



Infección por rotavirus en infantes atendidos en centros asistenciales del estado Zulia

Reyna María Moronta Piñango ¹ .

Sandy García ² .

Ricardo Atencio ³ .

Jesús Quintero ⁴ .

Daniel Marín ⁵ .

Suet Ying Chan Kwok ⁶ .

Leticia Porto de Espinoza ⁷ .

¹Dra. en Ciencias de la Educación, M.Sc. en Microbiología, Licenciada en Biología. Profesora de la Cátedra de Biología Molecular, Celular y Genética, Departamento de Biología-FHE-LUZ, Profesora adscrita a la Maestría en Enseñanza de la Biología-FHE-LUZ. In rmmorontap@gmail.com

²M.Sc. en Microbiología, Licenciada en Educación, Mención Biología. Laboratorio de Hematología, Instituto de Investigaciones Clínicas Dr. Américo Negrette, Facultad de Medicina-LUZ. sandycgarcia89@gmail.com

³M.Sc. en Microbiología, M.Sc. en Inmunología, Licenciado en Bioanálisis. Coordinador-Investigador del Laboratorio Regional de Referencia Viroológica, Instituto de Investigaciones Clínicas Dr. Américo Negrette, Facultad de Medicina-LUZ.

⁴Dr. en Ciencias Médicas, Especialista en Hematología, Profesor de la Cátedra de Hematología de la Escuela de Bioanálisis y de la Maestría de Investigación en Biomedicina y de la Maestría de Salud Ocupacional. Director-Investigador del Laboratorio de Hemat

⁵Licenciado en Biología. Investigador del Laboratorio Regional de Referencia Viroológica, Instituto de Investigaciones Clínicas Dr. Américo Negrette, Facultad de Medicina-LUZ.

⁶Médico Pediatra, M.Sc. en Microbiología, Profesora de la Cátedra de Microbiología, Facultad de Medicina-LUZ.

⁷M.Sc. en Microbiología, Licenciada en Biología. Laboratorio Regional de Referencia Viroológica, Instituto de Investigaciones Clínicas Dr. Américo Negrette, Facultad de Medicina-LUZ.

Correspondencia: Instituto de Medicina Tropical - Facultad de Medicina - Universidad Central de Venezuela.

Consignado el 31 de Mayo del 2016 a la Revista Vitae Academia Biomédica Digital.

RESUMEN

El Rotavirus (RV), es uno de los principales agentes infecciosos de diarrea aguda en niños menores a 5 años. El objetivo del presente trabajo consistió en detectar la presencia de Rotavirus en infantes atendidos en centros asistenciales del estado Zulia. Se recolectaron 150 muestras de heces diarreicas de niños menores a 5 años atendidos en el Servicio Autónomo del Hospital Universitario de la ciudad de Maracaibo (SAHUM) y Seguro Social del municipio Jesús Enrique Lossada (JEL). Se observaron 64 casos positivos para RV mediante el método inmunológico de Aglutinación directa en partículas de látex. Posteriormente, se confirmó su presencia por RT-PCR, y se obtuvieron 22 casos positivos, con mayor incidencia en el género masculino (36,8%), seguido por el femenino (30,7%). El grupo etario de 0-11 meses de edad resultó ser el más afectado, siendo la manifestación clínica dominante la diarrea tipo aguda. No se observaron diferencias significativas entre las muestras de los dos centros asistenciales.

PALABRAS CLAVE: Rotavirus, Infantes, Centros Asistenciales, Aglutinación, Identificación molecular, RT-PCR.

ROTAVIRUS INFECTION IN INFANTS SEEN IN WELFARE CENTERS OF ZULIA STATE

SUMMARY

Rotavirus (RV) is one of the main infectious agents producing acute diarrhea in children under 5 years. The aim is to detect the presence of rotavirus in infants treated at health centers Zulia state. 150 samples diarrheal stools of children under 5 years were taken from Servicio autónomo del Hospital Universitario de la ciudad de Maracaibo (SAHUM) and Instituto Venezolano del Seguro Social of Jesús Enrique Lossada municipality (JEL). 64 positive cases to Rotavirus (RV) were observed by direct immunological method of latex particles agglutination. Subsequently; the presence of Rotavirus by RT-PCR was confirmed; and 22 positive cases were identified; showing greater detect of virus to the male gender (36.8%) and feminine (30.7%). The age group of 0-11 months old was the most affected; being the dominant clinical manifestation of acute diarrhea type. There were no significant differences between the samples of the two health centers.

KEY WORDS: Rotavirus, Infants, Health Centers, Agglutination, Molecular identification, RT-PCR

INFECCIÓN POR ROTAVIRUS EN INFANTES ATENDIDOS EN CENTROS ASISTENCIALES DEL ESTADO ZULIA

INTRODUCCIÓN

La diarrea es una de las enfermedades más comunes en los niños a nivel mundial, principalmente en países vías de desarrollo y es responsable de tres a cinco millones de muertes al año⁽¹⁾, siendo los más vulnerables los infantes en sus primeros años de vida⁽²⁾. Sin embargo, a pesar que es una patología de gran importancia sanitaria, ésta puede ser vigilada, ya que su manejo es relativamente fácil, solo se requiere para su control la provisión de agua potable y condiciones higiénicas adecuadas, tanto a nivel alimentario como en el manejo de las excretas, debido a que su propagación se realiza por vía fecal-oral.

Dentro de los principales microorganismos infecciosos causantes de diarreas en la población infantil, especialmente en niños menores a 5 años, se encuentra el Rotavirus, el cual es el responsable a nivel mundial de más del 6% de las muertes en este grupo etario^(3,4,5). Se calcula que cada año aproximadamente existen 15.000 muertes, 75.000 hospitalizaciones y 10 millones de casos de diarreas asociados a Rotavirus en Latinoamérica y el Caribe ⁽⁶⁾.

Según el boletín publicado por la OPS (2007), y de acuerdo a los casos registrados desde 1998 hasta el año 2006, en Venezuela las diarreas son la novena causa de muerte en la población general y la segunda causa de mortalidad en menores de 5 años. Por otra parte, el Departamento de Epidemiología Regional del Instituto de Salud Pública en el estado Zulia, registró para el año 1999 un total de 14.541 positivos de diarrea en niños menores de 5 años, tal cifra ha aumentado progresivamente, registrándose un total de 15.205 casos para el año 2000; 19.039 para el 2002 y 21.280 casos para el 2004, observándose un leve descenso para el año 2006 con un total de 18.708 detectados en niños menores de 5 años y para el 2013 con 4.972 casos ⁽⁷⁾. Sin embargo, el último boletín epidemiológico indica que en el estado Zulia para el año 2014 estas cifras aumentaron, llegando a superar los 10.000 casos⁽⁸⁾.

El estado Zulia representa uno de los estados con mayor número de reportes de diarrea infantil. En el 2006, se registraron un total de 231 muertes a lo largo del año y semanalmente entre 1900 y 8600 casos en el 2008; no obstante, el conocimiento de los agentes virales causantes de diarreas es escaso en este estado, estos factores son sumamente importantes para el establecimiento de políticas públicas en salud ⁽⁹⁾.

Cabe destacar que a pesar de observarse grandes avances en el conocimiento de la patogénesis y el tratamiento de la diarrea aguda causadas por Rotavirus, ésta enfermedad todavía continúa siendo un problema grave de salud pública. No obstante, diversos investigadores están intensificando sus esfuerzos para obtener un panorama actualizado de dicha prevalencia y establecer mapas epidemiológicos sobre la distribución mundial de esta enfermedad ^(10,11).

Existen numerosas técnicas para la detección de los agentes virales tales como: las de Biología Molecular, las inmunológicas y el cultivo celular. Otros sistemas utilizados para detectar

infección por rotavirus se basan en ensayos de aglutinación al látex, contrainmunolectroforesis, o electroforesis en gel para revelar el genoma viral y técnicas de mayor sensibilidad como la RT-PCR (retrotranscripción y reacción polimerasa en cadena) ⁽¹²⁾.

Los ensayos de aglutinación en látex se usan comúnmente en los laboratorios de diagnósticos virológicos para la demostración de antígenos de rotavirus en materias fecales, debido a que es fácil de realizar, requiere pocos minutos y no necesita de equipos especializados para su lectura. En esta técnica las partículas de látex son esferas de poliestireno que se unen fácilmente al fragmento cristizable (Fc) de moléculas de inmunoglobulina G (IgG) o inmunoglobulina M (IgM), esta última es mucho más eficiente en aglutinar partículas naturales ⁽¹³⁾.

Por otra parte, de las técnicas de biología molecular más utilizada y que puede permitir la detección segura del Rotavirus es la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR), la cual es un método *in vitro* que simula lo que ocasiona la replicación viral *in vivo*, sintetizando y/o amplificando enzimáticamente las secuencias blancas específicas de ácido nucleico (diana) que pueden estar presentes en bajos números de copias en muestra de heces. La detección de secuencias de ARN del Rotavirus requiere que previamente a la amplificación, el ARN se convierta en ADN, transcripción inversa ⁽¹⁴⁾.

Por lo tanto, resulta imperativa la implementación de técnicas como RT-PCR para la detección de Rotavirus en pacientes con afecciones diarreicas, y así realizar un diagnóstico rápido y certero. De esta manera se puede determinar realmente la incidencia de diarreas por rotavirus, con el fin de mejorar las campañas de prevención y asistencia.

El objetivo de esta investigación consistió en detectar la presencia de Rotavirus en infantes atendidos en dos centros asistenciales del estado Zulia, con el propósito de obtener información sobre la incidencia de la infección por rotavirus en este estado.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó un muestreo no probabilístico, las muestras fueron recolectadas en el periodo comprendido desde enero 2014 a enero 2015, un total de 150 muestras de heces provenientes de infantes menores a 5 años, que acudieron a dos centros médicos: Servicio autónomo del Hospital Universitario de la ciudad de Maracaibo (SAHUM) y Seguro Social del municipio Jesús Enrique Lossada (IVSS).

Los criterios de inclusión fueron: niños menores de 5 años, de ambos sexos con síndrome diarreico, vacunados o no y que no hubiesen recibido tratamiento terapéutico. Se seleccionaron 30 muestras de heces de niños que no presentaron síndrome diarreico y se tomaron como grupo control.

Se elaboraron encuestas para obtener la mayor información del paciente, tales como: edad, sexo, procedencia, manifestaciones clínicas y características de las evacuaciones. Se tomaron en cuenta las pautas establecidas por la Asociación Médica Mundial (AMM) contenidas en la declaración de Helsinki⁽¹⁵⁾, así como la previa autorización por escrito de los padres y

representantes. Tanto el consentimiento previo como la encuesta realizada fueron aprobados por el comité de Bioética del SAHUM y de la facultad de Medicina.

Las muestras de heces se recolectaron en envases plásticos de 3 onzas y se transportaron en refrigeración (entre 2 y 8 °C), luego se almacenaron a temperatura de -20 °C y posteriormente se analizaron en el Laboratorio Regional de Referencia Viroológicas de la Facultad de Medicina de la Universidad del Zulia; donde se evaluaron macroscópicamente en cuanto a consistencia, presencia o ausencia de moco y sangre.

Para la detección del antígeno de Rotavirus grupo A en muestras fecales por el método inmunológico de Aglutinación directa en partículas de látex, se utilizó un reactivo comercial (Rotaviruses Latex) de Plasmatec Olga ®, el cual está compuesto por partículas de látex sensibilizadas con anticuerpo que permiten la detección del antígeno por aglutinación. El estuche posee todos los reactivos necesarios para realizar la prueba como son el control positivo (listo para su uso) y la solución tampón; Así como los implementos necesarios (Láminas de Aglutinación, pipetas y mezcladores) (16).

Se consideró como un resultado positivo, la aglutinación macroscópica de las partículas de látex del reactivo. Teniendo gran significado una aglutinación fuerte; mientras que, el resultado negativo se evidenció, al observarse una apariencia lechosa sin ninguna agregación visible de las partículas de látex (16). Cabe destacar que esta técnica tiene una sensibilidad del 93,7% y altos valores de especificidad; por tanto, fue utilizada para seleccionar las muestras para su posterior confirmación por técnicas de biología molecular.

El ARN viral en cada muestra se extrajo realizando una suspensión de las muestras fecales al 10% (clarificado fecal); para ello, se agitó vigorosamente en agua libre de nucleasas aproximadamente 0,1 gr de heces sólidas ó 100 ul de heces líquidas, luego fueron centrifugadas a 10.000 rpm por 10 minutos a 4°C, finalmente se guardó la muestra a -20°C hasta su próximo procesamiento (14).

Extracción de ARN genómico: Para esta etapa se empleó el sistema comercial de extracción de ARN viral (Qiagen, QIAamp Viral RNA Mini Kit), siguiendo las indicaciones del fabricante.

Detección del genoma viral: Se realizó mediante una retrotranscripción (RT), seguida de una PCR, específica para una región conservada del genoma, específicamente VP4. Para la RT se emplearon hexámeros aleatorios, los cuales se utilizaron para obtener teóricamente ADN complementario (ADNc) de todos los ARNs que haya en la mezcla. Implementando posteriormente PCR para amplificar parte del gen de la proteína de la cápside externa de Rotavirus: VP4, mediante el empleo de primers específicos (Tabla 1) y siguiendo los protocolos descritos por Abbasgadezan (17). Para detectar un fragmento de 211 pb, utilizando como control Positivo una muestra previamente procesa en el instituto de investigaciones científicas de Venezuela (IVIC- Caracas) y como control Negativo agua libre de nucleasas.

Tabla 1. Oligonucleótidos iniciadores utilizados en la Técnica RT-PCR para la detección de Rotavirus (17).

Nombre	Posición	Región	Secuencia (5'-3')	Tamaño del producto
CON-1	nt-11-32	VP4	TTGCCACCAATTCAGAATAC	211 Pb
CON- 2	nt 868-887		ATTTCGGACCATTATAACC	
			V	

Electroforesis en gel de agarosa: Los productos obtenidos en la PCR se analizaron en geles de agarosa al 1,5% en buffer Tris-Borato EDTA (TBE) teñido con 2µg/µL de bromuro de etidio. La electroforesis se realizó a 500mA de corriente y a un voltaje de 120 V por 40 minutos. Una vez culminada la electroforesis se observó el gel en un transiluminador UV Pro. Como marcador de peso molecular se empleó el marcador de 100 a 1000pb Kb DNA plus de Promega ® (17).

Se consideraron como muestras positivas aquellas que revelaron la presencia de una banda de 211pb correspondiente a la región VP4, la muestra se considera negativa si aparece solamente una banda de 100pb. La reacción se consideró inhibida cuando no apareció ninguna banda.

Los resultados se expresaron en media $\bar{X} \pm$ desviación estándar, valores absolutos y porcentajes. La normalidad de los datos fue explorada por la prueba de Kolmogorov-Smirnov. Las variables cuantitativas fueron comparadas utilizando la técnica estadística U de Mann-Whitney. Las variables cualitativas se analizaron a través de la prueba de chi cuadrado de Pearson. Se tomó como índice de confianza el 95% y se consideró como significativo un valor de probabilidad menor a 0,05 ($p < 0,05$). Para ello, se empleó el programa estadístico SPSS ® para Windows, versión 21.0.

RESULTADOS

La población estudiada fue de 150 pacientes que presentaron signos y síntomas propios de infecciones diarreicas (59,3% masculinos y 40,7% del sexo femenino). A estas muestras se les practicó el método inmunológico de aglutinación en partículas de látex, donde se observaron 64 casos positivos al antígeno de Rotavirus para ambos centros asistenciales, con un 45% (36/80) para la población proveniente del centro asistencial Hospital Universitario de Maracaibo (SAHUM), y un 40% (28/70) del centro asistencial Jesús Enrique Lossada (JEL), obteniéndose como resultado total un rango entre 40 y 45%. Por consiguiente, se muestra que el índice de reacción que indica la positividad del antígeno de Rotavirus en las muestras de heces estudiadas, resultó ser ligeramente mayor para SAHUM, que para el centro asistencial de Jesús Enrique Lossada (Figura 1).

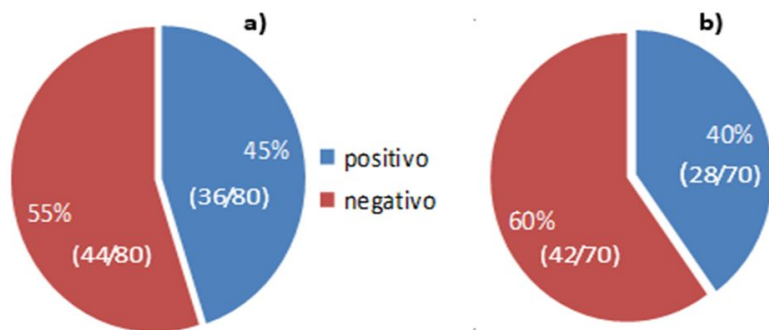


Figura 1. Detección del antígeno de Rotavirus por el método inmunológico de aglutinación en partículas de látex. a) Servicio autónomo del Hospital Universitario de la ciudad de Maracaibo (SAHUM). b) Jesús Enrique Losada (JEL).

En relación a las manifestaciones clínicas se observó predominio de las alteraciones a nivel estomacal o alteración de las heces, caracterizada por un aumento del volumen, fluidez y frecuencia de las deposiciones. Se presentaron tres tipos de enfermedades diarreicas, siendo más incidente la diarrea tipo aguda con 78,67% (118/150), seguida de la diarrea tipo persistente con 14% (21/150); mientras que, la diarrea crónica solo se mostró en un 7,33% (11/150). Así mismo, se presentó variación de los tipos de diarreas de acuerdo a los centros asistenciales (Figura 2), exhibiéndose una mayor variabilidad en el Servicio Autónomo del Hospital Universitario de Maracaibo (SAHUM).

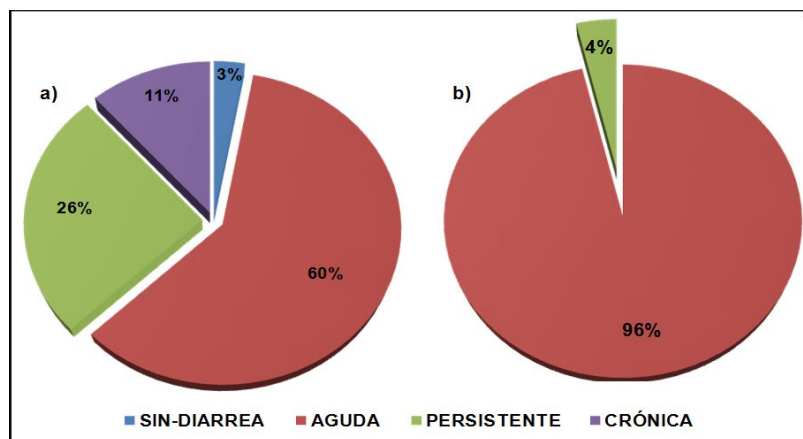


Figura 2. Manifestaciones clínicas predominantes en menores de 5 años. Tipos de enfermedades diarreicas. a) Servicio autónomo del Hospital Universitario de la ciudad de Maracaibo (SAHUM). b) Jesús Enrique Losada (JEL).

Luego de haber obtenido los 64 casos positivos para Rotavirus por la técnica de aglutinación, se procedió a confirmar por RT-PCR, donde se evidenciaron 22 muestras positivas para dicho agente viral, con una media y desviación estándar de $16,49 \pm 16,73$, lo cual representa el 34,3% de la población estudiada; es decir, la frecuencia de Rotavirus fue de 34,3% (22/64).

Para visualizar el ARN viral amplificado se realizó una electroforesis (Figura 3), en la cual se evidencia una banda de 211 pb, que representa la región VP4 del genoma de Rotavirus. Esta región es altamente conservada en la cual se determinan los serotipos P (14 serotipos).

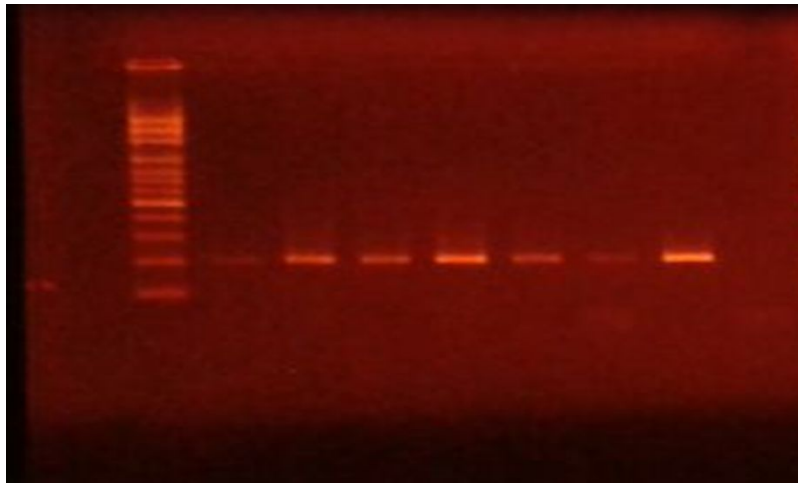


Figura 3. Electroforesis en gel de agarosa mostrando productos amplificados de 211pb de rotavirus. Marcador de peso molecular (100-1000 pb) de promega. PM: Marcador de peso molecular. Carriles 1-6. Muestras de paciente (+): 38 " 39 " 43 " 44 " 47 " 48 (JEL). Carril 7. Control (+) para Rotavirus. Carril 8. Control (-) para Rotavirus. Se observan amplicones del tamaño esperado de 211pb.

Por otra parte, en la (Figura 4) se muestra la distribución de los casos según sexo obtenidos por PCR, donde el porcentaje de positividad fue de 36,8% para el masculino; mientras que, para el femenino fue de 30,7 %, lo que indica una mayor prevalencia en los varones.

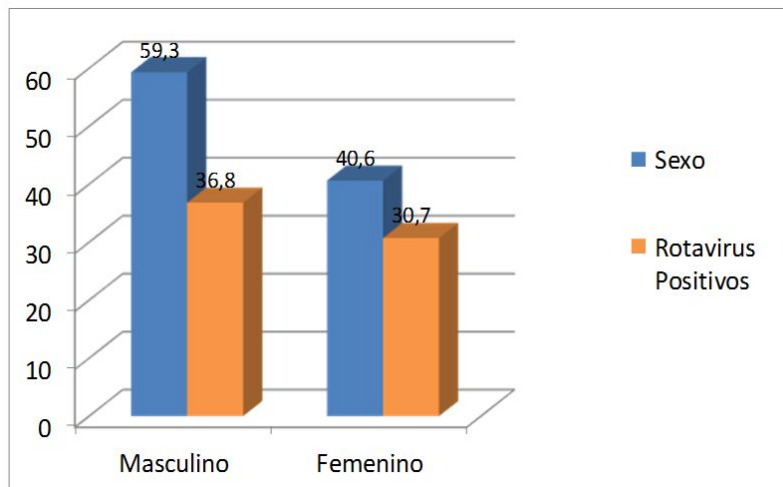


Figura 4. Detección de Rotavirus de acuerdo al sexo de la población estudiada

En este mismo orden de ideas, al evaluar la frecuencia de Rotavirus por edad de los pacientes, se concentró la población de estudio en 6 grupos etarios y se observó que la mayor frecuencia fue en niños menores de un año (0-11 meses), con un total de 53,12% (34 casos); mientras que, en el grupo de 60 meses sólo hubo 1 caso. El mayor número de casos positivos del total de los 22 casos positivos para Rotavirus mediante RT-PCR, se encontró en los niños de 0 a 11 meses, seguido por los de 12 a 23 meses, con una menor proporción en los grupos etarios correspondientes entre 24 a 35, 36 a 47, 48 a 59 y a 60 meses de edad, con una frecuencia de 68,2% (15 casos) > 20,32% (13 casos) > 4,55% (1 caso) = 4,55% (1 caso) = 4,55% (1 caso) = 4,55% (1 caso), respectivamente (Tabla 2).

Tabla 2. Detección de Rotavirus por RT-PCR, de acuerdo a la edad en la población estudiada.

Edades - meses	Frecuencia Total % (n)	Frecuencia de Rotavirus % (n)	Lactancia Materna Exclusiva % (n)
0-11	53,12 (34)	68,2 (15)	78,6 (11)
12-23	20,32 (13)	13,6 (3)	21,4 (3)
24-35	4,7 (3)	4,55 (1)	0 (0)
36-47	10,93 (7)	4,55 (1)	0 (0)
48-59	7,81 (5)	4,55 (1)	0 (0)
60	3,12 (2)	4,55 (1)	0 (0)
Total	100 (64)	100 (22)	100 (14)

P: NS (Chi cuadrado). () Representa el número de casos.

Durante la detección de Rotavirus por PCR entre los pacientes con diarrea atendidos en los dos centros asistenciales, se observó para el centro asistencial Jesús Enrique Lossada una tasa de incidencia de casos positivos del 38,9% (14/36), mientras que para el Servicio Autónomo del Hospital Universitario de Maracaibo se presentó una tasa de incidencia del 28,6% (8/28) (Figura 5). A partir de los casos positivos para Rotavirus se obtuvo una diferencia con un valor estadístico de $p=0,294$ entre ambos centros médicos, siendo este valor estadísticamente no significativo, indicando variabilidad en cuanto a la presencia del Rotavirus.

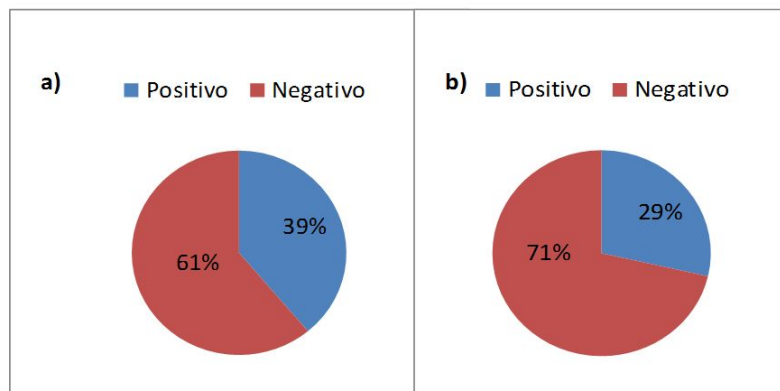


Figura 5. Distribución porcentual de muestras Positivas por PCR para Rotavirus en la población estudiada. a) Centro asistencial Jesús Enrique Losada (JEL). b) Servicio autónomo Hospital Universitario de Maracaibo (SAHUM).

DISCUSIÓN

En las muestras de heces que fueron analizadas mediante la técnica de aglutinación (Figura 1), se observaron para ambos centros asistenciales casos positivos al antígeno de Rotavirus. Estos resultados son muy similares con lo reportado por Atencio y colaboradores, 2013 ⁽¹⁸⁾ en el Estado Zulia, donde la población estudiada mostró un 42,5% de casos positivos para Rotavirus mediante esta prueba rápida de aglutinación en partículas de látex. Esta técnica evidencia sensibilidad y rapidez para dar un diagnóstico presuntivo al paciente; de esta forma, se puede precisar el ingreso hospitalario para limitar la diseminación del rotavirus, como también evitar casos de brotes en guarderías o instituciones infantiles cerradas.

Es preciso mencionar que, aunque el método de aglutinación con látex es un procedimiento de elección útil en nuestros centros de salud, debido a que es sensible, específico, confiable, de fácil manipulación y rapidez; es necesario para efectos epidemiológicos y confirmatorios realizar la detección del ácido nucleico viral a través de la técnica RT-PCR

Las manifestaciones clínicas identificadas en esta investigación (Figura 2) concuerdan con otros estudios reportados ⁽¹⁹⁾, siendo las evacuaciones líquidas el síntoma que domina en este tipo de enfermedad. Sin embargo, otros autores ⁽²⁰⁾ han observado la presencia de fiebre en un 50% y neumonía en un 10%, además de la diarrea. Por su parte, Prado en el 2010 ⁽²¹⁾, reporta deshidratación en un 25,0% y vómitos en un 5,0%.

Las evacuaciones líquidas suelen ser la principal sintomatología producida por la infección con Rotavirus, debido a que este puede adherirse a la mucosa epitelial del tracto gastrointestinal, provocando lesiones y causando la destrucción selectiva de los extremos de las vellosidades intestinales ⁽²²⁾. Por esta razón, como lo indica Periago ⁽²³⁾, el mecanismo principal de la diarrea ocasionada por rotavirus, es la disminución a la absorción de cloruro de sodio (NaCl), glucosa y agua, así como la sustitución de las células epiteliales de absorción por las células de las criptas vellosidades.

Al procesar las muestras de heces por la técnica molecular RT-PCR sólo se evidenciaron 22 positivas, con una frecuencia de Rotavirus de 34,3% (22/64). Es importante resaltar, que la frecuencia suele variar de acuerdo a la población estudiada, existen en la actualidad reportes como el de Delgado en el 2012 ⁽²⁴⁾, donde observó una tasa de prevalencia del 18 % para 334 niños, mientras que otra investigación realizada por Burgos y colaboradores., en el 2013 ⁽²⁵⁾, indicaron un 4% de positividad para Rotavirus en una población de 100 niños.

La prueba de RT-PCR es una técnica molecular eficiente, sensible, sencilla y su uso es frecuente para el análisis de muestras de diferente naturaleza ⁽²⁶⁾. Según Buesa y colaboradores, 1996 ⁽²⁷⁾, señalan que esta técnica ha abierto la posibilidad de estudiar la evolución y la variabilidad de los Rotavirus en diferentes regiones geográficas y a lo largo del tiempo, aunque la técnica de aglutinación con látex ayuda a descartar aquellas muestras negativas a Rotavirus y que pueden ocasionar en el laboratorio de investigación mayores gastos de reactivos y otros productos de alto valor económico necesarios para llevar a cabo la RT-PCR.

En la distribución de los casos según sexo (Figura 4) obtenido por la técnica RT-PCR, indica una mayor prevalencia en los pacientes del sexo masculino. Estos resultados se pueden comparar con los reportados por Maldonado y col., en el 2010 ⁽²⁷⁾ en Cumaná-Venezuela, donde encontraron que de 241 muestras fecales colectadas, 47 resultaron positivas a Rotavirus por la Técnica de ELISA, siendo los varones los más afectados (55,3%). Así mismo, Reyes y col., en el 2009 ⁽²⁸⁾ en Oaxaca-México, encontraron en una población de estudio de 10 niños que el 70% de los infantes del sexo masculino resultaron positivos para Rotavirus.

Según Thompson y col. ⁽²⁹⁾, lo anteriormente reportado en esta investigación se puede deber a que la mayor susceptibilidad de los niños a la infección por Rotavirus, está probablemente ligada al cromosoma X, ya que en él se encuentran los genes responsables del control del nivel de la IgM.

La determinación de la presencia de Rotavirus según edad de los pacientes (Tabla 2), mostró que la mayor frecuencia encontrada fue en niños menores de un año (0-11 meses) con un total de 53,12% (34 casos). Estos resultados concuerdan con los de Díez-Domingo y colaboradores ⁽²⁶⁾ y Cermeño y colaboradores., en 2008 ⁽²²⁾, quienes reportaron en una población de asistencia primaria, elevada frecuencia de enfermedades diarreicas aguda por Rotavirus en niños menor 1 año.

Así mismo, el presente trabajo coincide con lo descrito por Gutiérrez-Gimeno y colaboradores, en el 2010 ⁽¹⁹⁾; los cuales identificaron Rotavirus en el 59% de los casos, encontrándose el virus en su mayoría en niños con edades de 1-11 meses, finalmente indicaron que la incidencia de diarrea en pacientes pediátricos menores a 1 año es consistentemente mayor que los otros grupos etarios. Otro reporte del mismo año ⁽³⁰⁾, también reveló que el grupo de edad más afectado por gastroenteritis agudas causadas por Rotavirus, estuvo comprendida entre 0-1 años de edad. Igualmente, Pereira y colaboradores., en el 2013 ⁽³¹⁾, encontraron un total de 62,5% de niños menores a 12 meses, infectados con Rotavirus.

Algunos autores ^(21, 23, 32, 33), mencionan que la causa de la máxima incidencia de gastroenteritis por rotavirus en dicha edad (0-11 meses), se correlaciona con la declinación de las inmunoglobulinas transferidas por la madre durante el embarazo. Se describe que es poco frecuente en recién nacidos, posiblemente por la inmunidad transmitida a través de la lactancia materna. Además, las defensas que la madre transmite al feto a través de la placenta continúan presentes hasta los 6 meses de vida del pequeño, por eso es poco probable que la infección por Rotavirus se produzca antes de esta etapa de la vida, porque hasta ese momento está protegido por los elementos inmunológicos transmitidos por la madre. No obstante, en Venezuela en los últimos años la lactancia materna exclusiva ha disminuido considerablemente y con ello la protección inmunitaria del infante.

Varios estudios ^(20, 21, 34), han demostrado que la lactancia materna exclusiva hasta los 6 meses de edad, protege contra las enfermedades diarreicas en los niños tanto en los países desarrollados como en los países en vías de desarrollo. Aunque los resultados de los estudios observacionales son variables, parece que la lactancia puede ofrecer algún grado de protección contra la Gastroenteritis Aguda ocasionadas por Rotavirus durante los primeros

meses de vida; sin embargo, no hay evidencia de que la protección sea a más largo plazo una vez que la alimentación con lactancia con leche materna finaliza.

En esta investigación donde se detectó mayor presencia de Rotavirus en niños con edades comprendidas entre 0 y 11 meses, se compara con un estudio regional realizado en la ciudad de Maracaibo, estado Zulia ⁽¹⁸⁾, donde los autores indicaron que en una población de 100 infantes, resultaron positivos a Rotavirus un 43,6% (24/55) de niños no vacunados y 33,3% (10/30) de niños vacunados, siendo afectados principalmente los menores de 1 año, con predominio del sexo masculino con un 65,9% sobre el sexo femenino con 40%

Gracias a los métodos rápidos por aglutinación, así como las técnicas moleculares mediante RT-PCR, la detección de Rotavirus en niños menores a 5 años permiten hacer un diagnóstico rápido y así instaurar de forma eficiente el tratamiento de los pacientes, facilitando a los responsables de la salud pública la toma de decisiones sobre la conveniencia o no de implementar las medidas preventivas disponibles. No obstante, se recomienda realizar la caracterización del virus y genotipificación con la finalidad de tomar las medidas preventivas como vacunación contra el serotipo específico, y así poder disminuir la incidencia de niños afectados por este microorganismo. Así mismo resulta necesario promover estrategias educativas a la comunidad en general.

REFERENCIAS

1. Sengupta, P. Rotavirus: Los retos del futuro. Indian Journal Med Comunidad. 2009; 34: 279-282.
2. Velásquez FR, Garcia Lozano H, Rodriguez E, Cervantes Y, et al. "Diarrhea morbidity and mortality in Mexican children impact of rotavirus disease". PeadiatrInfec Dis J2004; 23:149-155.
3. Fariña N; Galeano ME; Martínez M; Ferreira R; Vega M; Espínola E; Parra GI; Figueredo LI; Russomando C. Sensibilidad y especificidad del método inmunocromatográfico utilizado para el diagnóstico de Rotavirus. Memoria del Instituto de Investigación en Ciencias de la Salud. 2008; 6(2)
4. Cook S. M.; R. I. Glass; C. W. LeBaron; M.S. Ho. Global seasonality of rotavirus infections. Bull World Health Organ. 1990; 68: 171-177.
5. Dormitzer P. Rotaviruses. Capítulo146. En: Mandell GL; Bennett JE; Dolin R; eds. Mandell, Douglas and BennettTMs principles and practice of infectious diseases. 6. a ed. Philadelphia: Elsevier Churchill Livingstone. 2005; 1902TM"1913.
6. De Oliveira LH, Danovaro-Holliday MC, Matus CR, Andrus JK, Rotavirus vaccine introduction in the Americas: progress and lessons learned. Expert Rev Vaccines 2008; 7: 45-53.
7. Organización Panamericana de la Salud. Vigilancia Epidemiológica de diarreas causada por Rotavirus: guía Práctica Washington: OPS; Publicación Científica y Técnica 2007; 623.

8. Ministerio del Poder Popular para la Salud (MPPS). Boletín Epidemiológico. Semana Epidemiológica No. 44. Gobierno Bolivariano de Venezuela. Año LVIII. 2014. pp 13.
9. Wildermann N, Porto L, Moronta R, Bracho M, Costa L, Callejas D. Detección molecular mediante RT-PCR de calicivirus y enterovirus en niños menores de 6 años con síndrome diarreico. *RevSocVzolanaMicrob*. 2010; 30:145-150.
10. Parashar UD; Hummelman EG; Bresee JS; Miller MA; Glass RI. Global illness and deaths caused by Rotavirus disease in children. *EmergInfectDis*. 2003; 9: 565-572.
11. Bras J. Pediatría en atención primaria. Editorial Masson. España 2005. Segunda edición.
12. Vizzi. E. Rotavirus: consideraciones biológicas, epidemiológicas e inmunológicas de la Infección en humanos. 2009. Vol. 12 Sup. 1: 24
13. García. S, Moronta. R, Atencio. R, Goterra .J, Marin. D, Villalobos. R, Atencio. M, Ying. S. Determinación cualitativa de rotavirus en heces diarreicas de infantes menores de 5 años. *Invest. Clin*. 56. (Sup.1): 2015: 1095-1096.
14. Logan, C., O'Leary, J. J. and O'Sullivan, N., Real-Time Reverse Transcription-PCR for Detection of Rotavirus and Adenovirus as Causative Agents of Acute Viral Gastroenteritis in Children. *J Clin Microbiol*, 2006. 44(9): 3189-3195.
15. Helsinki de la asociación médica mundial. Principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos. 2008.
16. Sanders R. C.; Campbell A. D.; Jenkins M. D. Routine detection of human Rotavirus by latex agglutination: Comparison with enzyme linked immunosorbent assay, electron microscopy and polyacrylamide gel electrophoresis. *J. Virol. Methods*. 1986; 13: 285-290.
17. Abbaszadegan M, Steward P, LeChevalier M. A strategy for detection of viruses in groundwater by PCR. *Appl Environ Microbiol* 1999; 65: 444-449.
18. Atencio R, Bracho A, Porto L, Callejas D, Costa L, Monsalve F, Villalobos R, Atencio MV, Osorio S. Síndrome diarreico por rotavirus en niños menores de 5 años inmunizados y no de la ciudad de Maracaibo, estado Zulia, Venezuela. *Kasmera*. 2013; (41) 1: 1-8.
19. Gutiérrez-Gimeno MV, Martín-Moreno JM, Díez-Domingo J, Asensi-Botet F, Hernández-Marco R, Correcher-Medina P, Sánchez-Fauquier A. Nosocomial rotavirus gastroenteritis in Spain: a multicenter prospective study. *Pediatr Infect Dis J*. 2010; 29: 23-27
20. Costa J, Polanco I, Gonzalo J. Guía de práctica clínica. Gastroenteritis aguda en el niño. Guía multidisciplinar SEGNHP-SEIP. 2010:1-28.
21. Prado Bastardo, R. Diarrea en lactantes menores. Servicio de emergencia pediátrica. Hospital "Ruiz y Páez". Trabajo de grado para optar al título de Licenciado (a) en Enfermería. Universidad de Oriente. Núcleo Bolívar. Escuela de ciencias de la salud. 2010:1-56.
22. Cermeño J, Hernández I, Camaripano M, Medina N, Guevara A, Hernández C. Etiología de diarrea aguda en niños menores de 5 años Ciudad Bolívar, Venezuela. *Rev SocVenezMicrobiol*.

2008; (28): 55-60.

23. Periago, Mirta. Epidemiological surveillance of diarrheal diseases due to Rotavirus field Guide. Pan American Health Organization. Washington, DC. 2010; 623-644.

24. Delgado, S. Rotavirus y Adenovirus en niños menores de 5 años con Síndrome Diarreico. Trabajo de grado como requisito parcial para optar por el título de Médico Cirujano. 2012. 1-52

25. Burgos P, Burgos J, Arroyo G. Prevalencia de Rotavirus en niños que asisten a dos laboratorios privados del departamento de Petén. 2013. Revista científica. (23) 3: 1-34.

26. Díez-Domingo J, Oyagüez Martín I, BallesterSanz A, González López A, CasaniMartínez C, PidróBoronat C. Rotavirus gastroenteritis among children under five years of age in Valencia, Spain. *Pediatr Infect Dis J* 2006; 25: 455-457.

27. Buesa J, Colomina J, Raga J, Villanueva A, Prat J. Evaluation of reverse transcription and polymerase chain reaction (RT/PCR) for the detection of rotaviruses: applications of the assay. *Res Virol* 1996; 147:353-361.

27. Maldonado A.; Franco M. C.; Blanco A.; Villalobos L.; Martínez R.; Hagel I.; González R.; Bastardo J. W. Características clínicas y epidemiológicas de la infección por rotavirus en niños de Cumaná, Venezuela. *Invest. Clin.* 2010; 51:519-529.

28. Reyes U, Ramírez B, Reyes U, Hernández I, Reyes D, Martínez A. Gastroenteritis por rotavirus en lactantes previamente inmunizados. *Rev Enfer Infec Pediatr* 2009; 23:8-12.

29. Thompson M, Mc Innes R, Willar H. Genetics in Medicine. In: Genetics of the immune system. Fifth edition. Philadelphia. W.B. Saunders Company. 1991; 337-347.

30. Silva N, Rodrigues J, Monte de Melo M. Prevalência de rotavirus em crianças atendidas na rede pública de saúde do Estado de Pernambuco. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical.* 2010; 43(5):548-551

31. Pereira A, Ferreira C, Turchetto G, Nogueira M, Vidal L, Cruz C, Deburd M, De Almeida S, Rabonif S. Molecular characterization of rotavirus genotypes in immunosuppressed and non-immunosuppressed pediatric patients. *J Pediatr (Rio J).* 2013; 89(3):278-285

32. Lopman B, Payne D, Tate J, Patel M, Cortese M, Parashar U. Post-licensure experience with rotavirus vaccination in high and middle income countries; 2006 to 2011. *Curr. Opin. Virol.* 2012; 2: 434-442.

33. Schael I, O'Ryan M, Sáez-Llorens X, Linhares A, Velázquez F, Colindres R, Breuer T, Ortega-Barria E. Clinical development, registration, and introduction of human rotavirus vaccine: The Latin American experience. *Trials in Vaccinology* 1. 2012: 10-20.

34. Linhares A, Macias-Parra M, Sáez-Llorens X, Vergara R, Jimenez E, Velázquez R, Cervantes Y, José Abate H, Rivera L, Ruttimann R, Rivera-Medina D, Salinas B, Ortega-Barria B, Rubio P, Breuer T. Rotavirus gastroenteritis in Latin America: A hospital-based study in children under 3 years of age. *Trials in Vaccinology* 1. 2012: 36-41.

