alternativa para el diagnóstico rápido de rotavirus en heces, principalmente en zonas rurales, pero que para una mayor precisión sus resultados deberán confirmarse por ELISA.

## 5.2. Recomendaciones

- Promover la realización de más investigaciones de este tipo que den una respuesta válida y confiable en el diagnóstico de EDA y de esta manera ayudar al diagnóstico clínico y la calidad de vida de los niños.
- Proponer realizar estudios de los diferentes virus causantes de diarreica aguda en la edad infantil con el propósito de tener una guía de vigilancia epidemiológica de los mismos.
- Proponer sistemas de vigilancia epidemiológica multidisciplinaria, en la zona de la presente investigación asumiendo que el rotavirus está ligado a la falta de agua potable y alcantarillado é incrementado por la convivencia con animales como medios de transmisión de diferentes genotipos de rotavirus que causan EDA
- Promover el continuo lavado de manos y uso adecuado de los EPP (elementos de protección personal) en el personal de salud y parientes de los enfermos con EDA
- Promover el uso de pruebas rápidas en diagnóstico clínico de EDA (virales) en los servicios en salud para el cumplimiento de normas con el fin de disminuir el uso indiscriminado de antimicrobianos

## 6. Bibliografía

1. Ordóñez Jiménez, María Gabriela. Estudio Comparativo entre el Test Inmuncromatográfico Simple y Combinado para la detección de rotavirus y adenovirus en infantes que acuden al Hospital Regional Isidro Ayora de la ciudad de Loja. BS thesis. 2013.
2. Bishop RF, Davidson GP, Holmes IH, Ruck BJ. Virus particles in epithelial cells of duodenal mucosa from children with viral gastroenteritis. *Lancet* 1973;1:1281-1283
3. Pío López, L., D. Cáceres, and M. López. "Enfermedad por rotavirus características epidemiológicas, clínicas prevención y manejo." (2011): 45-55.
4. Plaza A, Grinstein S, Muchnik G, Valvaro M, Gómez JA. Estudio clínico y epidemiológico de la diarrea por rotavirus en la infancia. *Arch Argent Pediatr* 1982;80:289-308. (art. Ingles)
5. Glass R, Kilgore P, Holman R, Jin S, Smith J, Woods P, et al. The epidemiology of rotavirus diarrhea in the United States: surveillance and estimates of disease burden. *J Infect Dis* 1996; 174: S5-S11.(art ingles).
6. Bishop R, Barnes G, Cipriani E, Lund J. Clinical immunity after neonatal rotavirus infection: a prospective longitudinal study in young children. *N Engl J Med* 1983; 309: 72-6.
7. Delpiano, M., et al. "Comportamiento clínico y costos de la gastroenteritis por rotavirus en lactantes: Adquisición comunitaria versus nosocomial." *Revista chilena de infectología* 23.1(2006): 35-42.
8. Pickering L, Bartlett A, Reves P, Morrow A. Asymptomatic excretion of rotavirus before and after rotavirus diarrhea in children in day care centers. *J Pediatr* 1988; 12: 361-5.( Art. Ingles)
9. Richardson S, Grimwood K, Gorelli R, Palombo E, Barnes G, Bishop R. Extended excretion of rotavirus after severe diarrhoea in young children. *Lancet* 1998; 351: 1844- 8 (Art. Ingles).

10. Baylo, D. P. (2007). Vigilancia Epidemiológica de diarreas causadas por Rotavirus. Washington: Organización Panamericana de la Salud
11. Mirta, Periago. "Vigilancia epidemiológica de las diarreas causadas por rotavirus." *Organización Panamericana de la Salud* (2007): 1-34.
12. Lawton, J.; Estes, M. y Prasad B. 1997. Three-dimensional visualization of mRNA release from actively transcribing rotavirus particles. *Nature. Struct. Biol.*, 4: 118-121.
13. O’Ryan, M.; Prado, V. y Pickering, L. 2005. A millennium update on pediatric diarrheal illness in the developing world. *Semin. Pediatr. Infect. Dis.* 16: 125-136.
14. Estes, M.K. 2001. *Rotaviruses and their replication*. In *Fields Virology*. Fields, B.; Knipe, D.; Howley, P.; Chanock, R.; Melnick, J.; Monath, T.; Roizman, B. y Straus, S. (eds). Cuarta Edición. New York. RavenPress.
15. Jawetz, Melnick y Adelberg. Microbiología Médica. 25a ed. McGraw-Hill Interamericana Editores S.A. de C.V; 2011. Pág: 423 – 430; 507 – 512
16. VILLARREAL R, 2008. *Para Padres, Diarrea Por Rotavirus. Venezuela.*
17. GONZÁLEZ O, E. 1996. Las Mediciones En Epidemiología, Instituto Pedro Kouri, Ciudad de Habana, P118.
18. González, M. A., Hidalgo Rodríguez, R., & Silva Blay, L. (31 de 07 de 2000). Hospital Pediátrico Universitario "William Soler". Recuperado el 2016, de Hospital Pediátrico Universitario "William Soler": [http://www.bvs.sld.cu/revistas/ped/vol75\\_1\\_03/ped08103.htm#cargo](http://www.bvs.sld.cu/revistas/ped/vol75_1_03/ped08103.htm#cargo) disponible en
19. Wilhelmi de Cal I, Mohedano del Pozo RB, Sánchez-Fauquier A. Rotavirus y otros virus productores de gastroenteritis aguda en la infancia. Servicio de Microbiología. Hospital Severo Ochoa. Leganés. Madrid. España. *EnfermInfeccMicrobiolClin* 2008; 26 Supl 13:61-65.

20. Diez Domingo J, Baquero Artiago F, Del Castillo Martin F, Garcés Sánchez M, García García JJ, Giménez Sánchez F, et al. Vacunación frente a Rotavirus. Documento de consenso de las sociedades Científicas. Madrid: AEP, SEUP, Sociedad Española de Pediatría Extrahospitalaria y atención Primaria; 2008.
21. Barrio Corrales F. Impacto de la vacunación frente al rotavirus. Jornadas de vacunas de la AEP 2011, 24 y 25 de marzo, Sevilla.
22. Tamayo Meneses L, Moreno Lagos BO. Rotavirus. Revistas Bolivianas. Cuadernos Hospital de Clínicas [Internet]. 2007 [acceso 2 de mayo de 2012]. Disponible en: [http://www.revistasbolivianas.org.bo/scielo.php?script=sci\\_issuetoc&pid=1652-677620070001&lng=en&nrm=iso](http://www.revistasbolivianas.org.bo/scielo.php?script=sci_issuetoc&pid=1652-677620070001&lng=en&nrm=iso).
23. Ortigosa del Castillo L. Vacunas frente a rotavirus. Situación actual. BSCP Can Ped 2006; 30, 2:31-36.
24. Sanz Santaefemia FJ, Roa Francia MA, García Talavera ME, Tejedor Torres JC, Sebastián Planas M. Rotavirus: vieja enfermedad, nuevas vacunas. RevPediatr Aten Primaria. 2008; 10:89-98.
25. Greenberg, H. B., & Estes, M. K. (2009). Rotaviruses: from pathogenesis to vaccination. *Gastroenterology*, 136(6), 1939–51. doi:10.1053/j.gastro.2009.02.076
26. Bellido Blasco J, García A. 6ª Monografía de la Sociedad Española de Epidemiología: Epidemiología de las gastroenteritis agudas víricas. España: EMISA; 2007.
27. Koopmans M, Duizer E. Foodborne viruses: an emerging problem. *IntJm Food Microbiol*. 2004; 90: 23-41
28. Test de diagnóstico microbiológico rápido en la consulta de Pediatría de Atención Primaria. (37 – 43 diagnóstico)
29. Enfermedades diarreicas - World Health Organization  
<http://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/diarrhoeal-disease>

30. Rotavirus vaccines. *Weekly Epidemiological Record*, 2007, 82(32):285–296. disponible en <http://www.who.int/wer/2007/wer8232/en/>
31. Romero C, Mamani N, Alvorsen K, Iñiguez V. Enfermedades diarreicas agudas asociadas a rotavirus. *Rev Soc Bol Ped* 2005; 44:75-82.  
[http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1024-06752005000200002](http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1024-06752005000200002)
32. Parashar UD, Hummelman EG, Joseph S, Molinero MA, et al. La Enfermedad Global y Muertes Causadas por Rotavirus en los Niños. *Emerg Infect Dis* 2009; 9: 565-71.  
<http://dx.doi.org/10.1181/1098-2643-123456789/5677>
33. Ramos, A., Stefanelli, C., Linhares, R., de Brito, B., Santos, N., Gouvea, V., de Cassia, L y Nozawa, C. 1998. The stability of porcine rotavirus in feces. *Veterinary Microbiology*. 71(1-2):1-8
34. Monpoeho, S., Maul, A., Bonnin, C., Patria, L., Ranarijaona, S., Billaudel, S., and Ferre, V. 2004. Clearance of human-pathogenic viruses from sludge: study of four stabilization processes by real-time reverse transcription-PCR and cell culture. *Applied Environmental Microbiology* 70:5434-5440
35. Wilhelmi I, Colomina J, Martin-Rodrigo D, Roman E, Sanchez-Fauquier A. 2001. New immunochromatographic method for rapid detection of Rotaviruses in stool samples compared with standard enzyme immunoassay and latex agglutination techniques. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*; 20(10):741-3.  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11757978>
36. Roger K, Daniel G, Annabel G, Cunquin H, Valerie C, Lora H, Mary L, Charles k, Robert H, Evaluation of a Human Group A Rotavirus Assay for ON-Site Detection of Bovine Rotavirus. *Journal of Clinical Microbiology* (revista en internet); Jan 2003. (Acceso 1 de septiembre de 2018); 41(1):290-294. Disponible en:  
[https://www.researchgate.net/publication/10959263\\_Evaluation\\_of\\_a\\_Human\\_Group\\_A\\_Rotavirus\\_Assay\\_for\\_On-Site\\_Detection\\_of\\_Bovine\\_Rotavirus](https://www.researchgate.net/publication/10959263_Evaluation_of_a_Human_Group_A_Rotavirus_Assay_for_On-Site_Detection_of_Bovine_Rotavirus)

37. González, F., María E. Sordo, and J. Gómez. "Diarrea por rotavirus." *Medicina* 59 (1999): 321-326. Disponible en [http://medicinabuenosaires.com/demo/revistas/vol59-99/4/v59\\_n4\\_321\\_326.pdf](http://medicinabuenosaires.com/demo/revistas/vol59-99/4/v59_n4_321_326.pdf)
38. Morales Rodríguez, Ana María. *Comportamiento clínico y epidemiológico de los pacientes menores de 5 años con enfermedad diarreica aguda causada por rotavirus, ingresados en el Hospital Manuel de Jesús Rivera comprendido en el período de 1º Mayo 2012 a 31 Diciembre 2014*. Diss. Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua, Managua, 2015. <http://javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis97.pdf>
39. Garrido González, Dailys, Gloria María Seisdedos Gómez, and Caridad María Tamayo Reus. "Enfermedad diarreica aguda por rotavirus en pacientes ingresados en un servicio de gastroenterología pediátrica." *MediSan* 20.9 (2016): 2104-2110. [http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S102930192016000900008&script=sci\\_abstract&tlng=en](http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S102930192016000900008&script=sci_abstract&tlng=en)
40. Angela, Pico Pico. *Prevalencia Rotavirus en niños menores de 5 Años en el hospital IESS de Manta año 2014*. MS thesis. Universidad de Guayaquil, Dirección de Posgrado, Maestría en Investigación Clínica y Epidemiológica, 2016. <http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/26236>
41. María de los Angeles, Ribas Antunez, et al. "DETECCIÓN DE NOROVIRUS Y ROTAVIRUS EN NIÑOS MENORES DE 5 AÑOS CON GASTROENTERITIS AGUDA." *8th Cuban Congress on Microbiology and Parasitology, 5th National Congress on Tropical Medicine and 5th International Symposium on HIV/aids infection in Cuba*. 2014. [http://www.microbio\\_parasito\\_sida\\_med\\_tropical.sld.cu/index.php/microbiologia/2014/paper/view/397/0](http://www.microbio_parasito_sida_med_tropical.sld.cu/index.php/microbiologia/2014/paper/view/397/0)
42. PA de Burgos, GA Catalán. Prevalencia de Rotavirus en niños que asisten a dos laboratorios privados del departamento de Petén Revista Científica de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia 23 (1), 38-47.2013. [/dialnet.unirioja.es/ejemplar/396429](http://dialnet.unirioja.es/ejemplar/396429)

43. Hurtado, Mariángeles A. *Evaluación de Un Método Inmunocromatográfico para la Detección de Rotavirus Humano y Adenovirus 40/41 en Heces de Niños con Síndrome Diarreico*. Diss. Universidad de Oriente Núcleo de Sucre., 2012.
44. Fariña, Norma, et al. "Sensibilidad y especificidad del método inmunocromatográfico utilizado para el diagnóstico de rotavirus." *Memorias del Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud* 6.2 (2008).
45. Nguyen, TuanAnh, et al. "Evaluation of immunochromatography tests for detection of rotavirus and norovirus among Vietnamese children with acute gastroenteritis and the emergence of a novel norovirus GII. 4 variant." *Journal of tropical pediatrics* 53.4 (2007): 264-269.
46. Gentsch, J. R., et al. "Identification of group A rotavirus gene 4 types by polymerase chain reaction." *Journal of clinical microbiology* 30.6 (1992): 1365-1373. <https://jcm.asm.org/content/30/6/1365.short>
47. Salgado, Granera, and Thelma Gioconda. *Caracterización clínico-epidemiológica de diarrea aguda con sospecha por rotavirus en menores de 5 años en Hospital Alemán Nicaragüense en 2015 y 2016*. Diss. Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua, Managua, 2017.
48. Diez Domingo, J., et al. "Vacunación frente a Rotavirus." *Documento de consenso de las sociedades Científicas. Madrid: AEP, SEUP, Sociedad Española de Pediatría Extrahospitalaria y atención Primaria* (2008).
49. O'Ryan, Miguel. "Vacunas anti-rotavirus: Al fin una realidad." *Revista chilena de infectología* 22.4 (2005): 345-354.
50. Inchauste, Lucia, et al. "Impact of rotavirus vaccination on child mortality, morbidity, and rotavirus-related hospitalizations in Bolivia." *International Journal of Infectious Diseases* 61 (2017): 79-88.
51. Bibliogra Alonso, Roberto, et al. "Procedimientos en Microbiología Clínica." Recuperado el 9 (2012). <https://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia19.pdf>

52. Pertuz Meza, Yolima. "Incidencia y Factores de Riesgo Asociados a Enfermedad Diarreica Aguda por Rotavirus, Santa Marta, 2012." Revista Hacia la Promoción de la Salud 19.2 (2014).
53. Pineda EB, Alvarado EL, Canales FH. Metodología de la investigación OMS [Internet]. 2ª ed. Washington DC E.U.A.: PALTEX - OPS; 1994 [citado 18 de febrero de 2017]. 94 p. Disponible en: <http://187.191.86.244/rceis/registro/Metodologia%20de%20la%20Investigacion%20Manual%20para%20el%20Desarrollo%20de%20Personal%20de%20Salud.pdf>
54. Pastor-Barriuso R. Bioestadística. Vol. 1. Madrid, España: CENTRO NACIONAL DE EPIDEMIOLOGÍA – Instituto de Salud Carlos III; 2012. 41-2 p.
55. JimenesPaneque R. Metodología de la investigación, elementos básicos para la investigación clínica. Vol. 1. Habana Cuba: Representación en Cuba de la Organización Panamericana de la Salud / Organización Mundial de la Salud; 1998. 43-50 p.
56. Fathalla MF, Fathalla MMF. Guía práctica de investigación en salud. 1.a ed. Washington DC E.U.A.: Organización Panamericana de la Salud; 2008. 45-8 p. (Publicación Científica y Técnica; vol. 1).
57. Elena Sinobas p, García Padilla F, García Piqueras L, Gómez González J, González de Aro MD, González Pisano AC, et al. Manual de investigación cuantitativa para enfermería. 1ª ed. Vol. 1. España: Cíceros Digital; 2011. 44-8 p.
58. Argimon Pallás J, Jiménez Villa J. Métodos de investigación clínica y epidemiológica. 4ª ed. Vol. 1. España; 2013.
59. Williams JR. Manual de ética médica. 3ª ed. Vol 1. Francia: Asociación Médica Mundial; 2015. 95-110 p.
60. Alberto de la Gálvez Murillo, Ramiro Pardo, Mario E. Padilla. Teoría y Práctica de la Investigación en Salud. 1ª Ed. Bolivia: Medicon; 2010.

## ANEXO 1

Ficha de recolección de datos y códigos para tabulación

ITEMS	INSTRUCCIONES/CODIGOS
N°	Numero correlativo de registros
ID	Codigo asignado para cada paciente
EDAD	Anotar la edad en meses
SEXO	1.- Femenino
	2.- Masculino
VACUNAS	1ra Dosis
	2da Dosis
	Ninguno
ICT	1.- Positivo
	2.- Negativo
ELISA	1.- Positivo
	2.- Negativo

## ANEXO 2 BASE DE DATOS

N	CODIGO	EDAD meses	SEXO	1ra dosis	2da dosis	ninguna	ICT	ELISA	INDETER
1	LQ - 68	1	F			x	Positivo	Negativo	FP
2	LQ - 173	22	M	x	x		Positivo	Positivo	
3	LQ - 65	36	F	x	x		Positivo	Positivo	
4	LQ - 152	6	M	x	x		Negativo	Negativo	
5	LQ - 127	12	M	x	x		Negativo	Negativo	
6	LQ - 80	15	M	x	x		Positivo	Negativo	FP
7	LQ - 156	24	M			x	Negativo	Negativo	
8	LQ - 160	5	F	x	x		Negativo	Negativo	
9	LQ - 78	48	M	x	x		Positivo	Negativo	FP
10	LQ - 24	18	M			x	Positivo	Positivo	
11	LQ - 151	23	F	x	x		Positivo	Negativo	FP
12	LQ - 54	36	M	x	x		Positivo	Negativo	FP
13	LQ - 157	1	M			x	Positivo	Negativo	FP
14	RM 3	27	M	x	x		Negativo	Negativo	
15	LQ - 161	24	F	x	x		Negativo	Negativo	
16	RM 5	22	F	x	x		Negativo	Negativo	
17	LQ - 143	48	F	x	x		Positivo	Negativo	FP
18	LQ - 48	29	M	x	x		Positivo	Positivo	
19	LQ - 87	40	F			x	Negativo	Negativo	
20	LQ - 98	9	M	x	x		Negativo	Negativo	
21	LQ - 159	12	M			x	Negativo	Negativo	
22	LQ - 103	14	M	x	x		Positivo	Positivo	
23	LQ - 167	6	F	x	x		Positivo	Negativo	FP
24	LQ - 58	13	F	x	x		Positivo	Negativo	FP
25	LQ - 133	40	F	x	x		Negativo	Negativo	
26	LQ - 142	22	M	x	x		Negativo	Negativo	
27	LQ - 52	0	M			x	Negativo	Negativo	
28	RM - 2	14	F	x	x		Negativo	Negativo	
29	LQ - 150	20	F	x	x		Negativo	Negativo	
30	LQ - 116	7	F			x	Positivo	Negativo	FP

31	RM - 4	7	F	x	x		Positivo	Negativo	FP
32	LQ - 75	0	M			X	Positivo	Negativo	FP
33	LQ - 109	14	M	x	x		Positivo	Negativo	FP
34	LQ - 82	10	F	x	x		Positivo	Positivo	
35	LQ - 132	6	M	x	x		Positivo	Negativo	FP
36	LQ - 80	15	M	x	x		Positivo	Negativo	FP
37	LQ - 79	13	F			X	Negativo	Negativo	
38	LQ - 100	10	F	x	x		Positivo	Negativo	FP
39	LQ - 250	9	M	x	x		Negativo	Negativo	
40	1297	6	M			X	Negativo	Negativo	
41	LQ - 254	10	M	x	x		Positivo	Negativo	FP
42	1299	12	F			X	Negativo	Negativo	
43	LQ - 252	3	F	x			Positivo	Negativo	FP
44	LQ - 231	8	F	x	x		Positivo	Negativo	FP
45	1302	6	F			X	Negativo	Negativo	
46	LQ - 248	24	F	x	x		Positivo	Negativo	FP
47	1304	12	M			X	Negativo	Negativo	
48	LQ - 331	12	F	x	x		Negativo	Negativo	
49	1306	48	M			X	Negativo	Negativo	
50	1307	12	M			X	Negativo	Negativo	
51	LQ - 235	12	F	x	x		Positivo	Positivo	
52	1309	9	M			X	Negativo	Negativo	
53	1310	6	M			X	Positivo	Negativo	FP
54	LQ - 245	10	M			X	Negativo	Negativo	
55	1312	11	M			X	Negativo	Negativo	
56	LQ - 237	19	F	x	x		Negativo	Negativo	
57	1314	12	M			X	Negativo	Negativo	
58	1315	9	M			X	Positivo	Negativo	FP
59	LQ - 236	2	M	x			Negativo	Negativo	
60	LQ - 239	15	F			X	Negativo	Negativo	

61	LQ - 232	6	F	x	x		Negativo	Negativo	
62	1319	12	M			P	Positivo	Positivo	
63	LQ - 255	11	F	x	x		Negativo	Negativo	
64	1321	12	F			P	Positivo	Positivo	
65	1322	12	M			x	Negativo	Negativo	
66	LQ - 235	12	M	x	x		Negativo	Negativo	
67	1324	12	M			P	Positivo	Positivo	
68	LQ - 334	12	F	P	P		Positivo	Positivo	
69	1326	11	F			P	Positivo	Positivo	
70	1327	12	F			P	Positivo	Positivo	
71	LQ - 290	12	F	x	x		Negativo	Negativo	
72	1329	12	M			P	Negativo	Positivo	FN
73	LQ - 260	12	M	x	x		Positivo	Negativo	FP
74	LQ - 335	12	M	P	P		Positivo	Positivo	
75	LQ - 337	12	M	P	P		Positivo	Positivo	
76	1333	12	F			x	Negativo	Negativo	
77	1334	9	M			x	Negativo	Negativo	
78	1335	12	F			P	Positivo	Positivo	
79	1336	9	M			x	Positivo	Negativo	FP
80	1337	12	F			P	Negativo	Positivo	FN
81	1338	24	M			P	Positivo	Positivo	
82	1339	1	F			P	Positivo	Positivo	
83	LQ - 333	2	M			x	Negativo	Negativo	
84	LQ - 322	14	M	P	P		Positivo	Positivo	
85	LQ - 298	19	M			P	Positivo	Positivo	
86	LQ - 287	11	M	x	x		Negativo	Negativo	
87	LQ - 299	12	M	x	x		Negativo	Negativo	
88	LQ - 337	12	M	P	P		Negativo	Positivo	FN
89	LQ - 295	11	F			x	Negativo	Negativo	

90	LQ - 326	6	M	x	x		Positivo	Negativo	FP
91	LQ - 288	10	M			x	Negativo	Negativo	
92	LQ - 303	12	M			P	Positivo	Positivo	
93	LQ - 310	1	F			x	Positivo	Negativo	FP
94	LQ - 316	19	M			x	Negativo	Negativo	
95	LQ - 336	11	M	x	x		Positivo	Negativo	FP
96	LQ - 318	10	F	x	x		Positivo	Negativo	FP
97	LQ - 289	12	M	x	x		Negativo	Negativo	
98	LQ - 308	12	F	x	x		Positivo	Positivo	
99	LQ - 296	3	F			P	Positivo	Positivo	
100	LQ - 306	27	M			P	Positivo	Positivo	
101	LQ - 300	12	M	P	P		Positivo	Positivo	
102	LQ - 331	19	F	x	x		Negativo	Negativo	
103	LQ - 291	1	M			x	Negativo	Negativo	
104	LQ - 292	9	F	x	x		Positivo	Negativo	FP
105	LQ - 327	6	M	P	P		Positivo	Positivo	
106	LQ - 294	12	M			P	Positivo	Positivo	
107	LQ - 207	0	M			P	Positivo	Positivo	
108	LQ - 330	30	M	P	P		Positivo	Positivo	
109	LQ - 321	21	M	x	x		Positivo	Negativo	FP
110	LQ - 311	6	M	P	P		Positivo	Positivo	
111	LQ - 309	18	F	P	P		Positivo	Positivo	
112	LQ - 334	12	M	P	P		Positivo	Positivo	
113	LQ - 304	12	M			P	Positivo	Positivo	
114	LQ - 324	9	M	P	P		Positivo	Positivo	
115	LQ - 320	52	F	x	x		Negativo	Negativo	
116	LQ - 328	41	M			P	Positivo	Positivo	
117	LQ - 297	12	F	P	P		Positivo	Positivo	
118	LQ - 315	9	F	P	P		Positivo	Positivo	
119	LQ - 317	4	F	P	P		Positivo	Positivo	

120	LQ - 290	12	F	x	x		Negativo	Negativo	
121	LQ - 335	12	M			P	Positivo	Positivo	
122	LQ - 312	8	M	x	x		Positivo	Negativo	FP
123	LQ - 319	16	F	x	x		Negativo	Negativo	
124	LQ - 302	12	M	P	P		Positivo	Positivo	
125	LQ - 332	24	M			P	Positivo	Positivo	
126	LQ - 325	14	M	P	P		Positivo	Positivo	
127	LQ - 323	1	F			P	Positivo	Positivo	
128	LQ - 313	5	F	x	x		Positivo	Negativo	FP
129	LQ - 301	12	F			P	Positivo	Positivo	
130	LQ - 305	11	F			P	Positivo	Positivo	
131	LQ - 329	8	M			x	Negativo	Negativo	
132	LQ - 314	7	M	x	x		Negativo	Negativo	
133	LQ - 293	12	F	P	P		Positivo	Positivo	
134	LQ - 267	12	F	x	x		Positivo	Negativo	FP
135	LQ - 268	3	F	x			Positivo	Negativo	FP
136	LQ - 269	5	M	x	x		Positivo	Negativo	FP
137	LQ - 270	12	F			x	Negativo	Negativo	
138	LQ - 271	12	M	x	x		Negativo	Negativo	
139	LQ - 272	7	M	x	x		Negativo	Negativo	
140	LQ - 273	13	F	x	x		Negativo	Negativo	
141	LQ - 278	6	M	x	x		Positivo	Negativo	FP
142	LQ - 279	23	M	x	x		Negativo	Negativo	
143	LQ - 280	27	M	x	x		Negativo	Negativo	
144	LQ - 281	15	M	x	x		Negativo	Negativo	
145	LQ - 282	4	F	x	x		Positivo	Negativo	FP
146	LQ - 283	13	F	x	x		Negativo	Negativo	
147	LQ - 284	11	M	x	x		Negativo	Negativo	
148	LQ - 285	11	M	x	x		Positivo	Negativo	FP
149	LQ - 286	12	F	x	x		Negativo	Negativo	

150	LQ - 274	14	M	x	x		Negativo	Negativo	
151	LQ - 275	2	M			x	Negativo	Negativo	
152	LQ - 276	7	F			x	Positivo	Negativo	FP
153	LQ - 277	1	F			x	Negativo	Negativo	
154	LQ - 203	7	M	x			Negativo	Negativo	
155	LQ - 206	12	F	x	x		Negativo	Negativo	
156	LQ - 213	24	M	x	x		Positivo	Negativo	FP
157	LQ - 216	6	F	x	x		Negativo	Negativo	
158	LQ - 217	8	F	x	x		Positivo	Negativo	FP
159	LQ - 218	9	M	x	x		Positivo	Negativo	FP
160	LQ - 219	24	M	x	x		Negativo	Negativo	
161	LQ - 220	4	M	x			Positivo	Negativo	FP
162	LQ - 222	9	F	x	x		Negativo	Negativo	
163	LQ - 223	5	M	x	x		Negativo	Negativo	
164	LQ - 224	8	M	x	x		Negativo	Negativo	
165	LQ - 225	24	F	x	x		Negativo	Negativo	
166	LQ - 228	9	F	x	x		Negativo	Negativo	
167	LQ - 229	48	M	x	x		Negativo	Negativo	
168	LQ - 231	8	F	x	x		Positivo	Negativo	FP
169	LQ - 232	6	F	x	x		Negativo	Negativo	
170	LQ - 233	7	M			x	Negativo	Negativo	
171	LQ - 234	24	M	x	x		Negativo	Negativo	
172	LQ - 235	12	F	x	x		Negativo	Negativo	
173	LQ - 236	2	M	x			Negativo	Negativo	
174	LQ - 237	19	F	x	x		Negativo	Negativo	
175	LQ - 238	13	M	x	x		Negativo	Negativo	
176	LQ - 239	15	F	x	x		Negativo	Negativo	
177	LQ - 240	9	M			x	Positivo	Negativo	FP
178	LQ - 241	11	M	x	x		Negativo	Negativo	
179	LQ - 242	12	M	x	x		Negativo	Negativo	

180	LQ - 243	10	M	x	x		Negativo	Negativo	
181	LQ - 244	12	M	x	x		Negativo	Negativo	
182	LQ - 245	22	M			x	Negativo	Negativo	
183	LQ - 246	12	F	x	x		Positivo	Negativo	FP
184	LQ - 247	13	M	x	x		Negativo	Negativo	
185	LQ - 248	24	F	x	x		Positivo	Negativo	FP
186	LQ - 249	24	F	x	x		Positivo	Negativo	FP
187	LQ - 250	9	M	x	x		Negativo	Negativo	
188	LQ - 251	2	F	x			Negativo	Negativo	
189	LQ - 252	3	M	x			Negativo	Negativo	
190	LQ - 253	12	F	x	x		Positivo	Negativo	FP
191	LQ - 254	10	M	x	x		Positivo	Negativo	FP
192	LQ - 255	23	F	x	x		Negativo	Negativo	
193	LQ - 256	4	M	x			Negativo	Negativo	
194	LQ - 257	1	M			x	Negativo	Negativo	
195	LQ - 259	24	F	x	x		Positivo	Negativo	FP
196	LQ - 258	18	M	x	x		Positivo	Negativo	FP
197	LQ - 260	12	M	x	x		Positivo	Negativo	FP
198	LQ -261	15	M	x	x		Negativo	Negativo	
199	LQ - 262	21	F	x	x		Negativo	Negativo	
200	LQ - 263	21	M	x			Negativo	Negativo	
201	LQ - 265	18	F	x	x		Negativo	Negativo	
202	LQ - 82	10	F	P	P		Positivo	Positivo	
203	LQ - 105	1	F			x	Positivo	Negativo	FP
204	LQ - 127	12	M	x	x		Negativo	Negativo	
205	LQ -144	5	F	x	x		Positivo	Negativo	
206	LQ - 142	22	M	x	x		Negativo	Negativo	
207	LQ - 48	29	M	P	P		Negativo	Positivo	FN
208	LQ - 78	48	M	P	P		Positivo	Positivo	
209	LQ - 50	7	F	x	x		Positivo	Negativo	FP

210	LQ - 174	8	M	x	x		Positivo	Negativo	FP
211	LQ - 172	11	F	x	x		Positivo	Negativo	FP
212	LQ - 156	24	M			x	Negativo	Negativo	
213	LQ - 132	6	M	x	x		Negativo	Negativo	
214	LQ - 157	1	M			x	Positivo	Negativo	FP
215	LQ - 195	16	M			x	Negativo	Negativo	
216	LQ - 160	41	F	x	x		Negativo	Negativo	
217	LQ - 183	19	M	x	x		Negativo	Negativo	
218	LQ - 196	20	M	x	x		Negativo	Negativo	
219	1065	1	M			x	Positivo	Positivo	
220	1067	0	M			x	Positivo	Positivo	
221	1068	35	F	x	x		Positivo	Positivo	
222	1070	48	M	x	x		Positivo	Positivo	
223	LQ - 193	7	F	x	x		Negativo	Negativo	
224	LQ - 185	17	F	x	x		Negativo	Negativo	
225	LQ - 184	9	M	x	x		Negativo	Negativo	
226	LQ - 182	12	M	x	x		Negativo	Negativo	
227	LQ - 194	8	M	x	x		Negativo	Negativo	
228	LQ - 159	12	M			x	Negativo	Negativo	
229	LQ - 76	0	M			x	Positivo	Positivo	
230	LQ - 83	10	F	x	x		Positivo	Negativo	FP
231	LQ - 37	10	F	x	x		Negativo	Negativo	
232	LQ - 44	2	F	x			Negativo	Negativo	
233	LQ - 48	29	M	x	x		Negativo	Negativo	
234	1071	0	M			x	Positivo	Positivo	
235	1068	35	F	x	x		Negativo	Negativo	
236	1397						Negativo	Negativo	
237	1399						Positivo	Negativo	FP
238	1404						Positivo	Negativo	FP
239	1392						Positivo	Negativo	FP

240	1394						Positivo	Negativo	FP
241	1264	12	M	x	x		Positivo	Negativo	FP
242	1265	3	F	x			Positivo	Negativo	FP
243	1266	5		x	x		Positivo	Negativo	FP
244	1267	12	F			P	Negativo	Negativo	
245	1268	12	M	x	x		Negativo	Negativo	
246	1269	7	M	x	x		Negativo	Negativo	
247	1270	13	F	x	x		Negativo	Negativo	
248	1271	6	M	x	x		Positivo	Negativo	FP
249	1272	11	M	x	x		Negativo	Negativo	
250	1063	48	M	x	x		Positivo	Positivo	
251	1062	36	F	x	x		Positivo	Positivo	
252	1061	48	M	x	x		Positivo	Positivo	
253	1060	24	F	x	x		Positivo	Positivo	
254	1059	49	M	x	x		Positivo	Positivo	
255	1058	0	F			x	Positivo	Positivo	
256	1074	0	F			x	Negativo	Negativo	
257	1075	48	M	x	x		Positivo	Positivo	
258	1076	13	F	x	x		Positivo	Negativo	FP
259	1077	15	M	x	x		Positivo	Negativo	FP
260	1078	12	M	x	x		Positivo	Positivo	
261	1018	5	M	x	x		Negativo	Negativo	
262	1008	23	M	x	x		Negativo	Negativo	
263	1009	37	F	x	x		Negativo	Negativo	
264	1010	39	F	x	x		Negativo	Negativo	
265	1011	44	M	x	x		Negativo	Negativo	
266	1012	54	F	x	x		Negativo	Negativo	
267	1013	20	F	x	x		Negativo	Negativo	
268	1014	12	M	x	x		Negativo	Negativo	
269	1015	48	M	x	x		Negativo	Negativo	

270	1016	52	F	x	x		Negativo	Negativo	
271	1017	18	M	x	x		Negativo	Negativo	
272	1019	36	M	x	x		Negativo	Negativo	

# ANEXO 3

## REGISTRO GRAFICO DE LABORATORIO

