

---

---

## **Estudio epidemiológico y clínico de las diarreas por rotavirus en niños menores de 5 años atendidos en centros asistenciales del estado Miranda-Venezuela.**

*Rosabel González<sup>1</sup>, Hans Salas-Maronsky<sup>1</sup>, Erick Balebona<sup>2</sup>, José Ramón Martínez<sup>3</sup>, Noris Serrano<sup>2</sup> e Irene Pérez-Schael<sup>1</sup>.*

<sup>1</sup>Laboratorio de Enfermedades Entéricas, <sup>2</sup>Laboratorio de Microbiología, Instituto de Biomedicina y <sup>3</sup>Cardiológico Infantil “Dr. Gilberto Rodríguez Ochoa”. Caracas Venezuela.

**Palabras clave:** Rotavirus, diarrea aguda, genotipificación.

**Resumen.** Con el objeto de conocer la epidemiología y clínica de la infección por rotavirus (RV) tratada de forma ambulatoria, se realizó un estudio en 5 centros (un hospital tipo I y 4 ambulatorios) del estado Miranda, entre febrero 2006 y enero 2007. Se evaluaron 194 niños menores de 5 años con diarrea aguda y se analizaron las siguientes variables: género, edad, estrato socioeconómico, alimentación, estado nutricional, clínica, diagnóstico de RV por Ensayo Inmuno Enzimático (ELISA) y su tipificación G por RT-PCR. La población presentó las siguientes características: 53% de varones,  $17,6 \pm 14,05$  meses de edad (media), 68% de clase obrera y marginal (Graffar 4 y 5), 59% de lactancia materna en el primer año de vida, 13% de desnutrición, 40% de deshidratación y 19% de infección por RV. Los episodios RV positivos se asociaron significativamente a vómitos (94%,  $P < 0,0001$ ) y a desnutrición (30%,  $P = 0,0010$ ) al compararlos con los RV negativos. En los casos deshidratados fue mayor significativamente la desnutrición (21%,  $P = 0,00232$ ) y la presencia de RV (28%,  $P = 0,0407$ ). Encontramos entre la población del hospital y los ambulatorios diferencias respecto al graffar 4 y 5 (90% vs 53%,  $P < 0,0001$ ), desnutrición (23% vs 6%,  $P = 0,006$ ), deshidratación (63% vs 24%,  $P < 0,0001$ ) y RV (27% vs 13%,  $P = 0,027$ ). Se tipificaron 14 cepas RV positivos resultando el 29% de tipo G1, 21% de G3 y 14% de G4. Este estudio sugiere que los RV, en la región estudiada, son causa de diarreas severas asociadas a desnutrición, pobreza y afectan significativamente a la población mayor de un año.

**Epidemiological and clinical study of diarrhea by rotavirus in children < 5 years of age attended in medical centers of the Miranda State, Venezuela.**

*Invest Clin 2008; 49(4): 499 - 510*

**Key words:** Rotavirus, diarrhea, genotyping.

**Abstract.** To have a better knowledge of the epidemiological and clinical aspects of rotavirus (RV) infection treated at out-patient clinics, we carried out a study in five centers (one hospital type I, and four out-patient clinics) of Miranda state, between february 2006 and january 2007. We evaluated 194 children < 5 years old with acute diarrhea and analyzed the following characteristics: gender, age, socioeconomic condition, breastfeeding, nutritional status, clinical characteristics, rotavirus diagnosis and typing by Enzyme Linked immuno Sorbent Assay (EISA) and G typing by RT-PCR, respectively. The population presented the following characteristics: 53% males; mean age,  $17.6 \pm 14.05$  months; 68% belonged to worker and marginal class (Graffar 4 and 5); 59% were breast-fed during their first year of life; 13% were malnourished; 40% were dehydrated and 19% were infected with RV. RV infection was significantly and more frequently associated with vomiting (94%,  $P < 0,0001$ ) and malnourishment (30%,  $P = 0,0010$ ) than the episodes negative for rotavirus. In dehydrated cases, significantly greater malnourishment (21%,  $P = 0,0232$ ) and RV (28%,  $P = 0,0407$ ). We found significant differences between the hospital and out-patient clinics, in terms of Graffar 4 and 5 (90% vs 53%,  $P < 0,0001$ ), malnourished (23% vs 6%,  $P = 0,006$ ), dehydration (63% vs 24%,  $P < 0,0001$ ) and RV (27% vs 13%,  $P = 0,027$ ). Fourteen samples RV positive were genotyped and the G types were 29% G1, 21% G3 and 14% G4 types. This study suggests that RV cause severe diarrhea associated to malnutrition and poverty and significantly affect the population older than one year of age in the region studied.

*Recibido: 17-09-2007. Aceptado: 27-03-2008.*

## INTRODUCCIÓN

Los Rotavirus (RV) son la causa más frecuente de diarrea aguda en Venezuela y en el mundo (1-4). Este agente ocasiona anualmente 114 millones de episodios de diarrea, 23 millones de visitas ambulatorias y más de 2,4 millones de hospitalizaciones (3, 4). En los países pobres, la diarrea por RV es la primera causa de muerte en los niños menores de cinco años, estimándose que mueren alrededor de 600.000 niños,

cada año, por este virus (4). En Venezuela, la infección por RV es la primera causa de diarrea en niños menores de 5 años, es el responsable del 3% de todas las hospitalizaciones y es la primera causa de muerte por diarrea en la población menor de 5 años, con un impacto importante (2%) en las muertes por todas las causas (5, 6).

RV pertenece a la familia *Reoviridae* y posee una estructura formada por tres capas concéntricas que engloban el material genético, el cual es ARN segmentado y de

doble cadena (7, 8). La capa externa está formada por dos proteínas VP7 y VP4, las cuales son altamente inmunogénicas e inducen la producción de anticuerpos neutralizantes. Debido a que los dos genes que codifican a las proteínas VP7 y VP4 son independientes se ha creado un sistema binario de clasificación (G-P) de los RV para designar la especificidad de ambas proteínas. La VP4 es sensible a la actividad de la proteasa y por esta razón sus variantes se denominan tipos P mientras que los tipos de la proteína VP7 se llaman G porque esta es una glicoproteína (8). Las combinaciones G-P pueden ser teóricamente muchas o más de 100, pero sólo cinco combinaciones son las más frecuentes en el mundo: G1, G3, G4, G9 con P[8] y G2 P[4] (9, 10). Gracias a los avances de la biología molecular se registran cada día tipos virales menos comunes, sobre todo en los países más pobres (9-13). Debido al gran impacto que causa la infección por RV en el mundo, muchos esfuerzos se han dirigido hacia el desarrollo de vacunas y su introducción en los países donde más se necesitan. En el año 2006, fueron aprobadas dos nuevas vacunas contra el RV: Rotateq™ y Rotarix™ (14, 15). En Venezuela, en abril del año 2006, la vacuna Rotarix™ fue incorporada al Programa Ampliado de Inmunizaciones (PAI) para su aplicación masiva. La clave para el éxito de este programa radica en la implementación de sistemas de vigilancia que generen datos en forma sistemática que permitan conocer la morbilidad y carga de la infección para garantizar la previsión precisa de la demanda y poder monitorear el impacto de la vacuna.

Los trabajos realizados en Venezuela sobre la diarrea aguda por RV nos han permitido conocer las características epidemiológicas, clínicas e inmunológicas de la enfermedad en el país y han servido de base para los estudios clínicos con la vacuna antirrotavirus (1, 2, 5, 16-18). Estos estudios se han realizado en ambientes hospitalarios

debido a que la infección está asociada comúnmente a deshidratación y hospitalización (2, 5, 17, 18). Sin embargo, dada la variabilidad existente en la presentación clínica de la enfermedad por RV que va desde infecciones asintomáticas hasta casos con manifestaciones clínicas severas y en ocasiones fatales (19), es interesante conocer las características de la diarrea por RV en los niños que son atendidos en los centros ambulatorios ubicados en áreas no-urbanas del país. Este artículo describe los aspectos demográficos y las manifestaciones clínicas de la diarrea por RV atendida en centros ambulatorios del estado Miranda, Venezuela y su comparación con las características de la enfermedad en un Hospital tipo I de la región.

## MATERIALES Y METODOS

### Área y población de estudio

El estudio fue realizado en el estado Miranda, ubicado en el centro-norte de Venezuela, con una superficie de 7.950 Km<sup>2</sup> y 21 municipios. La población estudiada reside en 4 municipios: Brión, Buróz, Andrés Bello y Páez, los cuales están localizados en la región costera del estado. Las características de los municipios del estudio se describen en la Tabla I. En estos 4 municipios se registra el 6% (38.620) de los episodios de diarrea en los niños menores de 5 años del estado Miranda.

Entre febrero de 2006 y enero de 2007, se estudiaron 194 casos de diarrea aguda en niños menores de 5 años que asistieron a los ambulatorios de Birongó (Municipio Brion), Medicentro Mamporal (Municipio Buróz), San José de Barlovento (Municipio Andrés Bello), Tacarigua (Municipio Andrés Bello) y el Hospital tipo I "Ernesto Regener" (Municipio Páez). Los niños del estudio, después de haber obtenido el consentimiento informado del representante, fueron evaluados clínicamente y sus datos (edad, sexo, estatus socioeconómico, fiebre,

**TABLA I**  
CARACTERÍSTICAS DE LAS ÁREAS DE ESTUDIO

Municipio	Pobreza (%) *		Nº de casos de diarrea**			Hospitales Tipo I
	Total	Extrema	< 1 año	1-4 años	< 5 años	
Brión	34	9	440	701	1141	1
Buroz	31	7	58	116	174	0
Andrés Bello	36	9	161	213	374	0
Páez	38	12	282	396	678	1
Edo. Miranda	27	7	15.485	23.135	38.620	7

\*Fuente: Instituto Nacional de Estadística. Censo 2001.

\*\*Fuente: Dirección de Ordenamiento Territorial y Estadística-Gobierno Bolivariano de Miranda.

vómitos, grado de deshidratación, presencia de sangre macroscópica en las heces, tipo de alimentación y estado nutricional) fueron registrados en la historia clínica. Además, una muestra de heces fue tomada para el análisis de RV. El estatus socioeconómico se calculó mediante el método de Graffar modificado (20), el grado de deshidratación se diagnosticó de acuerdo a los criterios de la Organización Mundial de la Salud (21) y el estado nutricional se determinó de acuerdo a las tablas de crecimiento de peso y talla para la edad (22). Un episodio de diarrea aguda fue definido como la presencia de tres o más evacuaciones de consistencia alterada (líquida o semilíquida) con una duración no mayor de 14 días.

Definición de caso: Todos los niños menores de 5 años que consultaron por diarrea aguda (de acuerdo a la definición) en los ambulatorios antes descritos.

#### Análisis de RV

Las muestras de heces fueron recolectadas de cada niño y congeladas a  $-20^{\circ}\text{C}$  hasta su procesamiento. RV fue identificado mediante la técnica de Ensayo Inmuno Enzimático (EIA) directa pre-post comercial (ELISA-Fundación Venezolana para el Estudio de la Salud Infantil –FUVESIN– Productos Biológicos) desarrollada en el Instituto de Biomedicina (5, 23).

#### Extracción del ácido nucleico y tipificación G de los RV

Para la extracción del ARN (ARNdc) viral se utilizó la metodología de Chomezynski y Sacchi (24) con algunas modificaciones: El ARN se extrajo utilizando Trizol (Invitrogen). La separación de la fase acuosa (que contiene el ARN viral) de la orgánica se realizó con cloroformo y el ARN recuperado se precipitó con alcohol isopropílico. Luego de la centrifugación, el pellet se lavó con etanol al 75% y se diluyó en agua destilada libre de ARNsas (Gibco).

Los genotipos G se determinaron mediante transcripción inversa y reacción en cadena de la polimerasa (RT-PCR) multiplex anidada. Se utilizaron los primers (cebadores) descritos por Gouvea (25): Beg9 (5'GGCTTTAAAAGAGAGAATTTCCGTCTGG3') y End 9 (5'GGTCACATCATAACAATTCTAATCTAAG3') para amplificar el gen de la proteína VP7 y la mezcla de los siguientes primers para la tipificación G, BT1(G1): 5'CAAGTACTCAAATCAATGATGG3', CT2 (G2): 5'CAATGATATTAACACATTTTCTGTG3', ET3(G3): 5'CGTTTGAAGAAGTTGCAACAG3', DT4(G4): 5'CGTTTCTGGTGAGG AGTTG3', AT8(G8): 5'GTCACACCATTTGTAAATTCG 3', FT9(G9): 5'CTAGATGTAACACTACAACACTAC3', y RVG9: 5'GGTCACATCATAACAATTCT3'. Se utilizó un estuche comercial (SS one step RT-PCR, INVITROGEN) que permitió reali-

zar la primera ronda RT-PCR (amplificación del gen de la proteína VP7) en un solo tubo. El ARN extraído (5  $\mu$ L) se añadió a la mezcla de reacción compuesta por: 25  $\mu$ L de buffer 2X (SS one step RT-PCR, INVITROGEN), 5  $\mu$ L (1  $\mu$ M) de cada primers (Beg9 y End9), 1  $\mu$ L de la mezcla de enzimas RT/Tag (SS one step RT-PCR, INVITROGEN), 1  $\mu$ L de inhibidor de la RNasa (Invitrogen) y agua libre de ARNasa (Gibco) hasta completar un volumen final de 50  $\mu$ L. Los tubos se colocaron en el termociclador (iCycler) bajo las siguientes condiciones: incubación inicial a 45°C por 1 hora, 94°C por 1 min; 30 ciclos de PCR (94°C por 1 min, 42°C por 2 min, 72°C por 3 min); incubación final a 72°C por 10 min, 4°C por tiempo indefinido. En la segunda ronda, el producto de la reacción RT-PCR se utilizó como templado en un PCR multiplex. El ADN (5  $\mu$ L) fue agregado a la mezcla de reacción constituida por: buffer 10x (Invitrogen); 1,5 nM MgCl<sub>2</sub> (Invitrogen); 0,2 nM DNTPs (Applied Biosystems); 1 uM de cada primers (BT1, CT2, ET3, DT4, AT8, FT9, RVG9); 5 u de la enzima Tag ADN polimerasa (Invitrogen) y agua hasta completar un volumen final de 50  $\mu$ L. Los tubos se colocaron en el termociclador (iCycler) bajo las siguientes condiciones: incubación inicial a 94°C por 3 min; 25 ciclos de PCR (94°C por 1 min, 42°C por 2 min, 72° C por 1 min); incubación final 72°C por 7 min, 4°C por tiempo indefinido. Los productos amplificados se cargaron en geles de agarosa (Maxim Biotech) al 1%, en buffer Tris-borato (0,089 M Tris, 0,089 M ácido bórico, 0,002 M EDTA, pH 8,3), conteniendo 0,5  $\mu$ g/mL de bromuro de etidio, a 90 V por 30 a 45 minutos y las bandas fueron visualizadas bajo luz ultravioleta.

### Análisis estadístico

Los datos se registraron y procesaron en Microsoft Access y EXCEL en ambiente Windows. Los datos fueron analizados me-

diantes estadística descriptiva y las proporciones se compararon mediante tablas de contingencia utilizando la Prueba exacta de Fisher (2 colas y un intervalo de confianza (IC) de 95%). Las medias de las variables numéricas (edad), se compararon mediante la prueba t de Student (2 colas, 95% IC).

## RESULTADOS

### Características demográficas de la población estudiada

Se evaluaron 194 niños menores de 5 años que cumplieron con la definición de caso. Las características demográficas y clínicas de la población se muestran en la Tabla II. El 53% (103) de los niños fueron varones y el 68% (129/189) perteneció a la clase obrera y marginal (estratos sociales 4 y 5 por Graffar). La media de edad de la población fue 17,6  $\pm$  14,05 meses, predominando significativamente ( $P < 0,001$ ) los niños con edades  $\geq 1$  año (60%; 117/194) versus los niños  $< 1$  año (40%; 77/194). Una alta proporción (59%; 45/76) de niños  $< 1$  año recibieron lactancia materna, siendo significativa esta diferencia cuando se comparan con los que no recibieron lactancia materna (41%; 31/76) ( $P = 0,0346$ ). Un alto porcentaje (40%) de niños presentó deshidratación (77/193) y en el 13% (24/184) de los casos fue diagnosticado algún tipo de desnutrición.

### Identificación de RV en las muestras recolectadas

Se logró recolectar muestra de heces en 160 niños (82%) y RV fue identificado en 19% (31/160) de los casos de diarrea evaluados. La distribución de RV por centro de atención fue la siguiente: 8% (2/24) en el ambulatorio de Birongo, 9% (2/23) en Medicentro de Mamporal, 17% (2/12) en Barlovento, 19% (5/26) en Tacarigua y 27% (20/74) en el Hospital tipo I "Ernesto Reñer".

**TABLA II**  
 CARACTERÍSTICAS DEMOGRÁFICAS, CLÍNICAS Y ETIOLÓGICAS DE LA DIARREA AGUDA EN NIÑOS < 5 AÑOS ATENDIDOS EN CENTROS ASISTENCIALES DEL ESTADO MIRANDA

Característica	Hospital tipo I	Ambulatorios	Población total	P*
Nº de casos	80	114	194	
Género				
Masculino	50(40)**	55(63)	53(103)	0,559
Femenino	50(40)	45(51)	41(91)	
Edad (meses)				
0-11	39(31)	40(46)	40(77)	0,881
12-23	33(26)	35(40)	34(66)	0,759
24-59	29(23)	25(28)	26(51)	0,513
Media ± DS	19,55 ± 18,83	16,37 ± 12,56	17,66 ± 14,05	0,121
Estrato socioeconómico				
Alta y media	10(8/79)***	47(52/110)	32(60/189)	<0,0001
Obrera y marginal	90(71/79)	53(58/110)	68(129/189)	
Lactancia materna				
< 6 meses	79(11/14)	68(15/22)	72(26/36)	0,706
≤ 11 meses	63(19/30)	57(26/46)	59(45/76)	0,636
Desnutrición	23(18/77)	6(6/107)	13(24/184)	0,006
Deshidratación	63(50/80)	24(27/113)	40(77/193)	<0,0001
% de rotavirus	27(20/74)	13(11/86)	19(31/160)	0,027

\* Prueba exacta de Fisher (2 colas, 95% IC) para la comparación entre la población atendida en el hospital versus la atendida en los ambulatorios. Prueba de t de Student (2 colas y, 95% IC) para la comparación de las medias de las edades entre la población atendida en el hospital vs la atendida en los ambulatorios.

\*\* % (Nº de casos).

\*\*\* % (Nº de casos / Nº de niños evaluados).

#### Comparación de las características demográficas, clínicas y etiológicas de las poblaciones estudiadas por centro atención (ambulatorios y hospital tipo I)

De los 194 casos de diarrea estudiados, 80 (41%) fueron atendidos en el hospital y 114 (59%) en los ambulatorios (Tabla II). La distribución de género, edad y práctica de lactancia materna fue similar en ambos grupos (hospitalizados vs ambulatorios) de acuerdo a la siguiente distribución por grupo estudiado: género masculino (50%

versus 55%); edad < 1 año (31% versus 46%); media de edad + DS (19,55 ± 15,83 versus 16,37 ± 12,56) y práctica de lactancia materna en niños < 1 año (63% versus 57%). En cambio, la frecuencia de población obrera y marginal, desnutrición, deshidratación y RV fue significativamente mayor en la población atendida en el hospital: clase obrera y marginal (90% versus 53%); desnutrición (23% versus 6%), deshidratación (65% vs 24%) y porcentaje de RV (27% versus 13%).

### **Clínica de la diarrea causada por RV**

Los casos de RV presentaron 57% (17/30) de deshidratación, 94% (29/31) de vómitos, 50% (15/30) de fiebre y en ningún episodio fue reportado sangre en heces. Cuando se comparan la clínica de los casos RV positivos con los casos negativos no se encontraron diferencias significativas, exceptuando en los vómitos que fueron mas frecuentes ( $P < 0,001$ ) en los RV positivos (94%) y en la desnutrición que fue significativamente mayor ( $P = 0,0010$ ) en los niños con RV (30%; 8/27).

La media de edad en los niños que presentaron diarrea por RV fue similar a los que se enfermaron por otras causas ( $17,55 \pm 14$  meses vs.  $17,62 \pm 14,17$ ).

### **Asociación entre la severidad del cuadro diarreico y las variables estudiadas**

Se evaluaron las variables estudiadas en relación a la presencia de deshidratación como indicador de severidad y se comparó la frecuencia de cada variable entre los casos severos (deshidratados) y los casos no severos (no deshidratados). Solamente mostraron diferencias significativas la presencia de desnutrición y RV. Se encontró 21% (15/72) de desnutrición en los niños deshidratados versus 8% (9/111) en los niños no deshidratados ( $P = 0,0232$ ) y 28% (18/65) de RV en los niños deshidratados versus 14% (13/95) en los no deshidratados ( $P = 0,0407$ ). No se encontraron diferencias para el género, edad, práctica de lactancia materna y estrato socio-económico entre casos severos y no severos.

### **Distribución de RV de acuerdo a las variables estudiadas**

En la Tabla III se muestra la distribución de RV de acuerdo al género, edad, estrato socio-económico, práctica de lactancia materna, estado nutricional y presencia de deshidratación. Se encontró una frecuencia similar de RV por género (18% en

el grupo masculino versus 21% en el femenino;  $P = 0,6821$ ), por grupo de edad (17% en  $< 1$  año, 25% en el grupo de 12-23 meses y 15% en los de 24-59 meses) y según la práctica de lactancia materna en niños  $< 1$  año (16% en los niños con lactancia materna versus 12% en los niños que no lactaron;  $P = 0,7247$ ) mientras que la prevalencia de RV fue significativamente mayor en la clase obrera y marginal (24% versus 9%;  $P = 0,0449$ ), en los niños desnutridos (44% versus 14%;  $P = 0,0051$ ) y en los casos deshidratados (28% versus 14%;  $P = 0,0407$ ).

### **Genotipificación de RV**

En este estudio se estandarizó la prueba de RT-PCR anidada para tipificar RV y se caracterizó el tipo G de las cepas de RV aisladas en una sub-muestra de 14 RV positivos aislados en el hospital. El tipo G1 fue el mas frecuente (29%, 4/14), seguido por G3 con 21% (3/14) y G4 con 14% (2/14). No se detectó ni el tipo G2 ni G9 y no se pudo tipificar el 36% (5/14) de las cepas analizadas.

## **DISCUSIÓN**

La aplicación masiva de la vacuna anti-rotavírica es importante debido al impacto que tienen los RV en la salud pública mundial. En consecuencia, es necesario evaluar la epidemiología de los RV en distintos ambientes para estimar el potencial impacto de la vacuna, particularmente en Venezuela, donde la vacuna Rotarix™ fue incorporada recientemente (abril 2006) en el Programa Ampliado de Inmunización (PAI). Este estudio describe el comportamiento de la epidemiología y clínica de la diarrea por RV en pacientes tratados de forma ambulatoria ya que la mayoría de los estudios publicados en el país han sido realizados en hospitales que atienden a una población urbana cuyo motivo de consulta es la enfermedad en sus formas más severas.

**TABLA III**  
**FRECUENCIA (%) DE ROTAVIRUS (RV) DE ACUERDO A LAS VARIABLES ESTUDIADAS**  
**EN LA POBLACIÓN < DE 5 AÑOS CON DIARREA AGUDA.**

VARIABLES	% (N° RV/N° casos)	P*
<b>Género</b>		
Masculino	18(19/103)	0,6821
Femenino	21(12/57)	
<b>Edad (meses)</b>		
0-11	17(11/64)	
12-23	25(14/55)	
24-59	15(6/41)	
<b>Estatus socioeconómico</b>		
Alta y media	9(4/46)	0,0449
Obrero y marginal	24(27/114)	
<b>Niños con lactancia materna</b>		
< 6 meses	10(2/21)	0,2020
7 a 23 meses	31(5/16)	
<b>Desnutrición</b>		
Eutróficos	14(19/132)	0,0051
Desnutridos	44(8/18)	
No- deshidratados	14(13/95)	0,0407
Deshidratados	28(18/65)	

\* Prueba exacta de Fisher (2 colas, 95% IC) para la comparación de RV por variable.

El porcentaje de RV detectado en la población (19%) fue similar al reportado en niños tratados ambulatoriamente en otros estudios realizados en el país (2, 5).

La frecuencia de RV en varones fue ligeramente mayor (53%) como se ha reportado en varios estudios en Venezuela y otros países (18, 26, 27). En cambio, la media de edad de 17,6 ± 14,05 meses es más alta que la observada en anteriores estudios venezolanos (2, 5, 6, 18). El patrón de edad notado en esta población sugiere que los niños se enferman con más frecuencia en el segundo y tercer año de la vida como ocurre en poblaciones más desarrolladas y contrasta con lo publicado en el país donde la mayor morbilidad y mortalidad por diarrea

ocurre en niños menores de 1 año (2, 6, 18). Posiblemente esto se deba a distintas causas (no exploradas en este trabajo) relacionadas con las condiciones y densidad de población que pudieran dificultar la transmisión de los agentes infecciosos, así como también puede deberse a la mayor práctica de la lactancia materna (59% en el primer año de vida). Sin embargo, este patrón de edad asociado a diarrea es similar a la morbilidad registrada para todo el país (28).

De acuerdo a la severidad de la enfermedad, la población fue dividida en 2 grupos para su análisis: un grupo formado por los centros ambulatorios (Birongo, Mamporal, Barlovento y Tacarigua) y un segundo grupo que correspondió a la población aten-

didada en el Hospital tipo I (Tabla II). No se encontraron diferencias entre los dos grupos de población en cuanto al género, edad y práctica de lactancia materna. Sin embargo, la frecuencia de niños de estratos sociales más bajos (clase obrera y marginal), con desnutrición, deshidratación y porcentaje de RV fue significativamente mayor en los niños que acudieron al hospital tipo I que en aquellos que recibieron atención médica en los ambulatorios. En el hospital, el 90% de los niños del estudio pertenecía a las clases obrera y marginal, el 23% eran desnutridos, el 63% estaban deshidratados y 27% de los niños presentaron diarrea por RV. Entre estas características, solamente la desnutrición y los RV estuvieron asociados a cuadros severos (definidos como los episodios con deshidratación), hecho similar a un estudio venezolano que demostró que la desnutrición y los RV son factores de riesgo para deshidratarse por diarrea (29). Estos resultados indican que la población más severamente enferma acudió al hospital tipo I para recibir atención médica. En este trabajo, no se encontró ninguna asociación entre severidad de las diarreas por RV y la edad del niño como ha sido reportado en otros trabajos, particularmente en Venezuela, donde se ha observado que las diarreas más severas por RV ocurren en el primer año de vida (2, 5, 6, 18, 29, 30). La severidad de las diarreas tratadas en el hospital coincide también con la pobreza de los niños enfermos y de la población que reside en el municipio donde está ubicado el hospital (Tabla I). También se corresponde con la significativamente mayor frecuencia de desnutrición observada en esta población. Sin embargo, no se encontró diferencia con respecto a la lactancia materna entre ambas poblaciones, lo que sugeriría que la lactancia materna no es un factor de protección contra la severidad de la diarrea en esta población. De hecho, la alta proporción de niños enfermos con diarrea que estaban ali-

mentados con leche materna confirma lo anteriormente dicho. Esto pudiera estar relacionado con la edad de la población ya que en algunos estudios se ha reportado que el efecto positivo de la lactancia materna es fundamentalmente en los primeros 6 meses de vida (31, 32).

Los RV fueron identificados con significativa mayor frecuencia en los estratos más bajos (24% versus 9%), en los niños desnutridos (44% versus 14%) y en los casos deshidratados (28% versus 14%). Lo que sugiere que, los RV se asocian con pobreza, desnutrición y deshidratación. La diarrea por RV se caracterizó por presentar deshidratación (57%), vómitos (94%), fiebre (50%) pero en ningún caso fue reportada sangre en las heces. Esta clínica es similar a la publicada en otros estudios del país (2, 5, 18) donde reportaron: deshidratación (29%-58%), vómitos (78%-81%), fiebre (30%-57%) y sangre (5%-8%). No hubo diferencias entre la clínica de la diarrea por RV y la clínica de los episodios que presentaron otra etiología con excepción a los vómitos (datos no mostrados). Resultados similares han sido descritos en otras poblaciones (26) y esto solamente confirma que la causa más común del fracaso en la aplicación de la rehidratación oral para tratar la diarrea por RV se debe fundamentalmente a los vómitos, lo que demuestra la importancia de una vacuna para el control de los RV. Tampoco se observó ninguna diferencia entre la edad de los niños con diarrea por RV y por otras causas (datos no presentados). Se ha postulado que la edad a la que se enferman por primera vez los niños es mayor en ambientes donde el RV circula con marcada estacionalidad que en aquellos lugares donde el virus circula durante todo el año donde la población está expuesta a la infección permanentemente (33).

La frecuencia de los tipos G encontrados en este estudio es similar a la encontrada en otros lugares (9, 13): G1 (29%), G3

(25%) y G4 (14%). El porcentaje de cepas no tipificadas (36%) se ubica en el rango de lo reportado en la literatura (9). En este trabajo se tipificaron pocas cepas virales, lo que no permite llegar a conclusiones definitivas. Sin embargo, cada vez es más evidente la aparición de nuevos tipos virales como el G9 y, aunque, no fue identificado en esta zona, trabajos recientes indican que ya ha aparecido el G9 en el país (datos no publicados).

Los resultados de este estudio tienen implicaciones importantes en el conocimiento de la diarrea por RV en Venezuela. La media de edad de la población resultó mayor a la reportada en otros estudios realizados en el país. Al comparar las poblaciones del hospital con la de los ambulatorios encontramos diferencias respecto al porcentaje de RV, deshidratación, desnutrición y estrato socioeconómico. Estas diferencias marcan la necesidad de conocer en cada región las características clínicas, epidemiológicas y etiológicas de la diarrea en los niños menores de 5 años. La infección por RV en el estudio estuvo asociada a deshidratación y vómitos en un alto porcentaje lo que refleja la severidad de la infección. RV es la causa más común de deshidratación severa en niños tanto en los países desarrollados como en los más pobres. Por este motivo la enfermedad no será controlada solamente con el mejoramiento de la calidad del agua y medidas sanitarias o de higiene hay que introducir nuevas estrategias como la aplicación de vacunas. La vacunación es reconocida como la única medida para disminuir la incidencia de los episodios severos por RV. Pero la clave para el éxito de la vacuna contra el RV recientemente introducida en Venezuela, es la creación de sistemas robustos de vigilancia para la generación de datos sistemáticos sobre la carga de la morbilidad y la frecuencia de los tipos virales circulantes. Esto permitirá medir el

impacto de la vacuna y evaluar la posible presión selectiva que esta ejerza sobre los distintos tipos virales.

### AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a los siguientes Médicos-Cirujanos por su valiosa asistencia durante la pasantía rural (fase ambulatoria del Internado Rotatorio de Pregrado) sede Río-Chico- Higuerote de la Escuela de Medicina "Luis Razetti" de la UCV: Lisbeth Bitar, Débora Bolívar, Ninoska Hernández, Aura Macias, Carlos Martínez, Higinia Mendoza, Pedro Monsalve, Estefanía Oliveros, Verónica Ríos, José Trujillo, Simón Vegas, Gabriela Vélez, Juan Peraza, María Pérez.

Este estudio fue parcialmente financiado por el proyecto FONACIT N° IB-G2005000371 y fue presentado en las XXXI Jornadas Venezolanas de Microbiología.

### REFERENCIAS

1. **Pérez-Schael I.** The impact of rotavirus disease in Venezuela. *J Infect Dis* 1996; 174:S19-21.
2. **Pérez-Schael I, González R, Fernández R, Alfonso E, Inaty D, Boher Y, Sarmiento L.** Epidemiological features of rotavirus infection in Caracas, Venezuela: Implications for rotavirus immunization programs. *J Med Virol* 1999; 59:520.
3. **Parashar UD, Hummelan EG, Bresee JS, Miller MA, Glass RI.** Global illness and deaths caused by rotavirus disease in children. *Emerg Infect Dis* 2003; 9:565-572.
4. **Parashar UD, Gibson CJ, Bresse JS, Glass RI.** Rotavirus and severe childhood diarrhea. *Emerg Infect Dis* 2006; 12:304-306.
5. **Salinas B, González G, González R, Escalona M, Materán M, Pérez Schael I.** Epidemiologic and clinical characteristics of rotavirus disease during five years of surveillance in Venezuela. *Pediatr Infect Dis J* 2004; S161-167.
6. **Pérez-Schael I, Salinas B, González R, Salas H, Ludert JE, Escalona M, Alcalá A,**

- Rosas MA, Materán M. Rotavirus mortality confirmed by etiologic identification in Venezuelan children with diarrhea. *The Pediatric Infect Dis* 2007; 26:393-397.
7. Estes MK, Cohen J. Rotavirus gene structure and function. *Microbial Reviews* 1989; 53: 410-449.
  8. Mattion NM, Cohen J, Estes MK. The rotavirus proteins. In: *Viral infections of the gastrointestinal tract*. 2<sup>nd</sup> ed. Maecel Dekker, Inc., New York; 1994. P 169-249.
  9. Santos N, Hoshino Y. Global distribution of rotavirus serotypes/genotypes and its implication for the development and implementation of an effective rotavirus vaccine. *Rev Med Virol* 2005; 15:29-56.
  10. Castello AA, Argüelles MH, Rota RP, Olthoff A, Jiang B, Glass RI, Gentsch JR, Glikmann G. Molecular epidemiology of group A rotavirus diarrhea among children in Buenos Aires, Argentina, from 1999 to 2003 and emergence of the infrequent genotype G12. *J Clin Microbiol* 2006; 44: 2046-2050.
  11. Gouvea V, De Castro L, Do Carmo M, Greenberg H, Santos N. Rotavirus serotype G5 associated with diarrhea in Brazilian children. *J Clin Microbiol* 1994; 32:1408-1409.
  12. Das B, Gentsch JR, Cicirello HG, Woods PA, Gupta A, Ramachandran M, Kumar R, Bhan MK, Glass RI. Characterization of rotavirus strains from newborns in New Delhi, India. *J Clin Microbiol* 1994; 32: 1820-1822.
  13. Griffin DD, Kirkwood CD, Parashar UD, Woods PA, Bresse JS, Glass RI, Gentsch JR, and The National Rotavirus Strain Surveillance System Collaborating Laboratories. Surveillance of rotavirus strains in the United States. Identification of unusual strains. *J Clin Microbiol* 2000; 38: 2784-2787.
  14. Vesikari T, Matson DO, Dennehy P, Van Damme P, Santosham Rodríguez Z, Dallas MJ, Heyse JF, Goveia MG, Black SB, Shinefield HR, Christie CD, Ylitalo S, Itzler RF, Coia ML, Onorato MT, Adeyi BA, Marshall GS, Gothefors L, Campens D, Karvonen A, Watt JP, O'Brien KL, DiNubile MJ, Clark HF, Boslego JW, Offit PA, Heaton PM. Safety and efficacy of a pentavalent human-bovine (WC3) reassortant rotavirus vaccine. *N Engl J Med* 2006; 354:23-33.
  15. Ruiz-Palacios GM, Perez-Schael I, Velazquez FR, Abate H, Breuer T, Clemens SC, Cheuvart B, Espinoza F, Gillard P, Innis BL, Cervantes Y, Linhares AC, Lopez P, Macias-Parra M, Ortega-Barria E, Richardson V, Rivera-Medina DM, Rivera L, Salinas B, Pavia-Ruz N, Salmeron J, Ruttimann R, Tinoco JC, Rubio P, Nunez E, Guerrero ML, Yazabal JP, Damaso S, Tornieporth N, Saez-Llorens X, Vergara RF, Vesikari T, Bouckennooghe A, Clemens R, De Vos B, O'Ryan M, Human Rotavirus Vaccine Study Group. Safety and efficacy of an attenuated vaccine against severe rotavirus gastroenteritis. *N Engl J Med* 2006; 354: 11-22.
  16. White L, García D, Boher Y, Blanco M, Pérez M, Romer H, Flores J, Pérez-Schael I. Temporal distribution of human rotavirus serotypes 1,2,3 and 4 in Venezuelan children with gastroenteritis during 1979-1989. *J Med Virol* 1991; 34:79-84.
  17. Maldonado AJ, Bastardo JW. Epidemiología molecular de rotavirus humanos en Cumaná, Venezuela. *Acta Cient Venez* 1992; 43:368-372.
  18. Urrestarazu M, Liprandi F, Pérez-Suarez E, González R, Pérez-Schael I. Características etiológicas, clínicas y sociodemográficas de la diarrea aguda en Venezuela. *Pan Am J Public Health* 1999; 78(6):149-156.
  19. Kapikian Albert Z, Hoshino Y, Chanock RM. Rotaviruses. In: Knipe DM, Howley PM, eds. *Fields Virology*. 4th ed. Philadelphia, PA: Lippincott Williams & Wilkins; 2001:1787-1833.
  20. Méndez-Castellano H, De Méndez MC. Estratificación social y biología humana: método Graffar modificado. *Arch Venez Puere Pediatr* 1986; 49:93-104.
  21. World Health Organization (WHO). *A Manual for the treatment of diarrhea: for use by physicians and other senior health workers*. Geneva: World Health Organization; 1990.

22. **World Health Organization (WHO)**. Who child growth standards 2006. Available on: [www.who.int/chilgrowth/en](http://www.who.int/chilgrowth/en).
23. **Gonzalez R**. Rotavirus. Manual de laboratorio. Coedición FUVESIN/INSALUD. ISBN: 980-07-6177-2. Venezuela. 1999.
24. **Chomezynski P, Sacchi N**. Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction. *Anal Biochem* 1987; 162: 156-159.
25. **Gouvea V, Glass RI, Woods P, Taniguchi K, Clark HF, Forrester B, Fang Zhao-Yin**. Polymerase chain reaction amplification and typing of rotavirus nucleic acid from stool specimens. *J Clin Microbiol* 1990; 28:276-282.
26. **Man NV, Trang NV, Lien HP, Trach DD, Hien Thanh NT, Tu PV, Long NT, Luan LT, Ivanoff B, Gentsch JR, Glass RI and the Vietnam Rotavirus Surveillance Network**. The epidemiology and disease burden of rotavirus in Vietnam: sentinel surveillance at 6 hospitals. *J Infect Dis* 2001; 183:1707-1712.
27. **Banerjee I, Ramani S, Primrose B, Moses P, Iturriza-Gomara M, Gray JJ, Shabbar J, Bindhu M, Prakash J, Brown DW, Estes MK, Kang G**. Comparative study of the epidemiology of rotavirus in children from a community-based birth cohort and a hospital in South India. *J Clin Microbiol* 2006; 44:2468-2474.
28. **MPPS** Boletines epidemiológicos 2006 disponible en: [www.mpps.gob.ve](http://www.mpps.gob.ve)
29. **Salas H, Pérez-Schael I, Salinas B, Tomat M, González, R**. Rotavirus is a risk factor for dehydration due to diarrhea in children <5 years of age. VII Simposio Internacional sobre Rotavirus. Junio 12-13, 2006. Lisboa, Portugal.
30. **Cunliffe NA, Kilgore PE, Bresee JS, Steele AD, Luo N, Hart CA, Glass RI**. Epidemiology of rotavirus diarrhoea in Africa: a review to assess the need for rotavirus immunization. *Bull WHO* 1998; 76:525-537.
31. **Yoon PW, Black RE, Moulton LH, Becker S**. Effect of not breastfeeding on the risk of diarrheal and respiratory mortality in children under 2 years of age in Metro Cebu, The Philippines. *Am J Epimiol* 1996; 143:1142-1448.
32. **Glass RI, Stoll BJ, Wyatt RG, Hoshino Y, Banu H and Kapikian AZ**. Observations questioning a protective role for breast-feeding in severe rotavirus diarrhea. *Acta Pediatr Scand* 1986. 1986; 75:713-718.
33. **Bresee JS, Glass RI, Ivanoff B, Gentsch JR**. Current status and future priorities for rotavirus vaccine development, evaluation and implementation in developing countries. *Vaccine* 1999; 17:2207-2222.