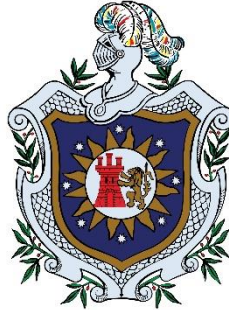


Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua, León

Área de conocimiento de Ciencias Médicas

Carrera de Bioanálisis Clínico



Tesis Para Optar Al Título De Licenciado En Bioanálisis Clínico

Tema:

Etiología viral de la gastroenteritis en niños ingresados en los servicios del Departamento de pediatría del HEODRA, octubre 2021 – noviembre 2022.

Autores:

Br. Kinberling Elena Alvarado Alvarado

Br. Nairis Tais Torres Trujillo.

Tutor: Lic. Luis Adán Mairena Alvarado

Docente de la carrera de Bioanálisis Clínico

Área de conocimiento de Ciencias Médicas UNAN-León.

León. Abril, 2024

“2024: 45/19 ¡La Patria, La Revolución!”

AGRADECIMIENTOS

A Dios, fuente de toda sabiduría y fortaleza, por iluminar mi camino, sustentarme en los momentos difíciles y permitirme alcanzar esta meta.

A mis queridos padres, cuyo amor incondicional, apoyo constante y sacrificio han sido la piedra angular de mi educación y crecimiento. Su ejemplo de dedicación y perseverancia ha sido mi inspiración constante.

A mi familia, por su comprensión, aliento y por ser mi refugio en los momentos de incertidumbre. Su presencia ha sido mi mayor motivación para seguir adelante.

A mis profesores y mentores, por su guía, conocimientos impartidos y por desafiarme a alcanzar todo mi potencial académico.

A cada persona que de una forma u otra contribuyó a la realización de esta tesis, gracias por su valiosa colaboración y apoyo.

Este logro no hubiera sido posible sin el amor, la fe y el respaldo incondicional de cada uno de ustedes. A todos, mi más profundo agradecimiento.

Br. Kinberling Elena Alvarado Alvarado

Br. Nairis Tais Torres Trujillo.

ETIOLOGÍA VIRAL DE LA GASTROENTERITIS EN NIÑOS INGRESADOS EN LOS SERVICIOS DEL DEPARTAMENTO DE PEDIATRÍA DEL HEODRA, OCTUBRE 2021 – NOVIEMBRE 2022.

Kinberling Elena Alvarado Alvarado¹, Nairis Tais Torres Trujillo¹, Luis Adán Mairena Alvarado².

1. Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua. Área de Conocimiento de Ciencias Médicas. Carrera de Bioanálisis Clínico, UNAN-León. 2. Área específica carrera Bioanálisis Clínico, UNAN-León.

RESUMEN

La gastroenteritis es una afección importante debido a su alta frecuencia y es una razón común de consultas médicas en atención primaria, ya que puede resultar una causa significativa de enfermedad y muerte en infantes. La gastroenteritis viral es una infección que causa diarrea, vómitos, y a veces fiebre. Los niños, especialmente los menores de cinco años son más susceptibles a las complicaciones asociadas a esta enfermedad debido a que su sistema inmunológico aún se encuentra en desarrollo. Es por ello que el objetivo del estudio fue determinar los agentes etiológicos virales causantes de la gastroenteritis en niños ingresados en el departamento de pediatría del HEODRA en el periodo octubre 2021 – noviembre 2022. Para ello se realizó un estudio descriptivo de corte transversal, en el cual se utilizó información disponible del estudio Norovirus Household del departamento de Microbiología y Parasitología de la UNAN-León. mediante el cual se lograron identificar 121 niños participantes que cumplían con los criterios de inclusión, de estos los niños menores de 1 año fueron los más afectados y el 11% presentaron todos los síntomas característicos de la enfermedad, el 24% tenían infección viral y el agente etiológico identificado con mayor frecuencia fue Norovirus (86%), de este el principal genogrupo de Norovirus identificado fue G II (84%).

ABREVIACIONES

RoV	Rotavirus
NoV	Norovirus
SaV	Sapovirus
GI	Genogroup I (Grupo Genético I)
GII	Genogroup II (Grupo Genético II)
GI-VII	Genogroup I - VII (Grupo Genético del I al VII)
AMPc	Adenosín Monofosfato Cíclico
ARN	Ácido Ribonucleico
ADN	Ácido Desoxirribonucleico
cADN	Ácido Desoxirribonucleico complementario
VP	Proteína de Cápside
Kb	Kilobases
kD	KiloDalton
Mm	Milimolar
Nt	Nucleótidos
ORF	Open Reading Frame (Marco de lectura abierta)
PCR	Reacción en cadena de la polimerasa
RT-qPCR	Quantitative Reverse Transcription PCR (Transcripción Cuantitativa Inversa PCR)
SPSS	Paquete Estadístico para las Ciencias Sociales
OMS	Organización Mundial de la Salud
HEODRA	Hospital Escuela Oscar Danilo Rosales Arguello

CONTENIDO

INTRODUCCIÓN.....	1
OBJETIVOS.....	3
GENERAL	3
ESPECÍFICOS	3
MARCO TEÓRICO.....	4
1. DEFINICIÓN.....	4
2. MECANISMOS DE ACCIÓN DE LOS AGENTES INFECCIOSOS	4
2.1 OSMÓTICA:.....	4
2.2 SECRETORA:.....	5
2.3 ALTERACIONES DE TRANSPORTE ACTIVO INTESTINAL:.....	5
2.4 ALTERACIONES DE LA PERMEABILIDAD INTESTINAL:.....	5
2.5 ALTERACIONES DE LA MOTILIDAD:.....	5
3. ETIOLOGÍA VIRAL.....	5
3.1 ROTAVIRUS (ROV).....	7
3.1.1 PATOGENIA.....	7
3.1.2 ASPECTOS CLÍNICOS.....	8
3.2 NOROVIRUS (NOV)	8
3.2.1 PATOGENIA.....	8
3.2.2 ASPECTOS CLÍNICOS.....	9
3.3 SAPOVIRUS (SAV):.....	10
3.3.1 PATOGENIA.....	11
3.3.2 ASPECTOS CLÍNICOS.....	11
3.4 ASTROVIRUS	11
3.4.1 PATOGENIA.....	12
3.4.2 ASPECTOS CLÍNICOS.....	13
4. TRANSMISIÓN	13
5. TRATAMIENTO Y PREVENCIÓN	13
6. DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO	13
6.1 MICROSCOPIA ELECTRÓNICA (ME).....	13
6.2 CULTIVO CELULAR	14
6.3 ENZIMOINMUNOANÁLISIS (EIA)	14
6.4 RT-QPCR	14

6.5 ETAPAS DE RT-QPCR:	14
DISEÑO METODOLÓGICO	16
1. TIPO DE ESTUDIO.....	16
2. ÁREA DE ESTUDIO.....	16
3. POBLACIÓN DE ESTUDIO	16
4. TIPO DE MUESTREO.....	16
5. CRITERIOS DE INCLUSIÓN:	16
6. FUENTE DE INFORMACIÓN	17
7. INSTRUMENTO DE RECOLECCIÓN DE DATOS	17
8. PROCEDIMIENTO DE LA RECOLECCIÓN DE DATOS:	17
9. PLAN DE ANÁLISIS	17
10. CONSIDERACIONES ÉTICAS.....	17
11. OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES.....	18
RESULTADOS Y ANALISÍS	19
DISCUSIÓN	23
CONCLUSIONES	26
BIBLIOGRAFÍA.....	27
ANEXOS	32
FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS:.....	33
CARTA DE SOLICITUD DE BASE DE DATOS ESTUDIO NOV HOUSEHOLD:	34



INTRODUCCIÓN

La gastroenteritis aguda es una afección importante debido a su alta frecuencia y es una razón común de consultas médicas de atención primaria ya que puede resultar una causa significativa de enfermedad y muerte en infantes. Se caracteriza por la inflamación de la mucosa del estómago e intestino, lo que se manifiesta clínicamente como diarrea aguda, generalmente de inicio rápido y de curso autolimitado. También puede estar acompañada de síntomas como náuseas, vómitos, fiebre y dolor abdominal.⁽¹⁾

La gastroenteritis en niños es un problema de salud pública global que afecta significativamente la calidad de vida de la población infantil. Según la Organización Mundial de la Salud (OMS) hay alrededor de dos mil millones de casos de enfermedad diarreica a nivel mundial cada año, y 1.9 millones de niños menores de 5 años fallecen a causa de diarrea anualmente.⁽⁴⁾

Los niños, especialmente aquellos menores de cinco años, son particularmente susceptibles a las complicaciones asociadas con la gastroenteritis debido a su sistema inmunológico aún en desarrollo y su limitada capacidad para combatir las infecciones. El impacto de la gastroenteritis en esta población se traduce en una mayor incidencia de hospitalizaciones y consultas médicas. La gastroenteritis en la infancia no solo genera consecuencias inmediatas, como deshidratación y pérdida de peso, sino que también se ha vinculado con efectos a largo plazo, incluyendo alteraciones en el crecimiento y desarrollo cognitivo.⁽⁵⁾

Actualmente se considera que una de las principales causas de gastroenteritis en personas de todas las edades son los Calicivirus humanos, que incluyen a los géneros Norovirus y Sapovirus.⁽⁸⁾



Etiología viral de la gastroenteritis en niños ingresados en los servicios del Departamento de pediatría del HEODRA, octubre 2021 – noviembre 2022.



El estudio acerca de la gastroenteritis en niños no solo amplía nuestro conocimiento sobre la enfermedad, sino que también establece el fundamento para el desarrollo de intervenciones más efectivas. Un conocimiento más profundo de los factores de riesgo, las rutas de transmisión y los patrones de comportamiento de la gastroenteritis en niños es esencial para desarrollar estrategias preventivas efectivas, incluyendo programas de vacunación, medidas de higiene y campañas de concientización. Esto contribuye a mejorar la salud y el bienestar de la población infantil, especialmente considerando la ausencia de un sistema de vigilancia en nuestro país que permita un control más riguroso de esta enfermedad.



OBJETIVOS

General

Determinar los agentes etiológicos virales causantes de gastroenteritis en niños ingresados en el departamento de pediatría del HEODRA, octubre 2021 – noviembre 2022.

Específicos

- Describir las características clínicas y demográficas de la población en estudio.
- Determinar la frecuencia de Norovirus y Sapovirus en los casos de gastroenteritis.
- Conocer los principales genogrupos de Norovirus presentes en las muestras.



MARCO TEÓRICO

1. Definición

La gastroenteritis aguda se refiere a la inflamación de la mucosa gástrica e intestinal, manifestándose clínicamente a través de una diarrea de inicio rápido, con o sin síntomas adicionales como náuseas, vómitos, fiebre o dolor abdominal. En su mayoría, esta condición es provocada por infecciones entéricas, lo que hace que en la literatura el término "gastroenteritis aguda" sea prácticamente equivalente a diarrea aguda de origen infeccioso. ⁽¹¹⁾

La diarrea se caracteriza por un incremento en el número de evacuaciones diarias y/o una alteración en su consistencia debido a un aumento en el contenido de agua y electrolitos, manifestándose de manera súbita. Es importante tener en cuenta la edad del niño, ya que la frecuencia de las evacuaciones es más elevada en niños menores de 3 meses, y el ritmo intestinal puede verse afectado por el tipo de alimentación que reciben. ⁽⁶⁾

2. Mecanismos de acción de los agentes infecciosos

Según la alteración predominante, el proceso diarreico puede clasificarse en 5 categorías:

2.1 Osmótica: la permanencia en la luz intestinal de cantidades no usuales de solutos poco absorbibles y activos osmóticamente, causa retención de volúmenes equivalentes de agua. Este proceso es característico de infecciones virales especialmente del rotavirus. En el caso específico de este patógeno, su mecanismo fisiopatológico implica también la producción de una enterotoxina y la activación del sistema nervioso entérico. ^(6,12)



2.2 Secretora: es causada por la secreción abundante de líquidos y electrolitos en el intestino delgado debido a la acción de toxinas bacterianas que aumentan la concentración de AMPc. ⁽⁶⁾

2.3 Alteraciones de transporte activo intestinal: al alterarse el transporte glucosa y sodio se disminuye la absorción intestinal ⁽⁶⁾

2.4 Alteraciones de la permeabilidad intestinal: puede reducir la absorción normal de sodio, glucosa y agua a través de: macromoléculas que actúan como antígenos o alérgenos o bien por procesos inflamatorios ⁽⁶⁾

2.5 Alteraciones de la motilidad: el aumento de la motilidad intestinal resulta en un periodo insuficiente de contacto del contenido intestinal con la mucosa lo que disminuye el proceso de absorción normal ⁽⁶⁾

3. Etiología Viral

Los virus son organismos infecciosos diminutos mucho más pequeños que un hongo o una bacteria, que necesitan invadir una célula para replicarse. El virus se adhiere a una célula (conocida como célula huésped), penetra en ella y libera su ADN o ARN en el interior. Este material genético contiene la información necesaria para hacer copias del virus (replicación), por lo general, la célula infectada muere dado que el virus le impide realizar sus funciones normales. Cuando la célula huésped infectada por virus muere, libera nuevos virus que infectan otras células.

(13)



La gastroenteritis viral es causada habitualmente por:

Figura 1. Principales virus causantes de gastroenteritis ⁽¹⁵⁾

Virus	Familia	Tamaño (nm)	Apariencia	Ácido Nucleico
Rotavirus	Reoviridae	70	Rueda	ARN de doble cadena segmentado
Norovirus	Caliciviridae	20-35	Virus pequeños de estructura redonda con cálices	ARN de cadena sencilla sentido positivo
Sapovirus	Caliciviridae	20-35	Virus pequeños de estructura redonda con cálices	ARN de cadena sencilla sentido positivo
Astrovirus	Astroviridae	28-30	Virus en forma de estrella	ARN de cadena sencilla sentido positivo



3.1 Rotavirus (RoV)

Los RoV son virus sin envoltura, de dos cápsides. El genoma está compuesto de 11 segmentos de ARN bicatenario que codifican 6 proteínas estructurales y 5 no estructurales. La proteína VP6 conforma la cápside interna, y por sus características antigénicas, se clasifica en grupos (A-G) y subgrupos (SG), detectándose con mayor frecuencia los grupos de la A-C, con SGII en los humanos. Las proteínas VP7 y VP4 de la cápside externa, poseen epítomos de clasificación de los serotipos G y P. Hasta la fecha se han reportado 19 serotipos G y 27 serotipos P. ^(15,16)

3.1.1 Patogenia

Los rotavirus infectan a los enterocitos maduros en las porciones distal y media de las vellosidades del intestino delgado. Estudios demuestran que utilizan diversas moléculas de la superficie celular como receptores. Interaccionan con glucoconjugados, como los gangliósidos GM1 y GM3. No todos utilizan los mismos receptores porque existen cepas sensibles a neuraminidasa y cepas resistentes a esta enzima. ⁽¹⁹⁾

La penetración de rotavirus en la célula se produce directamente a través de la membrana o por endocitosis dependiente de calcio. La proteína no estructural NSP4 altera la homeostasia del calcio intracelular además se une a un receptor no identificado y activa una señal de transducción que provoca un aumento del calcio intracelular por activación de la fosfolipasa C-IP₃, así como un aumento de la secreción de cloruros. ⁽¹⁹⁾

Se ha demostrado también que los Rotavirus activan el sistema nervioso entérico. Los enterocitos responden ante la infección sintetizando compuestos biológicamente activos como citocinas, prostaglandinas y óxido nítrico, que estimulan receptores neuronales. Esta estimulación activaría la secreción y la motilidad intestinal. ⁽¹⁹⁾



3.1.2 Aspectos Clínicos

El periodo de incubación en la diarrea por Rotavirus es de 24 a 72 horas. La infección sintomática es más frecuente en los niños de 3 meses a 2 años de edad, mientras que la infección asintomática es común en lactante menores de 2 meses. Las formas más graves cursan con importantes pérdidas de agua y electrolitos. ⁽¹⁹⁾

3.2 Norovirus (NoV)

Los NoV son virus no envueltos, que se dividen en 7 genogrupos con más de 30 genotipos. Estos virus tienen un genoma de RNA monocatenario de sentido positivo, y un tamaño de aproximadamente 7.7 Kb, que posee normalmente 3 marcos de lectura abiertos (ORF) que codifican a todas las proteínas virales. ⁽¹⁷⁾

El ORF1 codifica para una poliproteína que se auto procesa de manera co-traducciona l y post-traducciona l generando 7 proteínas no estructurales maduras (NS1-NS7) las cuales están implicadas en la replicación del virus. El ORF2 codifica para la proteína mayoritaria o 10 principal de la cápside (VP1), la cual se ensambla en forma de dímeros y 90 copias de estos dímeros conforman la cápside viral. La proteína VP1 presenta dos dominios: el dominio de la cubierta (S), que encierra el RNA viral, y el dominio saliente o externo (P), el cual interactúa con los receptores de membrana. El ORF3 codifica para la proteína minoritaria de la cápside (VP2), de la cual solo se encuentran de 2 a 3 copias por virión. ⁽¹⁷⁾

3.2.1 Patogenia

Se ha demostrado que la infección depende de la presencia de antígenos de grupo histosanguíneo (HBGA, del inglés histo-blood group antigens) específicos, que actúan como receptores para el virus en el intestino de los hospedadores susceptibles. La combinación de la unión específica de cada cepa de norovirus a receptores HBGA específicos y la expresión variable de los mismos puede explicar



la distinta susceptibilidad a la infección, tanto en el contexto de brotes como en voluntarios sanos. ⁽⁵⁾

Un aspecto de gran importancia es el grado de sensibilidad que los individuos presentan a los distintos virus entéricos. Recientemente se ha descubierto que la probabilidad de padecer infección y enfermedad por norovirus se asocia con determinados fenotipos de grupos histosanguíneos ABO. Se observó que partículas pseudovíricas de norovirus aglutinaban a los hematíes del grupo O humanos, pero no a los hematíes del grupo B. La hemaglutinación por norovirus es, además, inhibida por la saliva de individuos secretores que expresan el antígeno H en las mucosas, pero no por la de no secretores que carecen de este antígeno. ⁽¹⁹⁾

La Norovirus se unen a los receptores celulares a través de un dominio específico de la proteína de la cápside. Ésta posee dos dominios funcionales: el dominio S (la porción interna de la cápside) y el dominio P (la porción protuberante). El dominio P se divide en los subdominios P1 (el enlace entre el interior y la región P2) y P2 (que se une al receptor celular y es la región más externa de la cápside). ^(5,19)

La secuencia génica que codifica P2 es la región más variable del genoma de norovirus y expresa determinantes de su unión al receptor y epítomos reconocidos por anticuerpos. ⁽⁵⁾

3.2.2 Aspectos Clínicos

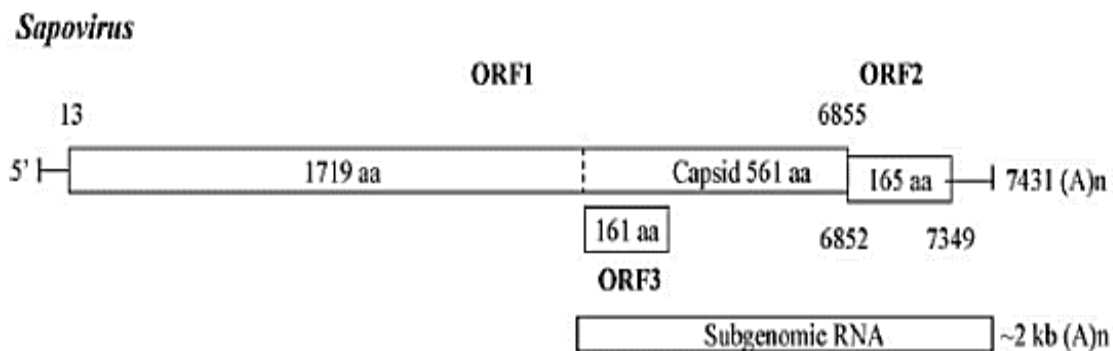
El período de incubación de una infección por norovirus es, generalmente, de 24-48 horas. La enfermedad se caracteriza clínicamente por la aparición brusca de náuseas, vómitos, diarrea no sanguinolenta, fiebre y dolor abdominal. Los vómitos son muy frecuentes en los niños mayores de 1 año, mientras que en los lactantes se suele desarrollar sólo diarrea. ⁽⁵⁾



3.3 Sapovirus (SaV):

Es un virus RNA de cadena simple de sentido positivo, perteneciente a la familia Caliciviridae. Su ARN presenta aproximadamente de 7.3 a 7.5 kb de longitud, se caracterizan por tener una organización genómica de 3 marcos de lectura abierta (Open Reading Frame o ORFs), el ORF 1 codifica para proteínas no estructurales, ARN polimerasa dependiente de ARN (Rd, Rp) y una proteína de la cápside (VP1). (14,15)

Figura 2. Estructura del Genoma de SaV. (15)



La principal proteína estructural de SaV es la VP1 es consistente con su papel como determinante de fenotipo antigénico y en las interacciones del virus con las células huésped. (14,15)

Además de la proteína mayor de la cápside VP1, el ORF 2 codifica la proteína menor de la cápside, VP2, el ORF 3 está presente en algunas cepas humanas y de murciélago, sin embargo, su función aun es desconocida. (14)

SaV está dividido en 7 diferentes genogrupos (GI-GVII), de los cuales GI, GII, GIV Y GV infectan a los humanos. (15)



3.3.1 Patogenia

Los SaV están divididos en 7 diferentes genogrupos (GI-GVII), de los cuales GI, GII, GIV y GV infectan humanos. Estas cepas de SaV porcinos son relacionadas genética y antigénicamente con cepas de NoV humanos. La clasificación se basa en la diferencia de la secuencia de aminoácidos de VP1. ⁽¹⁵⁾

3.3.2 Aspectos Clínicos

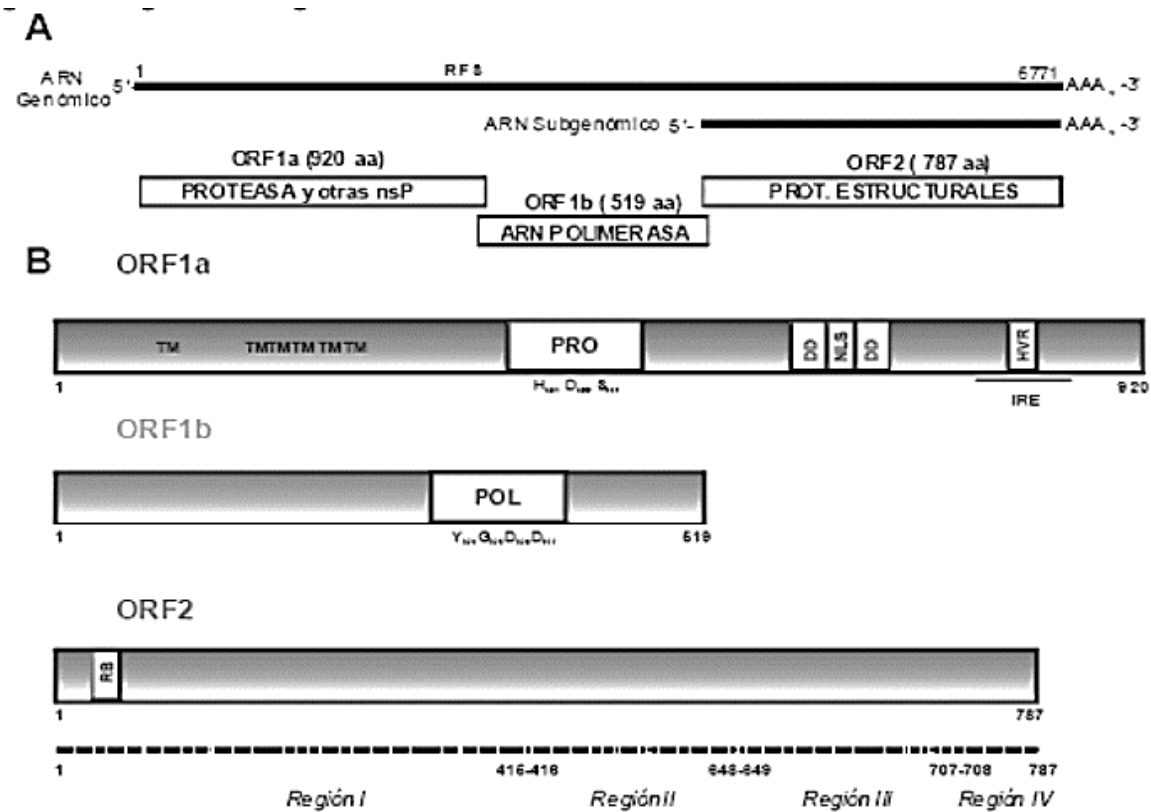
Los principales síntomas son diarrea, vomito y fiebre, los cuales pueden prolongarse durante una media de 6 días. La enfermedad se caracteriza por vómitos en el primer y segundo día y la diarrea se presenta, durante aproximadamente los primeros 5 días. ⁽¹⁵⁾

3.4 Astrovirus

Astrovirus conforman un conjunto de virus no envueltos que poseen una morfología única, de simetría icosaédrica, con un diámetro de 28 nm aproximadamente, su genoma está compuesto por una cadena de ARN de polaridad positiva de aproximadamente 7 kb de longitud y poliadenilado con 3 secuencias de lectura abierta (ORF). Las secuencias ORF1a y ORF1b, localizadas en los extremos 5', codifican proteínas no estructurales, concretamente una serin-proteasa y una polimerasa de ARN dependiente de ARN, respectivamente, implicadas en la replicación viral. La ORF2, localizada en el extremo 3', codifica una poliproteína de 87 kD que, por proteólisis, da lugar, al menos, a tres proteínas estructurales (VP26, VP29 y VP32) componentes de la cápside del virus. Aunque la estructura proteica de los Astrovirus no es todavía bien conocida, estudios con anticuerpos monoclonales sugieren que la VP26 y/o la VP29 pueden ser importantes en la neutralización viral. ⁽¹⁸⁾



Figura 3. Organización Genómica de Astrovirus ⁽¹⁵⁾



3.4.1 Patogenia

La patogenia de la enfermedad por este virus no se ha establecido todavía. Los estudios realizados en animales son los que aportan gran parte del conocimiento. En ellos se observa una atrofia de las vellosidades intestinales e infiltrados inflamatorios en la lámina propia, dando lugar a la disminución de la actividad de las disacaridasas y producción de diarrea osmótica. En humanos el mecanismo probable de entrada del virus parece ser endocitosis. ⁽¹⁸⁾



3.4.2 Aspectos Clínicos

El cuadro clínico típico es autolimitado con una duración de 1 a 5 días. La enfermedad se caracteriza por diarrea aguda, malestar, cefalea, náuseas, vómitos, e hipertermia leve. ⁽¹⁸⁾

La enfermedad se manifiesta, sobre todo, en niños en los 3 primeros años de edad, con mayor frecuencia entre los 6 y 18 meses de vida. ⁽¹⁸⁾

4. Transmisión

La transmisión ocurre principalmente a través de la vía fecal-oral, aunque también se ha conocido que puede ocurrir mediante aerosoles de vómito contaminado. ⁽¹⁵⁾

5. Tratamiento y Prevención

Como en el resto de gastroenteritis virales, no existe tratamiento específico para la enfermedad. Una vez más, en los casos con una pérdida considerable de líquidos, a través de las heces o vómitos, es importante la reposición de fluidos, así como la realimentación precoz. ⁽¹⁸⁾

Un aspecto primordial prevención de la enfermedad es la interrupción de la transmisión. Esto es fundamental en hospitales y centros de cuidados de niños pequeños, lo que implicaría reforzar las medidas de higiene y lavado de manos, así como el uso de desinfectantes adecuados. El diseño futuro de vacunas exige en la actualidad un mayor conocimiento de la antigenicidad y de la respuesta inmune que produce. ⁽¹⁸⁾

6. Diagnóstico Microbiológico

6.1 Microscopia Electrónica (ME)

Posee una rápida caracterización y diagnóstico diferencial de varios agentes virales especialmente de la familia Adenoviridae y Reoviridae. ⁽²⁰⁾



6.2 Cultivo celular

Actualmente no se dispone de ningún sistema de cultivo celular para la reproducción de norovirus. No se recomienda la detección mediante la técnica ELISA debido a la diversidad genética de norovirus y a la falta de sensibilidad de este ensayo. ⁽²⁰⁾

6.3 Enzimoimmunoanálisis (EIA)

Es de 10 a 100 veces más sensible que la microscopia Electrónica (ME), pero su sensibilidad es inferior cuando se compara con las técnicas de RT-PCR. ⁽²⁰⁾

6.4 RT-Qpcr

La técnica de la RT-qPCR permite analizar la expresión génica y compararla en distintas condiciones. Nos brinda un análisis cuantitativo adicional del ADN o ARN. En RT-qPCR, el etiquetado fluorescente permite la recopilación de datos en tiempo real a medida que se realiza una reacción en cadena de la polimerasa. ⁽²⁰⁾

6.5 Etapas de RT-qPCR:

- Obtención, aislamiento y purificación del mRNA contenido en la célula, mediante extracción con solventes orgánicos.
- Retrotranscripción, el mRNA servirá como plantilla para la acción de la retrotranscriptasa, que sintetizará moléculas de cDNA.
- Amplificación del cDNA mediante la utilización de oligonucleótidos específicos (primers forward y reverse) que actuarán como cebadores de la acción de la polimerasa, se amplificará el cDNA de aquellos genes cuya expresión nos interese analizar. ⁽²⁰⁾



**Etiología viral de la gastroenteritis en niños ingresados en los servicios del
Departamento de pediatría del HEODRA, octubre 2021 – noviembre 2022.**



La RT-qPCR se diferencia de la PCR convencional en varios aspectos. El más importante es que mediante la amplificación con PCR sólo podemos observar el punto final, es decir, podemos observar si hay o no expresión del gen de interés (cualitativa). Mientras que la RT-qPCR nos permite saber cuánto hay de cada gen estudiado (cuantitativo).⁽²⁰⁾



DISEÑO METODOLÓGICO

1. Tipo de estudio

Descriptivo de corte transversal, se utilizó información disponible del estudio Norovirus Household (NoV household) del departamento de microbiología y parasitología UNAN-León.

2. Área de estudio

El presente estudio se llevó a cabo en el departamento de Pediatría del Hospital Escuela Oscar Danilo Rosales (HEODRA) situado en la ciudad de León, en el periodo de octubre 2021 – noviembre 2022.

3. Población de estudio

Niños(as) que fueron ingresados con gastroenteritis, en el departamento de pediatría del HEODRA participantes del estudio NoV household.

4. Tipo de muestreo

Se realizó un muestreo no probabilístico por conveniencia del cual se logró obtener información de 121 niños (as) participantes del estudio NoV Household siguiendo los criterios de inclusión.

5. Criterios de Inclusión:

- Menores de 5 años
- Que tuvieron un episodio de vomito o diarrea
- Padres y/o tutores que aceptaron participar en el estudio



6. Fuente de información

Secundaria, Se tomó información de la base de datos del estudio NoV Household del departamento de Microbiología y Parasitología UNAN-León.

7. Instrumento de recolección de datos

Se utilizó una ficha para recopilar la siguiente información: Características Clínicas y sociodemográficas de los participantes, y resultado del screening por RT-qPCR para agentes virales causantes de gastroenteritis. (Ver en anexo ficha de recolección de datos).

8. Procedimiento de la recolección de datos:

Se solicitó autorización al jefe del departamento de Microbiología y Parasitología para acceder a la base de datos del estudio NoV Household posteriormente se realizó una revisión de los participantes del estudio y se extrajo la información de interés.

9. Plan de análisis

La información recolectada fue analizada en los programas; SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) versión 29.0 y Software de Microsoft Excel versión 365 para Windows 10. Dicha información está presentada mediante tablas y gráficos de frecuencia y porcentajes.

10. Consideraciones éticas

En vista que se tomó la información de una base de datos digital no fue necesario solicitar permiso al comité de ética de la facultad de ciencias médicas de la UNAN-León.



11. Operacionalización de variables

Variable	Definición	Valores
Edad	Tiempo transcurrido desde el nacimiento hasta la captación del caso.	1. ≤ 1 año 2. 1 – 3 años 3. 3 – 5 años
Sexo	Características biológicas que distinguen al hombre y a la mujer.	1. Masculino 2. Femenino
Procedencia	Lugar de domicilio del paciente.	1. Urbano 2. Rural
Vómito	Expulsión fuerte del contenido estomacal por la boca.	1. Si 2. No
Diarrea	Incremento en el número de evacuaciones diarias y/o una alteración en su consistencia debido a un aumento en el contenido de agua y electrolitos.	1. Si 2. No
Fiebre	Incremento de la temperatura axilar por encima de 37.5 °C.	1. Si 2. No
Agente etiológico	Virus causante de gastroenteritis	1. Norovirus 2. Sapovirus 3. Astrovirus 4. Rotavirus
Genogrupo	Agrupación de varias cepas con diferentes características genotípicas	1. Genogrupo I 2. Genogrupo II



RESULTADOS Y ANALISIS

Se realizó una revisión de la base de datos del estudio NoV Household, del cual se logró identificar un total de 121 niños (as), de estos 54 (45 %) eran niños menores de 1 año. 84 (69 %) eran de procedencia urbana. Referente a las características clínicas 79 (65 %) tuvieron vómito, 111 (92 %) tenían diarrea y por último 81 (67 %) presentaron fiebre. (Ver tabla No. 1)

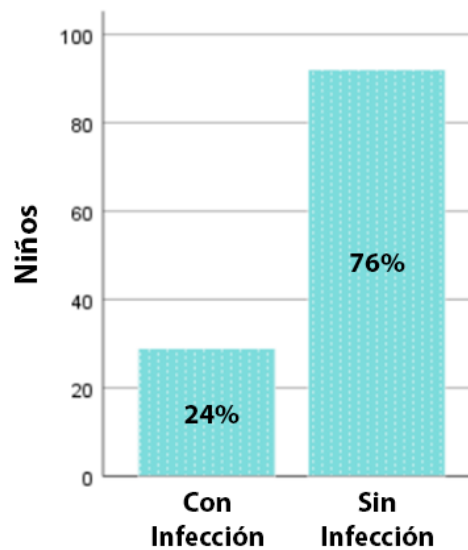
Tabla No 1. Características clínicas y demográficas de la población en estudio			
Variable	Definición	Frecuencia	Porcentaje
Edad	De 0 a 1 año	54	45
	De 1 a 3 años	51	42
	De 3 a 5 años	16	13
	TOTAL	121	100
Procedencia	Definición	Frecuencia	Porcentaje
	Urbano	84	69
	Rural	37	31
	TOTAL	121	100
Vómito	Definición	Frecuencia	Porcentaje
	Si	79	65
	No	42	35
	TOTAL	121	100
Diarrea	Definición	Frecuencia	Porcentaje
	Si	111	92
	No	10	8
	TOTAL	121	100
Fiebre	Definición	Frecuencia	Porcentaje
	Si	81	67
	No	40	33
	TOTAL	121	100

Fuente secundaria. Base de datos del estudio NoV Household



Referente a la frecuencia de agentes virales que causan gastroenteritis, solamente el 24 % (n=29) resultaron con infección viral. (Ver gráfico No.1)

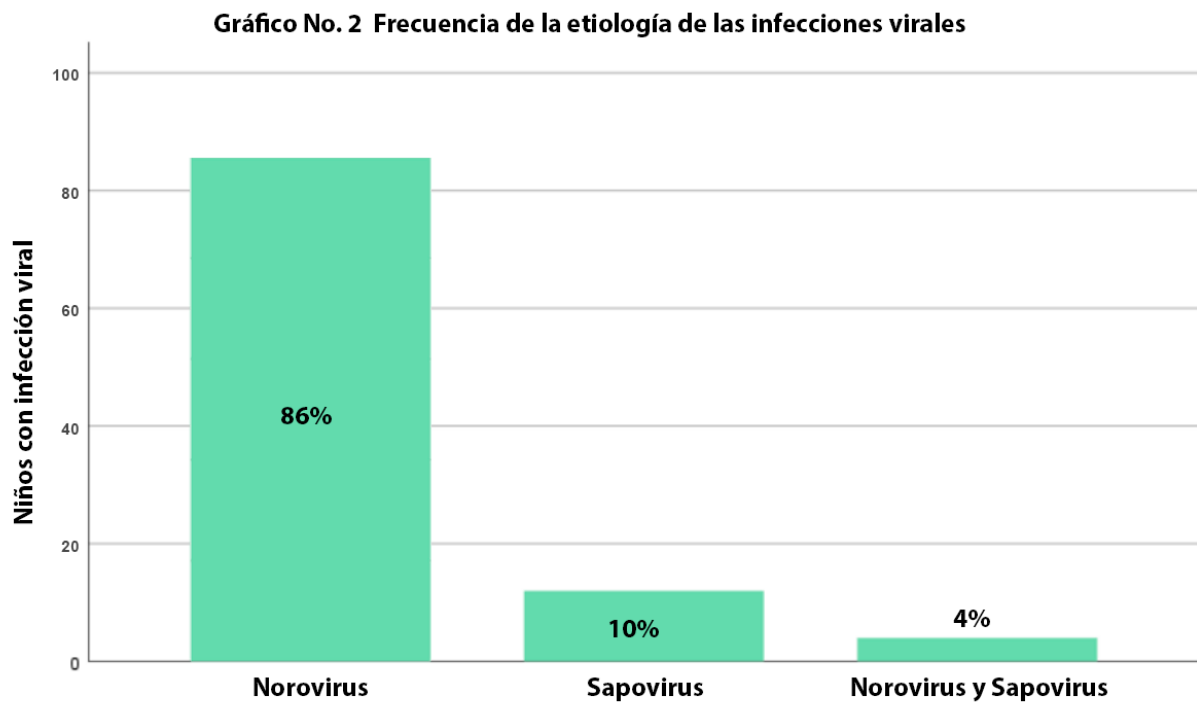
Gráfico no.1 Niños con infección viral



Fuente secundaria. Base de datos del estudio NoV Household



El agente etiológico con mayor frecuencia encontrado en los casos de gastroenteritis fue Norovirus, identificado en un 86% (n=25) de las muestras analizadas, seguido de Sapovirus, con un 10 % (n=3) y por último el 4 % (n=1) que presentaron ambos agentes infecciosos. (Ver gráfico No.2)

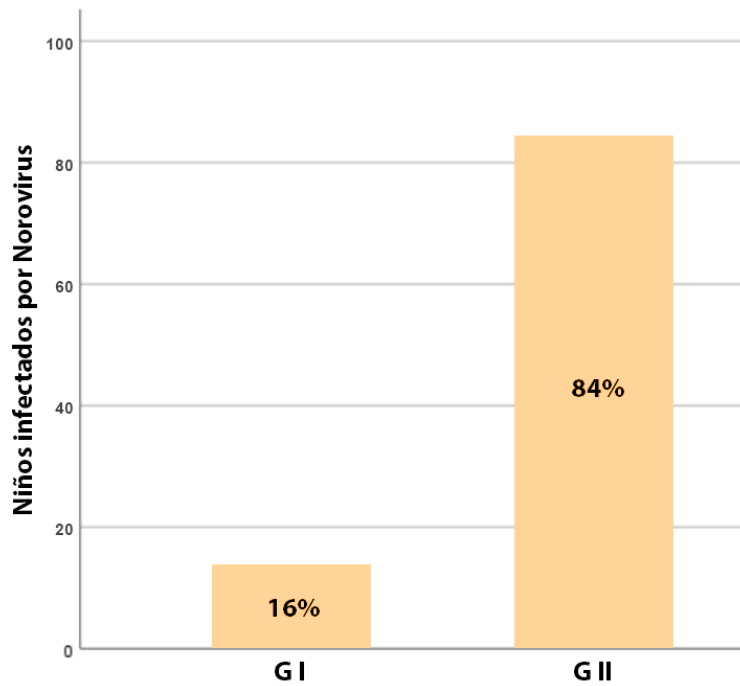


Fuente secundaria. Base de datos del estudio NoV Household



El principal genogrupo de Norovirus aislado en las muestras analizadas es el Genogrupo II con un 84 % (n=21), seguido del G I con 16 % (n=4). (Ver gráfico No.3)

Gráfico No. 3 Genogrupos de Norovirus presentes en las muestras



Fuente secundaria. Base de datos del estudio NoV Household



DISCUSIÓN

La gastroenteritis viral es una enfermedad común que causa una carga significativa en los sistemas de salud pública en todo el mundo. Los virus comúnmente más asociados con la gastroenteritis viral incluyen a Norovirus y Sapovirus, estos se transmiten principalmente a través del contacto fecal-oral, ya sea por consumo de alimentos o agua contaminados, contacto directo con superficies contaminadas o por la exposición a personas infectadas.

Una vez dentro del organismo, estos virus infectan las células del revestimiento intestinal, lo que lleva a la inflamación y los síntomas característicos de la enfermedad, como diarrea, vómitos y fiebre. Según la OMS, los niños más susceptibles a padecer una infección son los menores de 5 años, ya que su sistema inmunológico aún se encuentra en desarrollo y esto limita la capacidad para combatir las infecciones intestinales. ⁽⁴⁾

En el presente estudio se logró identificar que la mayoría de niños con gastroenteritis eran menores de 1 año (n=54), datos similares se obtuvieron en un estudio realizado por Saballos C. y Solís OS. Titulado Etiología de la diarrea aguda en niños menores de 5 años atendidos en el Hospital Infantil Manuel de Jesús Rivera, donde el grupo etario más susceptible a padecer gastroenteritis viral fueron los menores de 2 años. ⁽⁸⁾

En este estudio del total de muestras analizadas (n=121), el 24% (n=29) resultaron positivos para infección viral de los cuales el 92 % (n=111) presentaron diarrea como principal síntoma y el 69 % (n=84) eran originarios de la zona urbana. El agente etiológico con mayor frecuencia presente en los casos de gastroenteritis fue Norovirus con un 86% (n=25), seguido de Sapovirus 10% (n=3) y un caso de coinfección de ambos virus.



Estos datos son similares a un estudio comunitario y hospitalario titulado *Predominance of Norovirus and Sapovirus in Nicaragua after Implementation of Universal Rotavirus Vaccination*, realizado en septiembre de 2009 y octubre de 2010 por Bucardo F. y cols. En el cual se analizaron muestras de heces de 330 niños y encontraron que el 45% fueron infectados por un virus que causa gastroenteritis. Norovirus se encontró en el 24% de los niños (79/330), seguido de Sapovirus 17% (57/330).⁽⁹⁾

Los Norovirus se pueden agrupar en 5 genogrupos (desde el GI al GV). Los genotipos GI, GII y GV, infectan a los humanos causando gastroenteritis. (10) El principal genogrupo de Norovirus identificado en las muestras analizadas es el Genogrupo II con un 84% (n=21), el cual sigue siendo predominante en Nicaragua, así como en el resto del mundo, por otro lado, el Genogrupo I se presentó en el 16% (n=4) de las muestras positivas para Norovirus.

Este dato es similar a los resultados de un estudio realizado por Nadja A. y cols. Titulado *Transmission Patterns of Norovirus From Infected Children to Household Members in León, Nicaragua*, donde se observó que el Genogrupo II es transmitido con mayor frecuencia que el G I. Además, concuerdan con las conclusiones del estudio realizado por Berrios Y., denominado "Epidemiología Molecular de Norovirus en Niños con Diarrea Inmunizados contra Rotavirus 2009-2010", en el que se identificó que el Genogrupo II era el más frecuente, presente en el 90% de los casos, seguido por el G I con un 9%.⁽²¹⁾

Esta información deja en evidencia la necesidad de instaurar un sistema de vigilancia en salud para las enfermedades diarreicas virales, ya que en la mayoría de casos los niños son ingresados en las unidades de salud y manejados de forma empírica, con la administración de antibióticos de manera sugestiva, desconociendo el agente etiológico de la misma y sin un método diagnóstico de laboratorio con alta



Etiología viral de la gastroenteritis en niños ingresados en los servicios del Departamento de pediatría del HEODRA, octubre 2021 – noviembre 2022.



especificidad y sensibilidad para la identificación de agentes virales en nuestro sistema de salud.

Cabe mencionar la importancia de realizar esfuerzos en investigar un poco más a fondo el comportamiento de estos agentes infecciosos en nuestro medio, para en un futuro realizar esfuerzos y desarrollar una vacuna que nos permita inmunizar a nuestros niños (as) y consigo lograr una mejor calidad de vida referente a salud en la población infantil de nuestro país.



CONCLUSIONES

Se realizó una revisión de la base de datos del estudio Nov Household para Determinar los agentes etiológicos virales causantes de gastroenteritis en niños ingresados en el departamento de pediatría del HEODRA. En base a ello podemos concluir que:

- ✓ Se logró identificar que la infección viral fue más frecuente en niños menores de un año de procedencia urbana presentando diarrea como principal síntoma.
- ✓ El agente etiológico con mayor frecuencia encontrado en los casos de positivos de gastroenteritis viral fue Norovirus.
- ✓ El principal genogrupo de Norovirus identificado en las muestras analizadas fue el Genogrupo II.



BIBLIOGRAFÍA

1. Bove SM. Impacto de la estrategia AIEPI hospitalario en el abordaje medico e indicaciones hospitalarias de las enfermedades diarreicas en niños de 1 mes a 4 años, Hospital Fernando Velez Paiz [Master Tesis] 2004-2006. Disponible en: <https://repositorio.unan.edu.ni/6762/>
2. Barrio DP. Análisis epidemiológico de gastroenteritis causada por norovirus, en Quetzaltenango y Santa Rosa, Guatemala. [Especialista Tesis] 2016-2018. Disponible en: <https://repositorio.uvg.edu.gt/handle/123456789/3580>
3. Peña OL, Potosme JA. Diarrea aguda, vacuna anti-rotavirus y tendencia en la reducción de los casos severos en niños de 2-12 meses de edad, H.E.O.D.R.A. [Especialista Tesis] UNAN-León 2007-2008. Disponible en: <http://riul.unanleon.edu.ni:8080/jspui/handle/123456789/5093>
4. Bucardo F, Nordegren J, Carlsson B, Paniagua M, Lindgren P, Espinoza F, Svensson L. Pediatric Norovirus Diarrhea in Nicaragua. American Society for Microbiology [internet] 2008 [consultado 2023 nov 14]; Vol. (46): 2573. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2519475/pdf/0505-08.pdf>
5. Ribes JM, Gómez JB. Enfermedades Infecciosas y Microbiológicas Clínica. Elsevier. [internet] 2010 [consultado 15 Nov 2023]; 28 (supl 1): 51-55. Disponible en: <https://www.seimc.org/contenidos/ccs/revisionestematicas/viromicromol/ccs-2008-virologia.pdf>



Etiología viral de la gastroenteritis en niños ingresados en los servicios del Departamento de pediatría del HEODRA, octubre 2021 – noviembre 2022.



6. Granera TG. Caracterización clínico-epidemiológica de diarrea aguda con sospecha por rotavirus en menores de 5 años en Hospital Alemán Nicaragüense UNAN-Managua [Especialista Tesis] 2015-2016. Disponible en: <https://repositorio.unan.edu.ni/4469/>
7. Bucardo F, Nordgren J, Carlsson B, Paniagua M, Lindgren PE, Espinoza F, et al. Pediatric norovirus diarrhea in Nicaragua. J Clin Microbiol. 2008 Aug;46(8):2573-80. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2519475/>
8. Saballos C, Solís OS. Etiología de la diarrea aguda en niños menores de 5 años atendidos en el Hospital Infantil Manuel de Jesús Rivera [Licenciatura Tesis] 2015. Disponible en: <https://repositorio.unan.edu.ni/4369/1/96788.pdf>
9. Bucardo F, Reyes Y, Svensson L, Nordegren J. Predominance of Norovirus and Sapovirus in Nicaragua after Implementation of Universal Rotavirus Vaccination. National Library of Medicine. [internet]. [Consultado 14 nov 2023]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4029982/>
10. Nadja A Vielot, Omar Zepeda, Yaoska Reyes, Fredman González, Christian Toval-Ruíz, Nancy Munguia, Yorling Picado, Sylvia Becker-Dreps, Filemon Bucardo. Transmission Patterns of Norovirus From Infected Children to Household Members in León, Nicaragua [internet] 2024 [consultado 13 feb 2024] <https://academic.oup.com/jpids/advance-article-abstract/doi/10.1093/jpids/piad114/7505165?redirectedFrom=fulltext>
11. Riechmann ER, Barrio J. Diarrea Aguda. España. Asociación Española de Pediatría. 2000. [12/11/2023] Disponible en: [2-diarrea_aguda.pdf \(aeped.es\)](#)



12. Kramer LD. Introducción a las infecciones virales. Manual MSD. [modificado marzo, 2023/ revisado noviembre 2023]. Disponible en: <https://www.msdmanuals.com/es/hogar/infecciones/introducci%C3%B3n-a-las-infecciones-virales/introducci%C3%B3n-a-las-infecciones-virales>
13. Sánchez GJ. Detección y genotipificación de Sapovirus en niños con gastroenteritis aguda. Universidad Peruana Cayetano Heredia. [Master Tesis] 2017. Disponible en: https://repositorio.upch.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12866/972/Deteccion_SanchezGarcia_Gerardo.pdf?sequence=1&isAllowed=y
14. Blandón AP. Detección y caracterización molecular de Sapovirus en niños con gastroenteritis y en cerdos asintomáticos de la ciudad de León. UNAN-León [Master Tesis] 2011. Disponible en: <http://riul.unanleon.edu.ni:8080/jspui/handle/123456789/6020>
15. Centers for Disease Control and Prevention, CDC: Rotavirus [Internet]. [Consultado 13 Nov 2023]. Disponible en: <https://www.cdc.gov/rotavirus/clinical-sp.html>
16. M CE. Evaluación de la Infección de Norovirus murino tipo 1 en linfocitos B esplénicos de ratón. Centro De Investigación Y De Estudios Avanzados Del Instituto Politécnico Nacional. [Master Tesis] 2016. Disponible en: <https://www.seimc.org/contenidos/ccs/revisionestematicas/viromicromol/ccs-2008-virologia.pdf>



17. Sánchez A, Roman E, Colomina J, Wilhelmi I. Características clínicas y microbiológicas de las gastroenteritis por Astrovirus. Control Calidad SIEMC. Pag 2. Disponible en: <https://www.seimc.org/contenidos/ccs/revisionestematicas/viromicromol/Astrivirus.pdf>
18. Ruiz VA, Moreno S. Tratado SEIMC de enfermedades infecciosas y Microbiología Clínica [internet]. Editorial Medica Panamericana 2006. [consultado 15 Nov 2023]. Disponible en url: https://books.google.com.ni/books?id=1FBKR_17ZFsC&pg=PA921&dq=norovirus+sintomas&hl=es-419&newbks=1&newbks_redir=0&source=gb_mobile_search&sa=X&ved=2ahUKEwiBrZ7drMeCAxVLg4QIHbebBwUQ6AF6BAgNEAM#v=onepage&q=norovirus%20sintomas&f=false
19. Giordano MO, Ferreyra LJ, Martínez LC, Isa MB, Pavón JV. Microscopia electrónica: la necesidad de una imagen en el diagnóstico virológico. Revista de la Facultad de Ciencias Médicas, Universidad de Córdoba [internet] 2009 [consultado el 20 nov 2023] Disponible en: https://www.revista2.fcm.unc.edu.ar/Rev.2009_Supl.1/Microscopia_electronica.pdf
20. Josep C. Reacción en cadena de la polimerasa (PCR) a tiempo real. Enferm Infecc Microbiol Clin [internet] 2004 [consultado 20 nov 2023]. 22 (5) p. 299-305. Disponible en: [https://www.ucm.es/data/cont/docs/261-2019-03-22-pr%C3%A1ctica%20DISE%C3%91O%20EXPERIMENTAL%20Y%20AN%C3%81LISIS%20DE%20DATOS%20EN%20LA%20T%C3%89CNICA%20DE%20LA%20RT%20qPCR%20\(1\).pdf](https://www.ucm.es/data/cont/docs/261-2019-03-22-pr%C3%A1ctica%20DISE%C3%91O%20EXPERIMENTAL%20Y%20AN%C3%81LISIS%20DE%20DATOS%20EN%20LA%20T%C3%89CNICA%20DE%20LA%20RT%20qPCR%20(1).pdf)



**Etiología viral de la gastroenteritis en niños ingresados en los servicios del
Departamento de pediatría del HEODRA, octubre 2021 – noviembre 2022.**



21. Yahoska R, Filemón B. Epidemiología molecular de Norovirus en niños con diarrea inmunizados contra Rotavirus. UNAN-León [especialista tesis] 2009-2010. <http://riul.unanleon.edu.ni:8080/jspui/bitstream/123456789/6021/1/223017.pdf>



ANEXOS



Ficha de recolección de datos:



Etiología viral de la gastroenteritis en niños ingresados en los servicios del Departamento de pediatría del HEODRA, octubre 2021 – noviembre 2022.

FICHA RECOLECTORA DE DATOS

Fecha de ingreso: _____

Fecha de revisión: _____

Nombre del tutor(a): _____

Número de teléfono: _____

Código de paciente: _____

Datos del paciente:

Edad: ____

Sexo: __ M __ F

Procedencia: __ Rural __ Urbano

Síntomas:

Vómito: __ Si __ No

Diarrea: __ Si __ No

Fiebre: __ Si __ No

Resultado (screening) de RT-qPCR:

Norovirus: positivo / negativo

Sapovirus: positivo / negativo

Rotavirus: positivo / negativo

Astrovirus: positivo / negativo

Genogrupo: ____



Etiología viral de la gastroenteritis en niños ingresados en los servicios del Departamento de pediatría del HEODRA, octubre 2021 – noviembre 2022.



Carta de solicitud de base de datos estudio NoV Household:

León 16 de febrero del 2024

Dr. Fernando Salazar Antón
Director de la carrera de Bioanálisis Clínico
Área de conocimiento de Ciencias Médicas, UNAN – León
Su despacho:

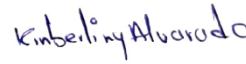
Estimado Dr. Salazar:

Reciba un cordial saludo, en relación al proceso de culminación de estudios en nuestra alma mater y siguiendo los requisitos establecidos para llevar a cabo nuestros estudios monográficos sobre **Etiología viral de la gastroenteritis en niños ingresados en los servicios del departamento de pediatría del HEODRA, octubre de 2021 - noviembre de 2022.**

Deseamos solicitar su autorización y apoyo para acceder y utilizar información de la base de datos del estudio **NoV Household 2021 - 2022**, perteneciente al Departamento de Microbiología y Parasitología de la UNAN – León. Adjuntos ficha recolectora de datos. Agradecemos de antemano su colaboración y quedamos a la espera de su respuesta.

Sin más que agregar, le saluda atentamente,


Br. Nairis Tais Torres Trujillo.
16-01795-0


Br. Kimberling Elena Alvarado Alvarado.
16-00749-0


Lic. Luis Adán Mairena Alvarado

Docente del departamento de microbiología y parasitología UNAN - León.