



# Conducta terapéutica de los médicos ante el resultado de las pruebas de detección de patógenos en niños con diarrea aguda

 Yamilet Hernández-Avendaño,<sup>1</sup> Sergio Díaz-Madero,<sup>2,\*</sup>

 Mario Enrique Rendón-Macías,<sup>3</sup> José Iglesias-Leboreiro,<sup>1,2</sup> Isabel Bernárdez-Zapata<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Facultad Mexicana de Medicina, Universidad La Salle; <sup>2</sup> Hospital Español de México, Departamento de Pediatría; <sup>3</sup> Unidad de Investigación en Epidemiología Clínica, Hospital de Pediatría, Centro Médico Nacional Siglo XXI, Instituto Mexicano del Seguro Social, Ciudad de México.

## RESUMEN

**Objetivo:** Determinar el impacto de herramientas moleculares para detección de patógenos virales y bacterianos en las decisiones terapéuticas antibióticas en diarrea aguda. **Materiales y métodos:** Estudio retrospectivo en 385 pacientes con diarrea, en quienes se realizó: antígenos de rotavirus y adenovirus (PRV), molecular por PCR viral-bacteriana (MPCR) o coprocultivo (CC). Se agruparon en: diarreas acuosas con/sin fiebre y disintéricas con/sin fiebre. Se analizó la decisión de inicio, si hubo cambio o suspensión de antibióticos indicados según resultado de las pruebas. **Resultados:** Hubo 361 pacientes con diarreas acuosas con/sin fiebre y 24 con disintéricas. En las primeras se realizaron 62.5% CC, 54% PRV y 24.6% MPCR, y en las disintéricas, 80.9% CC, 62% PRV y 47% MPCR. En diarreas acuosas, 64% recibió manejo con antibiótico empírico; a dos casos se suspendió (0.5%) por detección viral. Del 36% sin antibiótico, cinco (4%) se agregó por CC positivo. En las disintéricas, 22/24 recibió antibiótico empírico. De los dos restantes, sólo a uno se inició después por CC positivo. **Conclusiones:** Los resultados de las herramientas moleculares para determinación de agentes etiológicos influyeron poco en las decisiones terapéuticas antibióticas.

**Palabras clave:** Diarrea aguda, antibióticos, PCR, prueba rápida, virus-bacteria.

## ABSTRACT

**Objective:** To determine the impact of molecular tools for detection of viral or bacterial pathogens on the antibiotic therapeutic decision in acute diarrhea. **Material and methods:** Retrospective study of 385 diarrheic patients with at least one of the following tests performed: rapid-test for rotavirus and adenovirus antigens (RAT), Molecular PCR for viral-bacterial (PCR), and stool culture (SC). Patients were grouped as follow: watery diarrhea with or without fever, and dysentery with or without fever. We analyzed the decision of initiation, change or suspension of empirical antibiotics according to the tests results. **Results:** 361 patients had watery diarrhea with or without fever and 24 with dysentery. Among the former, 62.5% SC, 54% RAT and 24.6% PCR were performed, and in dysentery group, 80.9% SC, 62% RAT and 47% PCR. In 64% of patients with watery diarrheas, an empiric antibiotic treatment was given, but in two (0.5%) patients antibiotics were suspended after a viral detection. Of the 36% patients not treated with antibiotics, in five (4%) were added after bacteria was detected; 91.6% (22/24) of dysenteric cases received empiric antibiotic. Of the two remaining patients, only one received them after positive bacteria result. **Conclusions:** The results of the molecular tools to determine etiological agents had little influence in the antibiotic therapeutic.

**Key words:** Acute diarrhea, antibiotics, PCR, rapid test, virus-bacteria.

\* **Correspondencia:** SDM, dr.diazmadero@gmail.com

**Conflicto de intereses:** Los autores declaran que no tienen.

**Citar como:** Hernández-Avendaño Y, Díaz-Madero S, Rendón-Macías ME, Iglesias-Leboreiro J, Bernárdez-Zapata I. Conducta terapéutica de los médicos ante el resultado de las pruebas de detección de patógenos en niños con diarrea aguda. Rev Mex Pediatr 2018; 85(1):5-10.

[Therapeutic behavior of physicians after the results of pathogen detection tests in children with acute diarrhea]

## INTRODUCCIÓN

La gastroenteritis aguda (GA) es una de las principales causas de consulta pediátrica, tanto en la consulta externa como en servicios de urgencias. Esta enfermedad es una condición autolimitada la mayoría de las veces.<sup>1,2</sup>

La principal etiología de las GA son las infecciosas, donde predominan las causadas por virus, sobre todo en las estaciones de otoño-invierno; en cambio, las bacterias incrementan durante la primavera y verano.<sup>3</sup>

Las diarreas infecciosas pueden ser inflamatorias o no inflamatorias; en las últimas, las evacuaciones son acuosas, sin sangre, sin moco y la fiebre generalmente es ausente. En las primeras, las heces pueden acompañarse de sangre y/o moco, siendo la fiebre un síntoma común, además pueden presentarse vómitos y dolor abdominal.<sup>4</sup>

Las diarreas acuosas suelen asociarse con GA causadas por virus o toxinas bacterianas de tipo secretagogas, mientras que las diarreas con sangre y/o moco se vinculan a un patógeno bacteriano.<sup>5</sup> Del mismo modo, una diarrea de más de 14 días es más consistente con una causa no infecciosa o parasitaria.<sup>4</sup>

La piedra angular del tratamiento de las diarreas es la conservación o recuperación del equilibrio hidroelectrolítico<sup>6</sup> y el reinicio a la brevedad de la nutrición oral. Ésta suele lograrse por vía oral en más del 90% de las ocasiones. La presencia de algunas bacterias invasoras requerirá del inicio de antibióticos.<sup>1</sup>

En la actualidad se dispone de técnicas diagnósticas moleculares para la detección de patógenos asociados a diarreas,<sup>7</sup> en centros hospitalarios en donde se atienden estas enfermedades. Éstas son rápidas, específicas y no invasivas (muestras de heces). Se pueden detectar rotavirus, adenovirus y norovirus, y bacterias como *Salmonella*, *Campylobacter jejuni*, *Shigella*, y *Clostridium difficile* (por PCR).<sup>8</sup>

Diversos autores concuerdan que el niño con diarrea aguda usualmente no requiere de investigación microbiológica de heces debido a que la mayoría es de origen viral, por lo que no se recomienda la toma de estudios microbiológicos. Las guías de práctica clínica sugieren estos estudios sólo en ciertas circunstancias, tales como enfermedad intestinal inflamatoria no infecciosa, enfermedades quirúrgicas, infección por *E. coli* enterohemorrágica, diarrea con sangre asociada a colitis pseudomembranosa relacionada a antibióticos, diarrea que persista más de siete días, diarrea aguda grave con sospecha de septicemia, inmunocomprometidos y con antecedente de viaje reciente al extranjero, así como diarrea por *Clostridium difficile*, *Giardiasis*, *Shigelosis* disenteriforme, amebiasis disenteriforme y cólera.<sup>9-11</sup>

El pediatra frente a un paciente con diarrea debe decidir si, además de indicar el manejo hídrico y nutricional, es necesario adicionar un antibiótico; para ello, este tipo de pruebas podrían apoyarlo. Actualmente, continúa el abuso del uso de antibióticos, a pesar de saberse que la mayoría de las diarreas tienen una etiología viral.<sup>10,11</sup>

En este estudio analizamos el efecto de los resultados de pruebas de detección de patógenos en el tratamiento antibiótico empírico de gastroenteritis agudas.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó una revisión retrospectiva de expedientes clínicos electrónicos de pacientes atendidos por diarrea aguda en urgencias del Hospital Español de la Ciudad de México (institución privada) durante el periodo del 01 de julio de 2013 al 30 de julio de 2015. Se incluyeron niños con diagnóstico de GA, en quienes se realizó, al menos, un estudio diagnóstico para la detección de algún agente patógeno: prueba rápida de detección de adenovirus, prueba rápida de detección de rotavirus, coprocultivo, prueba molecular de reacción de cadena de la polimerasa (PCR) en heces para virus y bacterias.

De cada paciente se obtuvo su edad, sexo, si las evacuaciones fueron líquidas (acuosas), si contenían moco o sangre, así como la presencia de fiebre (> 38°C).

De cada paciente se identificó si hubo la indicación o no al ingreso de algún antimicrobiano, además si posterior al informe del resultado de las pruebas se realizaron modificaciones: suspensión, cambio o adición de un antibiótico.

### Técnicas

Las muestras de heces fueron recolectadas en el hospital (urgencias y hospitalización) después de la indicación del médico tratante, de acuerdo con los procedimientos recomendados para aislamiento microbiológico. Para niños que usaban pañal, se colocó un envoltorio plástico en éste para evitar la absorción de las heces líquidas y separar la muestra fecal de la orina. En niños mayores, se utilizó el envoltorio plástico sujeto al inodoro para hacer la recolección. La muestra se envió al laboratorio inmediatamente en frascos estériles. En todos los casos, el laboratorio solicitó al menos 10 cm<sup>3</sup> de materia fecal pastosa o líquida para procesar la muestra.

Una vez en el laboratorio, las muestras para cultivo y pruebas rápidas se procesaron inmediatamente. En las muestras para PCR, esto se hizo de acuerdo a la demanda del hospital. Aquellas muestras que no se procesaron inmediatamente fueron refrigeradas entre 2 y 8 °C hasta el momento de su análisis.

Las pruebas rápidas de rotavirus y adenovirus se analizaron por medio de inmunocromatografía. En el caso de rotavirus, se realizó la prueba de inmunocromatografía en placa (Inmunocard Stat–Meridian Bioscience Inc.–); para la identificación de adenovirus, se utilizó la prueba en tira (Combistrip–Coris Bioconcept–).<sup>12</sup>

Para el coprocultivo, todas las muestras fueron sembradas directamente en Agar MacConkey y caldo de selenito de sodio. Se realizó resiembra en agar *Salmonella/Shigella* y, finalmente, se llevó a cabo la identificación automatizada en el sistema Vitek 2TM (Biomérieux).<sup>12</sup>

Para el panel gastrointestinal, se hizo la prueba de PCR para virus y bacterias en punto final siguiendo las recomendaciones del fabricante (Seeplex Diarrhea ACE Detection–Seegene Inc. Seúl, Korea–), por medio de la extracción del DNA, seguida de la reacción en cadena de la polimerasa; por último, se realizó la lectura automática del gel de electroforesis.<sup>13</sup>

Para el análisis estadístico, se calcularon frecuencias simples y relativas en porcentajes para las variables cualitativas; las cuantitativas, promedio y ( $\pm$ ) desviación estándar. Se usó el programa estadístico SPSS versión 20.

## RESULTADOS

En total 385 pacientes cumplieron los criterios de selección; de ellos, 205 (53.2%) fueron masculinos y 180 femeninos (46.8%). La edad promedio fue de  $51 \pm 2$  meses (cuatro años). Por el tipo de diarrea, 187 (48.5%) fueron de características acuosas sin fiebre, 174 (45.2%) acuosas con fiebre, 21 (5.4%) disintéricas con fiebre y tres (0.8%) con moco y/o sangre sin fiebre.

La proporción de pacientes de acuerdo a los diferentes estudios realizados para identificar el patógeno se muestra en la *figura 1*. El estudio más realizado fue el coprocultivo (65.7%), seguido de la prueba rápida para rotavirus-adenovirus (56.9%); sólo al 25.7% se le realizó perfil molecular viral-bacteriano. De los coprocultivos, 20.9% fueron positivos; de las pruebas rápidas, 12.8% evidenciaron rotavirus

y 7.3% adenovirus; finalmente, de los perfiles moleculares, 28.4% fueron positivos a virus y 58.6% a bacterias (*Figura 1*). Los agentes identificados por coprocultivo y las pruebas moleculares se muestran en la *figura 2*. Para el primer estudio, la bacteria más aislada fue *Shigella* sp., seguida de *Salmonella* sp. y *Escherichia coli*. Por pruebas moleculares, la bacteria más detectada fue *Clostridium* sp., y en los virus, el norovirus (*Figura 2*).

### Estudios realizados según tipo de diarrea

Cuando los pacientes acudieron con una diarrea líquida sin fiebre, el estudio más solicitado fue el coprocultivo (62.5%; 117/187), seguido de la prueba rápida para rotavirus (54%; 101/187) y adenovirus (47.6%), y sólo en 38 (30%), el estudio molecular (*Cuadro 1*).

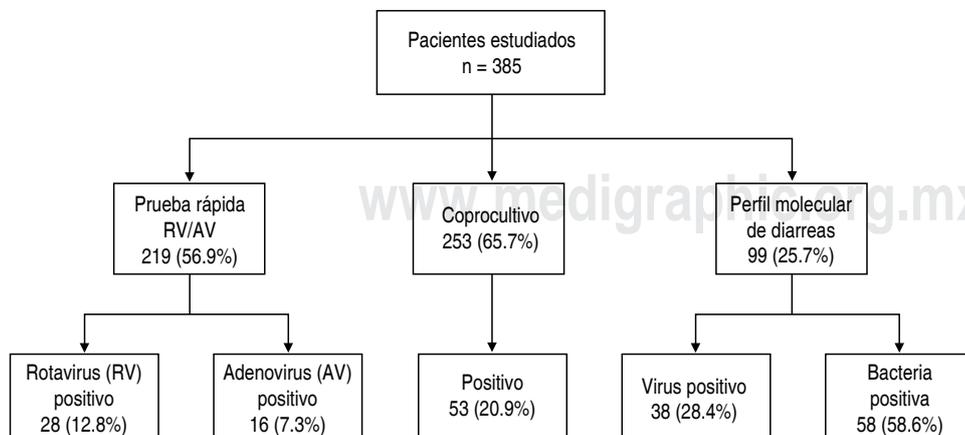
Para los pacientes con diarrea acuosa y fiebre, la frecuencia de estudios aumentó a un 66.6% (116/174) para el coprocultivo, pero sin cambios para los estudios moleculares (29.3%; 51/174) y las pruebas rápidas de rotavirus y adenovirus (54 y 48%, respectivamente).

En los casos de pacientes con disentería y fiebre, el coprocultivo se realizó en el 80.9% (17/21), seguido de la prueba rápida para adenovirus en el 62%, y las moleculares en el 47% (10 pacientes). A ningún paciente de este grupo se solicitó detección de rotavirus.

Por último, a ninguno de los tres pacientes con diarrea con moco y sangre sin fiebre se les realizó prueba alguna.

### Conducta terapéutica según el tipo de diarrea y la identificación de algún agente.

Los pacientes con diarrea acuosa sin fiebre fueron los menos tratados inicialmente con antibióticos empíricos



**Figura 1.**

Porcentaje de pacientes con pruebas de detección y positividad para cada una de ellas.

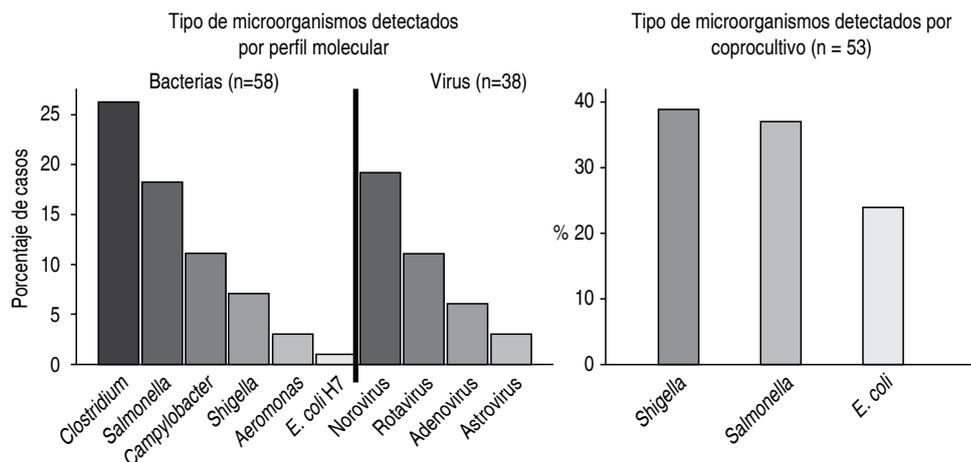


Figura 2.

Prevalencia de microorganismos detectados por perfil molecular y coprocultivo en los casos de diarrea.

Cuadro 1. Solicitud de estudios para la identificación de agentes patógenos de acuerdo con el tipo de diarrea.

Diarrea	Prueba rápida		Coprocultivo	PCR viral	PCR bacteriana
	AV	RV			
Acuosa sin fiebre n = 187	8/89 (9%)	11/101 (10.9%)	11/117 (9.4%)	13/38 (34.2%)	17/38 (44.7%)
Acuosa con fiebre n = 174	7/85 (8.2%)	17/95 (17.9%)	36/116 (31%)	25/51 (49%)	31/51 (60.7%)
Disentería con fiebre n = 21	1/13 (7.7%)	0	6/17 (35.3%)	0	10/10 (100%)
Disentería sin fiebre n = 3	0	0	0	0	0

AV = Adenovirus, RV = Rotavirus, PCR = Reacción en cadena de polimerasa.

(56.7%). Como se muestra en el *cuadro 2*, en los casos tratados sin antibióticos (n = 81), sólo a tres se les agregó uno al detectarse una bacteria: uno por coprocultivo (*Campylobacter* sp.) y dos por PCR molecular (*Salmonella* sp.). Por otro lado, en aquellos en quienes se inició empíricamente un antibiótico, sólo a un paciente con aislamiento de *Clostridium* se le modificó el tratamiento; el resto continuaron con el indicado al inicio. En este grupo, la frecuencia de aislamientos fue baja, alrededor del 10%, con una mayor frecuencia para los estudios moleculares, que fueron realizados en menos pacientes.

Para aquellos con diarrea acuosa con fiebre, la decisión de iniciar con un antibiótico empírico fue mayor (71.8%). Cuando esto sucedió, en el 85.2% (119/125) no se realizaron cambios, aun con pruebas positivas. En tres pacientes (1.7%) hubo cambio de antibiótico ante el agente aislado: uno por coprocultivo positivo y dos

por PCR a bacterias. Sólo en dos pacientes se suspendió el antibiótico, uno con prueba positiva a rotavirus y el otro por PCR positivo a rotavirus.

En todos los pacientes con disentería y fiebre, con excepción de uno, se inició antibióticos empíricos desde el ingreso. Al paciente que no inició, después de una PCR positiva a *Shigella* se indicó el inicio de antibiótico (*Cuadro 2*). Hubo tres cambios de antibióticos en este grupo, dos con un aislamiento por PCR a bacteria y el tercero porque no se observaba mejoría clínica.

## DISCUSIÓN

Este estudio tuvo como propósito analizar el impacto de las pruebas diagnósticas microbiológicas disponibles para la identificación de los patógenos causantes de diarreas en el uso juicioso de los antibióticos; esto es, la suspensión,

**Cuadro 2. Decisiones terapéuticas tomadas con base en los resultados.**

Tipo de diarrea	Inició con antibiótico (ATB)	Sin cambio	Cambió de antibiótico	Agregó antibiótico	Suspendió antibiótico
Acuosa sin fiebre n = 187	106/187 (56.7%)	Con ATB = 105/106 AV (+) = 4 RV (+) = 5 CPC (+) = 8 PCR viral (+) = 9 PCR BACT (+) = 9 Sin ATB = 78/81 AV (+) = 4 RV (+) = 6 CPC (+) = 2 PCR viral (+) = 4 PCR BACT (+) = 5	1 (0.9%) PCR BACT (+) = 1	3/81 (3.7%) CPC (+) = 1 PCR BACT (+) = 2	0
Acuosa con fiebre n = 174	125 (71.8%)	Con ATB = 119/125 AV (+) = 3 RV (+) = 4 CPC (+) = 27 PCR viral (+) = 13 PCR BACT (+) = 21 Sin ATB = 45/49 AV (+) = 4 RV (+) = 12 CPC (+) = 3 PCR viral (+) = 9 PCR BACT (+) = 5	3 (1.7%) CPC (+) = 1 PCR BACT (+) = 2	5 (2.9%) CPC (+) = 2 PCR BACT (+) = 3	2 (1.1%) RV (+) = 1 PCR VIRAL (+) = 1
Disentería con fiebre n = 21	20 (95.2%)	Con ATB = 17/20 AV (+) = 1 CPC (+) = 6 PCR BACT (+) = 7 Sin ATB = 0/1	3 (14.3%) PCR BACT (+) = 2	1 (9.8%) PCR BACT (+) = 1	0
Disentería sin fiebre n = 3	2 (66.7%)	Con ATB = 2/3 CPC (+) = 2 Sin ATB = 1/3	0	0	0

cambio o adición en concordancia con los agentes encontrados. Nuestros datos apoyan que las decisiones fueron basadas, sobre todo, en las características clínicas de las evacuaciones (acuosas o disintéricas con o sin fiebre) más que en los resultados microbiológicos.

El tipo de diarrea con mayor presentación fue la evacuación acuosa con o sin fiebre. Esto era esperado por la alta posibilidad de etiologías virales y/o diarreas causadas por enterotoxinas,<sup>14</sup> tal como ha sido informado por Churgay y Aftab, quienes reportaron una frecuencia de diarreas no inflamatorias por agentes virales en un 75-90%.<sup>4</sup> Para este grupo, nuestros médicos solicitaron

principalmente estudios para detección de virus, aunque continuaron solicitando en casi la misma proporción coprocultivos. CaJacob y colaboradores sugieren que estudios microbiológicos para este tipo de diarreas deben solicitarse cuando existen brotes en escuelas u hospitales.<sup>5</sup> A pesar de la alta posibilidad de un agente viral, en este estudio el 57% de los pacientes recibieron algún antibiótico. Sólo en un caso la identificación de un agente viral motivó la suspensión del antibiótico. La no suspensión de antibióticos ante la evidencia de una posible etiología viral podría deberse a cierto temor a infecciones bacterianas no demostradas.

En relación con las diarreas acuosas con fiebre se ha sugerido una mayor asociación con rotavirus y norovirus;<sup>5</sup> nuestros resultados mostraron un predominio de aislamiento del segundo. Estudios recientes sugieren que norovirus ha superado al rotavirus como la causa principal de gastroenteritis transmitida por alimentos e implicada en la diarrea del viajero. Graves<sup>15</sup> menciona que la vacuna contra el rotavirus ha reducido la GA. En general, las diarreas virales necesitan manejo hídrico sin uso de antibióticos; contrario a ello, se observó una mayor proporción de pacientes tratados con antibiótico (71.8%). Nuevamente, los resultados de las pruebas no influyeron para suspenderlos. Al contrario, en cinco pacientes manejados inicialmente sin antibiótico, la detección de una bacteria motivó su inicio. El sobretratamiento se ha implicado como riesgo para diarreas persistentes. Graves refiere aumento en la prevalencia de diarrea asociada a antibióticos, conocida como colitis por *C. Difficile*: de 2001 a 2006 se halló un incremento en admisiones pediátricas por *Clostridium* de 2.6 a 4 casos por 1,000; los antibióticos más asociados con esta infección son fluoroquinolonas, clindamicina, cefalosporinas y penicilinas.<sup>15</sup>

Con respecto a las diarreas con sangre con o sin fiebre, en un 10 a 20% se identifica un patógeno bacteriano.<sup>4</sup> CaJacob y su grupo describen *Salmonella* sp., *Shigella* sp. y *Campylobacter* sp. como los principales patógenos a nivel mundial.<sup>5</sup> Por ello, la indicación de antibióticos, aunque es controversial, es aceptada. En este estudio se observó la mayor proporción de solicitud de estudios para búsqueda de bacterias. Como se esperaba, hubo mayor aislamiento, con detección de agentes como *Clostridium* sp., *Salmonella* sp. y *Campylobacter* sp. En prácticamente todos estos pacientes se inició un antibiótico y, como en el resto de los grupos, la identificación de algún microorganismo, en general, no cambió el uso de antibióticos. Sin embargo, en este grupo la falta de cambio puede interpretarse como una adecuada selección empírica inicial. Brandt y colaboradores refieren que incluso en estas diarreas, el manejo nutricional y de hidratación pudiera ser suficiente, ya que el uso de antibióticos no ha mostrado cambiar el curso clínico de las diarreas y podría causar daño en la microbiota intestinal.<sup>6</sup> La OMS sólo recomienda el uso de antimicrobianos en casos de GA por *Shigella* sp. y cólera o en pacientes inmunocomprometidos.<sup>3,16</sup>

## CONCLUSIONES

Los resultados de estudios microbiológicos para el diagnóstico etiológico (viral o bacteriano) en diarreas agudas no parece influir en la decisión para el uso de

antimicrobianos. Es necesario exhortar a una correcta interpretación de los resultados si se decide solicitar estas herramientas de diagnóstico, con base en el comportamiento clínico del paciente.

Se sugiere evaluación individualizada y solicitud de estudios microbiológicos en caso necesario, así como inicio antibiótico en diarreas tomando como base las guías basadas en evidencia actuales.

## REFERENCIAS

1. Coria LJ, Villalpando CS, Gómez BD, Treviño MA. Aspectos microbiológicos y epidemiológicos para el uso racional de antibióticos en niños con gastroenteritis bacteriana aguda. *Rev Mex Pediatr*. 2001; 68(5): 200-215.
2. Guillén A, Lucho J. Retos y problemas en el diagnóstico microbiológico en diarrea. *Rev Peru Med Exp Salud Pública*. 2011; 28(1): 116-120.
3. Vila J, Álvarez M, Buesa J, Castillo J. Diagnóstico microbiológico de las infecciones gastrointestinales. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2009; 27(7): 406-411. doi: 10.1016/j.eimc.2008.11.009.
4. Churgay CA, Aftab Z. Gastroenteritis in children: Part I. Diagnosis. *Am Fam Physician*. 2012; 85(11): 1059-1062.
5. CaJacob NJ, Cohen MB. Update on diarrhea. *Pediatr Rev*. 2016; 37(8): 313-322. doi: 10.1542/pir.2015-0099.
6. Brandt KG, Castro AM, Silva GA. Acute diarrhea: evidence-based management. *J Pediatr (Rio J)*. 2015; 91(6 Suppl 1): S36-43. doi: org/10.1016/j.jpmed.2015.06.002.
7. Corcoran MS, Van Well GTJ, Van Loo IHM. Diagnosis of viral gastroenteritis in children: interpretation of real-time PCR results and relation to clinical symptoms. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2014; 33(10): 1663-1673. doi: 10.1007/s10096-014-2135-6.
8. Koletzko S, Osterrieder S. Acute infectious diarrhea in children. *Dtsch Arztebl Int*. 2009; 106(33): 539-548. doi: 10.3238/arztebl.2009.0539
9. Sandoval AM, Ramos RJ, Ramírez A. Prevención, diagnóstico y tratamiento de la enfermedad diarreica aguda en niños de dos meses a cinco años en el primero y segundo nivel de atención. *Mex SSA*. 2008. <http://www.cenotec.salud.gob.mx/interior/gpc.html>
10. Churgay CA, Aftab Z. Gastroenteritis in children: Part II. Prevention and management. *Am Fam Physician*. 2012; 85(11): 1066-1070.
11. Diarrhea and vomiting caused by gastroenteritis, diagnosis, assessment and management in children younger than 5 years. *Clinical Guideline*. 2009. <http://www.nice.org.uk/nicemedia/pdf/CG84FullGuideline.pdf>
12. Álvarez M, Buesa J, Castillo J, Vila J. Diagnóstico microbiológico de las infecciones gastrointestinales. 30. Procedimientos en Microbiología Clínica. Cercenado Mansilla E, Cantón Moreno R (editores). Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC); 2008.
13. Méndez AS, Pérez RE. La PCR múltiple en microbiología clínica. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2004; 22(3): 183-192. [www.elsevier.es](http://www.elsevier.es), day 11/10/2017.
14. Wiegering V, Kaiser J, Tappe D, Weissbrich B, Morbach H, Girschick HJ. Gastroenteritis in childhood: a retrospective study of 650 hospitalized pediatric patients. *Int J Infect Dis*. 2011; 15: e401-407. doi: 10.1016/j.ijid.2011.02.006
15. Graves NS. Acute gastroenteritis. *Prim Care*. 2013; 40(3): 727-741.
16. Hernández CC, Aguilera AM, Castro EG. Situación de las enfermedades gastrointestinales en México. *Enf Inf Microbiol*. 2011; 31(4): 137-151.