

Artículo original

Características etiológicas, clínicas y epidemiológicas de la diarrea aguda infantil en Caracas - Venezuela

Rosabel González^{a,*}, Joseph Gutiérrez^b, José Ramón Martínez^a, Lisbeth Rivero^a

^aSección de Enfermedades Entéricas - Instituto de Biomedicina "Dr Jacinto Convit". ^bLaboratorio de Microbiología - Hospital Vargas. Caracas. Venezuela.

Recibido 11 de noviembre de 2017; aceptado 16 de mayo de 2018

Resumen: Se evaluaron 151 casos de diarrea aguda infantil en el Servicio de Emergencia Pediátrica del Hospital Vargas de Caracas. No se observó diferencia ($p \geq 0,05$) según el género de los pacientes. Los parásitos fueron los agentes más frecuentes (42,6%) seguidos de bacterias (14,9%) y rotavirus (4,4%). *Entamoeba histolytica* y/o *dispar* fue el parásito más importante (61,5%; 32/52) y *Escherichia coli* enteropatógena (ECEP) la bacteria más frecuente (36,4%; 8/22). La frecuencia acumulada para las bacterias según la edad resultó mayor en el grupo de 0-23 meses (61,9%; 13/21; $p < 0,05$) y la mayor frecuencia para los parásitos se detectó en los niños ≥ 24 meses (73,1%; 38/52; $p < 0,05$), siendo el Riesgo Relativo de sufrir la infección por parásitos en este grupo 4,1 ($p < 0,05$). Los eventos por *E. histolytica* y/o *dispar* se caracterizaron por vómitos (73,7%; 14/19) y moco/sangre en las heces (89,5%; 12/19). Los episodios por ECEP presentaron moco en las heces (85,7%; 6/7), vómitos (42,9%, 3/7) y deshidratación (42,9%, 3/7). Los resultados obtenidos muestran la importancia de los parásitos en la diarrea aguda infantil y la variación en la frecuencia de un patógeno según la edad.

Palabras clave: bacterias, diarrea aguda, niños, parasitosis, rotavirus.

Etiological, clinical and epidemiological characteristics of acute diarrhea in children in Caracas - Venezuela

Abstract: This study includes 151 cases of acute childhood diarrhea evaluated at the Pediatric Emergency Service of the Vargas Hospital in Caracas. No difference was observed ($p \geq 0.05$) according to the gender of the patients. Parasites were the most frequent agents (42.6%) followed by bacteria (14.9%) and rotavirus (4.4%). *Entamoeba histolytica* and/or *E. dispar* was the most important parasite (61.5%; 32/52) and enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC) the most frequent bacterium (36.4%; 8/22). The cumulative frequency for bacteria according to age was higher in the 0-23 month group (61.9%; 13/21; $p < 0.05$) and the highest frequency for parasites was detected in children ≥ 24 months (73.1%; 38/52; $p < 0.05$), with the Relative Risk of parasite infection in this group being 4.1 ($p < 0.05$). Events produced by *E. histolytica* and/or *E. dispar* were characterized by vomiting (73.7%; 14/19) and mucus/blood in the stools (89.5%; 12/19). Cases infected by EPEC presented mucus in the stools (85.7%; 6/7), vomiting (42.9%, 3/7) and dehydration (42.9%, 3/7). These results show the importance of parasites in acute childhood diarrhea and the variation in the frequency of the pathogen according to age.

Keywords: bacteria, acute diarrhea, children, parasites, rotavirus.

* Correspondencia:
E-mail: rosagoma@hotmail.com

Introducción

La diarrea aguda infantil continúa siendo la segunda causa de muerte en la población menor de 5 años en el mundo; 499.000 niños fallecen por diarrea anualmente, representando esta cifra el 8,6% de las muertes por todas las causas en este grupo de edad [1]. De forma alarmante, el 80% de estas defunciones ocurren en África y Asia del Sur,

continentes con países de bajos ingresos, en donde los niños menores de tres años sufren en promedio tres episodios de diarrea al año [1]. Venezuela, no escapa a esta problemática; para el año 2016 la diarrea aguda resultó ser la tercera causa de consulta, con 2.208.623 eventos en toda la población. De este total, 38,7% (853.698 casos) correspondió a la población menor de 5 años, observándose además en este grupo de edad, un incremento de 187.310 casos con respecto

al año 2015 [2].

La diarrea aguda generalmente se presenta acompañada de fiebre, vómitos y dolor abdominal, tiene una duración menor de 15 días y usualmente es causada por uno o varios agentes infecciosos (bacterias, virus y parásitos), los cuales comúnmente se identifican en el 65% de los episodios [3]. Sin embargo, los estudios han demostrado que la frecuencia de cada patógeno varía dependiendo del grupo de edad, lugar y grado de desarrollo del país; en la región africana, por ejemplo, predominan significativamente las diarreas por parásitos, mientras que, en los países europeos son escasos los eventos por estos agentes [3]. De igual forma, las estimaciones mundiales sobre la frecuencia de *Escherichia coli* diarreogénica indican un porcentaje que va del 2 al 5% en los países desarrollados y del 14 al 17% en los subdesarrollados [4]. Estas diferencias confirman la necesidad de conocer en cada región el impacto de los distintos agentes. En este aspecto, en Venezuela son muy pocos los estudios que determinan, en una misma región, la frecuencia relativa de los microorganismos que causan diarrea aguda infantil; sin embargo, estos estudios reportan igualmente variabilidad en cuanto a la frecuencia de los distintos enteropatógenos [5-8]. El hallazgo de estas diferencias impide aplicar los resultados descritos para una región al resto del país, siendo la problemática particularmente grave en los hospitales, como es el caso del Hospital Vargas de Caracas, en donde el desconocimiento de la frecuencia de los distintos enteropatógenos y las características epidemiológicas de la infección, fuerza la elección de tratamientos empíricos que en algunos casos conllevan a fracasos terapéuticos.

Por estos motivos, en el presente estudio se analizaron las características de la diarrea aguda infantil en el Servicio de Emergencia Pediátrica del Hospital Vargas de Caracas, con el objetivo de conocer la frecuencia de los distintos microorganismos causales de la infección y describir las características clínico-epidemiológicas de los pacientes, además de suministrar datos que sirvan de herramientas en la elección de tratamientos adecuados y oportunos.

Materiales y métodos

Lugar del estudio y consentimiento informado: El trabajo se realizó en el Servicio de Pediatría del Hospital Vargas de Caracas durante el período marzo 2015 – marzo 2016. Este Servicio cuenta con una emergencia y un área de hospitalización; la emergencia posee 6 camas de observación, 3 camas de procedimientos y dos de cuidados intermedios. Antes de ser incluido en la investigación, se informó y se explicó de forma oral y escrita a los padres o representantes de los niños el propósito del estudio, beneficios, tipo de muestras, pruebas y análisis. La participación fue voluntaria. Una vez explicado al padre o representante los alcances e implicaciones del trabajo de investigación, se firmó el consentimiento informado.

Población, muestra y recolección de datos: La población

estuvo constituida por los niños que consultaron la Emergencia de Pediatría del Hospital Vargas de Caracas por presentar diarrea aguda, a los cuales se les tomó una muestra de heces y recolectaron datos clínicos-epidemiológicos. Se registraron para cada evento de diarrea los siguientes datos: fecha de inicio del episodio, edad, género, grado de deshidratación, fiebre ($\geq 38,5$ °C), duración de la diarrea en días, número máximo de evacuaciones en 24 horas, presencia de vómitos, presencia macroscópica en las heces de moco, sangre o moco/sangre. El grado de deshidratación se estableció según los criterios de la Organización Mundial de la Salud (OMS) [9]. Se utilizó la definición de diarrea aguda de la OMS: presencia de tres o más evacuaciones, con alteración de la consistencia (líquida o semilíquida), o una evacuación con moco y sangre, con una duración menor de 14 días [9].

Procesamiento de las muestras e identificación de los enteropatógenos: La detección del rotavirus se realizó mediante la técnica de ensayo inmunoenzimático (EIA) directa comercial (OXOID™). La identificación de los parásitos intestinales (coproanálisis) se efectuó mediante el examen directo con solución salina (NaCl 0,85%) y lugol, además de la tinción de Kinyoun para la identificación de ooquistes de coccidios [10].

El aislamiento e identificación de las bacterias enteropatógenas se llevó a cabo utilizando métodos convencionales según técnicas descritas [11]. Las cepas identificadas bioquímicamente como *Salmonella* spp., *Shigella* spp. y *Vibrio* spp., fueron aglutinadas en láminas con sueros polivalentes, fabricados por la Sección de Enfermedades Entéricas de la Infancia del Instituto de Biomedicina-Caracas, Venezuela, con el fin de confirmar la identificación bioquímica y llegar a especie. Específicamente: las cepas identificadas como *Shigella* sp. se aglutinaron con sueros polivalentes para *S. dysenteriae*, *S. flexneri*, *S. boydii* y *S. sonnei*. Las cepas de *Salmonella* spp. se enfrentaron al polivalente O A-1 (grupos A, B, C, D, E, F, G, H, I) y las identificadas como *Vibrio* spp. al polivalente Ogawa-Inaba. En el caso particular de las cepas identificadas como *E. coli*, se seleccionaron cinco colonias por paciente y se determinó, mediante sueros polivalentes, la presencia de serogrupos “O” asociados a los distintos patotipos diarreogénicos: *E. coli* enteropatógena (ECEP), *E. coli* enteroinvasiva (ECEI), *E. coli* enterohemorrágica (ECEH) y *E. coli* enterotoxigénica (ECET).

Análisis estadístico: Los datos se registraron en las tablas de Excel y fueron analizados con SPSS versión 17.0 y EpiInfo™ versión 3.5.1. La fuerza de asociación entre algunas variables se evaluó mediante la estimación del Riesgo Relativo (RR). Se utilizó la prueba Chi cuadrado (χ^2) o la prueba exacta de Fisher (dos colas) según el caso. Valores $p < 0,05$ se consideraron como significativos.

Resultados

Se evaluaron en total 151 episodios de diarrea aguda.

No se observó diferencia significativa ($p \geq 0,05$) en la población según el género: masculino 53,6% (81/151) y femenino 46,3% (70/151). La edad promedio fue $29,4 \pm 32,8$ meses. Se evidenció una baja frecuencia (4,6%; 7/151) de eventos diarreicos en el grupo de 0 a 2 meses de edad incrementándose significativamente ($p < 0,05$) en los grupos de 3 a 11 meses (33,1%; 50/151) y de 12 a 23 meses (24,5%; 37/151), para luego disminuir en los niños de 24 a 59 meses (21,2%; 32/151) y ≥ 60 meses (16,6%; 25/151).

Se realizaron estudio coproparasitológico, coprocultivo y determinación de rotavirus en el 80,8% (122/151), 93,4% (141/151) y 90,1% (136/151) de las muestras de heces respectivamente. Los parásitos resultaron ser los agentes más importantes (42,6%; 52/122; $p < 0,05$) al compararlos con la frecuencia de los enteropatógenos bacterianos (14,9%; 21/141) y rotavirus (4,4%; 6/136). La tabla 1 muestra los agentes parasitarios, bacterianos y rotavirus aislados así como sus frecuencias relativas. El parásito más importante ($p < 0,05$) fue *Entamoeba histolytica* y/o *dispar* con 61,5% (32/52), mientras que, ECEP fue el agente bacteriano más frecuente (38,1%; 8/21; $p < 0,05$). Se registraron 12 infecciones mixtas: *E. histolytica* y/o *dispar* / *S. flexneri* (5 pacientes), *E. histolytica* y/o *dispar* / ECEP (1), *E. histolytica* y/o *dispar* / *Aeromonas caviae* (1), *E. histolytica* y/o *dispar* / *S. boydii* (1), *E. histolytica* y/o *dispar* / *Salmonella* sp. (1), *Giardia intestinalis* / *Endolimax nana* / Complejo *Blastocystis* spp. (1), Complejo *Blastocystis* spp. / *E. histolytica* y/o *dispar* (2).

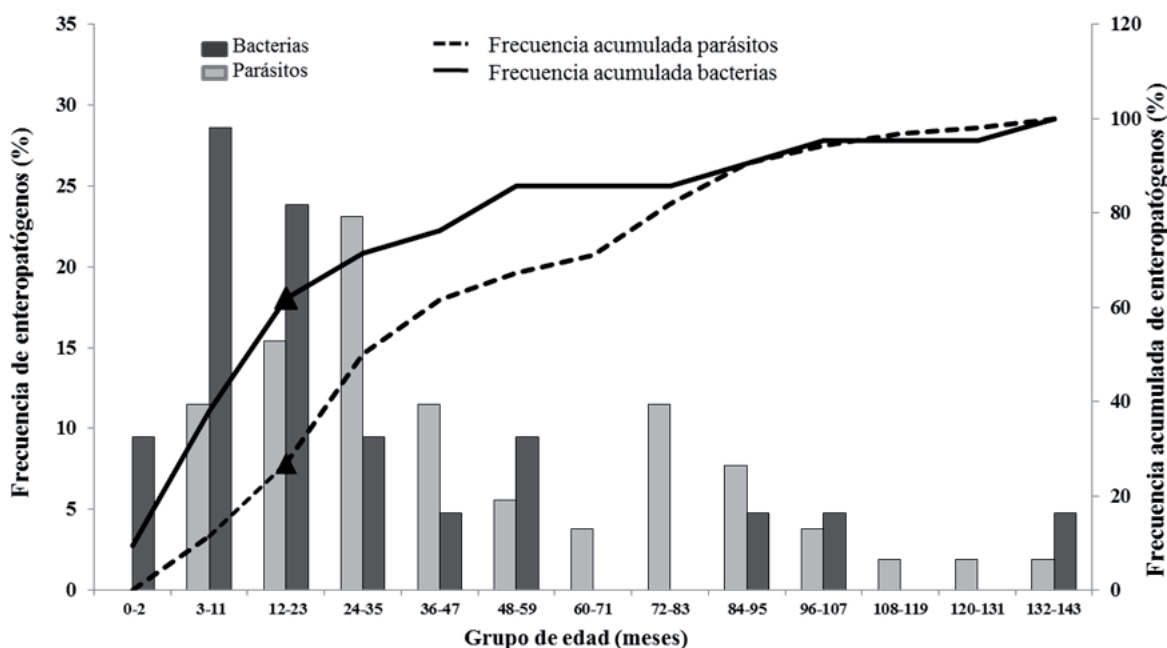
Características epidemiológicas y clínicas dependiendo del agente aislado y los distintos grupos de edad: La figura 1 muestra la frecuencia relativa de los parásitos y bacterias según los grupos de edad, al igual que las frecuencias

Tabla 1. Frecuencia relativa de parásitos, enterobacterias y rotavirus en la población infantil con diarrea aguda. Servicio de Pediatría del Hospital Vargas de Caracas, Venezuela (2015-2016).

Microorganismos	Frecuencia (%)
Parásitos (n=52)	
<i>Entamoeba histolytica</i> y/o <i>dispar</i>	32 (61,5)*
Complejo <i>Blastocystis</i> .	11 (21,1)
<i>Giardia intestinalis</i>	6 (11,5)
<i>Entamoeba coli</i>	1 (1,9)
<i>Chilomastix mesnili</i>	1 (1,9)
<i>Endolimax nana</i>	1 (1,9)
Bacterias (n=21)	
ECEP	8 (38,1)**
<i>Shigella flexneri</i>	6 (28,5)
<i>Aeromonas</i> spp.	3 (14,3)
<i>Salmonella</i> spp.	2 (9,5)
<i>Campylobacter jejuni</i>	1 (4,8)
<i>Shigella boydii</i>	1 (4,8)
Rotavirus	6 (4,4%)

* $p < 0,05$ al comparar la frecuencia de *Entamoeba histolytica* con el resto de los parásitos aislados. ** $p < 0,05$ al comparar la frecuencia de *Escherichia coli* enteropatógena (ECEP) con el resto de las enterobacterias aisladas.

acumuladas para cada grupo de microorganismos. Se observa una disminución de los eventos con la edad tanto para las bacterias como para los parásitos. Sin embargo, al comparar



▲ $p < 0,05$ al comparar las frecuencias acumuladas entre las bacterias y parásitos en el grupo de 0-23 meses

Figura 1. Frecuencias relativas y frecuencias acumuladas según la edad, para los eventos de diarrea por parásitos y bacterias enteropatógenas. Servicio de Pediatría del Hospital Vargas de Caracas –Venezuela.

estadísticamente la frecuencia acumulada entre los eventos por bacterias y parásitos, en el grupo de 0 a 23 meses, se evidenció que es significativamente mayor ($p < 0,05$) en las bacterias (61,9%; 13/21 bacterias y 26,9%; 14/52 parásitos). Esta diferencia se invirtió significativamente ($p < 0,05$) en los niños ≥ 24 meses, donde los parásitos predominaron (73,1%; 38/52) sobre las bacterias (38,1%; 8/21). Por otra parte, los 6 episodios por rotavirus ocurrieron en su totalidad en el grupo ≤ 30 meses.

A partir de estos resultados y con el fin de estimar el RR de sufrir la infección por parásitos según la edad, se dividió la población a la cual se le realizó el análisis parasitológico en dos grupos: ≤ 23 meses y ≥ 24 meses; además se eliminaron los eventos mixtos. La frecuencia de parásitos en la población de ≤ 23 meses fue 15,5% (11/71) y en los ≥ 24 meses 63,1% (24/38). Resultando el valor del RR = 4,1 (2,2- 7,4). Es decir, el RR de sufrir una infección por parásitos en esta población es 4,1 veces mayor en los niños ≥ 24 meses.

Los niños a los cuales se les aisló *E. histolytica* y/o *dispar* como único agente se caracterizaron por presentar fiebre en un 53% (10/19), vómitos 73,7% (14/19), más de 6 evacuaciones en 24 horas 52,6% (10/19), 1-4 días con diarrea 84,2% (16/19), algún grado de deshidratación 40,0% (6/15) y moco/sangre 89,5% (12/19). La frecuencia de las enterobacterias en el presente estudio fue muy baja, lo que impidió describir las características clínicas asociadas a estos patógenos, sin embargo es importante resaltar que los pacientes a los cuales se les aisló ECEP como único agente, presentaron moco macroscópico en las heces (85,7%; 6/7), vómitos (42,9%; 3/7) y deshidratación (42,9%; 3/7).

Discusión

El conocimiento de las características clínicas, epidemiológicas y etiológicas de la diarrea aguda en la población pediátrica, en las regiones y específicamente en cada hospital, es primordial para la elección del tratamiento adecuado y la aplicación de medidas de prevención. En este aspecto, el presente trabajo es la primera investigación, realizada en el Servicio de Pediatría del Hospital Vargas de Caracas, que describe la etiología de las infecciones y sus características clínicas y epidemiológicas.

Llama la atención, la frecuencia significativa de diarreas asociadas a parásitos, al igual que el número de infecciones mixtas observadas. En este aspecto, son pocos los estudios realizados en hospitales venezolanos, que reportan a los agentes parasitarios como causales de diarrea aguda infantil [5, 8]. Una de estas investigaciones, al igual que el presente estudio, demostró una frecuencia de diarreas asociadas a parásitos alta (27,3%) [8]. La prevalencia de parasitosis se relaciona directamente con condiciones de pobreza, falta de higiene y consumo de agua no potable, siendo además las infecciones mixtas un fenómeno característico de estas condiciones de pobreza [12-15]. Los resultados obtenidos podrían inferir sobre las condiciones de vida de la población infantil que consulta el Hospital Vargas de Caracas.

E. histolytica y/o *dispar* resultó ser el principal agente etiológico asociado a diarrea aguda, hallazgo comparable a una investigación realizada en un hospital de Nigeria, donde el parásito fue aislado en un 65,7% de los casos de diarrea [13]. Se estima que *E. histolytica* es la segunda causa de muerte por enfermedad parasitaria en todo el mundo, después de la malaria, infectando entre 40 a 50 millones de personas y provocando aproximadamente 100.000 muertes anuales [15]. Sin embargo, algunos autores indican que estas cifras están sobreestimadas, debido a que se calcularon a partir de datos obtenidos mediante métodos de diagnóstico que no diferencian eficazmente a *E. histolytica* de la *E. dispar* no patógena. No obstante, este escenario comenzó a cambiar en 1996, cuando se aislaron cepas de *E. dispar* en pacientes sintomáticos en Brasil. Estas cepas fueron capaces de producir lesiones hepáticas e intestinales que a veces eran indistinguibles de las producidas por *E. histolytica*. Estos y otros hallazgos, como la detección de secuencias de ADN de *E. dispar* en muestras de pacientes con absceso hepático amebiano, han reavivado la posibilidad de que esta especie pueda producir lesiones en humanos [16]. Específicamente, en Venezuela la frecuencia de *E. histolytica* y/o *dispar* reportada en la población infantil con o sin diarrea es muy variable (0,6% a 26,6%) [5,8,12,14], lo que refleja una epidemiología cambiante para el parásito, modulada probablemente por una serie de factores intrínsecos atribuibles al agente, al ambiente y al hospedero que requieren una mayor comprensión para avanzar en los esfuerzos para el control de la infección [15].

En el presente estudio ECEP fue la enterobacteria más frecuente, resultado semejante a los reportes de trabajos realizados en países como Brasil, Chile, Perú e Irán, donde ECEP fue responsable del 5-10% de las diarreas pediátricas, siendo además, en algunas regiones de América Latina, la principal causa de diarrea endémica en niños menores de un año de edad [17]. En Venezuela, los trabajos publicados muestran variabilidad en la frecuencia de ECEP [5,7,8,18,19], identificándose las cepas mediante métodos moleculares [7,19], cultivo celular [18] o por aglutinación en lámina [5,8,18,19]. Es importante destacar que en el presente trabajo las cepas de ECEP se identificaron mediante la utilización de sueros policlonales "O", metodología cuestionada debido a la falta de correlación entre la identificación de los serotipos "O" y los resultados obtenidos mediante la detección de los genes de virulencia del patógeno [20,21]. Sin embargo, los estudios "caso/control", donde se identifica ECEP mediante la utilización de antisueros "O", reportan un predominio significativo de estos serotipos en los casos de diarrea [18,22], hallazgos muy diferentes a lo descrito en los estudios caso/control que identifican ECEP por métodos moleculares; estos estudios detectan genes de virulencia de ECEP con igual frecuencia en los casos y en los controles [23]. Además, en el presente trabajo, las cepas de ECEP se aislaron como único agente en el grupo ≤ 23 meses y con una clínica caracterizada por una alta frecuencia de deshidratación y vómitos. Estas observaciones permiten indicar que las cepas son realmente

ECEP, pero quedaría por determinar por otras metodologías los mecanismos de patogenicidad de estas cepas, teniendo siempre en cuenta, como ha sido sugerido por algunos especialistas, que la plasticidad genómica de *E coli*, en particular la ECEP, es una característica que complica los esfuerzos para precisar la especie en un patotipo determinado [24].

En la población pediátrica que consulta el Hospital Vargas de Caracas se observó que la diarrea aguda impacta mayormente al grupo etario de 3-11 meses y que la frecuencia de la infección disminuye con la edad, situación comparable a las estadísticas a escala nacional, donde los menores de 5 años, superan entre 3 a 5 veces las tasas de incidencia por diarrea con respecto a los grupos de mayor edad [2]. Sin embargo, al comparar las diarreas causadas por bacterias y parásitos, se pudo definir comportamientos distintos en cuanto a las frecuencias y la edad. De esta forma, el aislamiento significativo de bacterias en la población ≤ 23 meses y la disminución en la frecuencia de estas infecciones con la edad, probablemente estén reflejando el inicio del enfrentamiento del niño al medio ambiente y la posterior adquisición de inmunidad específica a este grupo de patógenos [25]. Por otro lado, el predominio significativo de las diarreas por parásitos en los niños ≥ 24 meses y el importante valor para el RR obtenido, indican que a mayor edad el riesgo de sufrir una diarrea por parásitos se incrementa y reflejan el contacto con un medio ambiente en donde las condiciones de salubridad no son adecuadas [26,27].

La frecuencia de rotavirus hallada resultó muy baja al compararla con los reportes de los trabajos realizados en el país antes de la incorporación de la vacuna anti rotavirus al Programa Ampliado de Inmunizaciones (PAI); durante el período prevacuna, la infección por rotavirus era la primera causa de diarrea aguda infantil y responsable del 3% de las hospitalizaciones [28]. Sin embargo, en el presente trabajo no se registró el estatus de la población respecto a la vacuna antirotavirus, pero teniendo en cuenta la cobertura de la vacuna alcanzada para el año del estudio (80%) [29], podemos indicar que la baja frecuencia de la infección se debe, probablemente, a la acción de la vacuna, como ha sido señalado en un trabajo que midió el impacto de la vacuna antirotavirus en cuatro países latinoamericanos (Bolivia, Honduras, El Salvador y Venezuela) [30].

Los hallazgos del presente trabajo permitieron determinar los microorganismos más importantes asociados a la diarrea aguda en el Servicio de Pediatría del Hospital Vargas de Caracas. Además, la investigación logró definir el riesgo de sufrir una infección por parásitos según la edad del paciente y evidenciar la baja frecuencia para rotavirus. Se intenta con esta información apoyar al Servicio de Pediatría del Hospital Vargas en la toma de decisiones respecto al tratamiento de la diarrea aguda infantil y sentar las bases para futuras investigaciones.

Referencias

1. The Global Burden of Diseases (GBD), Diarrhoeal Diseases Collaborators. Estimates of global, regional, and national morbidity, mortality, and etiologies of diarrhoeal diseases: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015. *Lancet Infect Dis.* 2017; 17:909-48. Disponible en: [http://www.thelancet.com/pdfs/journals/laninf/PIIS1473-3099\(17\)30276-1.pdf](http://www.thelancet.com/pdfs/journals/laninf/PIIS1473-3099(17)30276-1.pdf). Acceso 14 de junio 2017.
2. Ministerio del Poder Popular para la Salud (MPPS). Boletín epidemiológico 52 2016 Disponible en: <https://www.ovsalud.org/descargas/publicaciones/documentos-oficiales/Boletin-Epidemiologico-2016.pdf>. Acceso 28 de enero 2017.
3. Lanata CF, Fischer-Walker CL, Olascoaga AC, Torres CX, Aryee MJ, Black RE, for the Child Health Epidemiology Reference Group of the World Health Organization and UNICEF. Global Causes of Diarrheal Disease Mortality in Children, 5 Years of Age: A Systematic Review. *PLoS One.* 2013; 8:e72788. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24023773>. Acceso 8 de febrero 2017.
4. Thapar N, Sanderson IR. Diarrhoea in children: an interface between developing and developed countries (review). *Lancet.* 2004; 363:641-53.
5. Urrestarazu M, Liprandi F, Pérez de Suárez E, González R, Pérez-Schael I. Características etiológicas, clínicas y sociodemográficas de la diarrea aguda en Venezuela. *Rev Panam Salud Pública* 1999; 6:149-56.
6. Villalobos LB, Martínez RE, Blanco AC, Maldonado AJ, Bastardo JW. Molecular detection of shiga toxin-producing (STX1) *Escherichia coli* and rotavirus in stools of children with diarrhea. *Invest Clin.* 2008; 49:387-95.
7. Hannaoui E, Villalobos L, Martínez R, Maldonado A, Hagel I, Bastardo J. *Escherichia coli* diarregénica asociada a casos de diarrea aguda en niños de Cumaná, Venezuela. *Invest Clin.* 2010; 51:489-500.
8. Cermeño J, Hernández de Cuesta I, Camaripano M, Medina N, Guevara A, Hernández R. Etiología de diarrea aguda en niños menores de 5 años Ciudad Bolívar, Venezuela. *Rev Soc Ven Microbiol.* 2008; 28:55-60.
9. World Health Organization (WHO). The treatment of diarrhea: a manual for physicians and other senior health workers. WHO. 1995. Disponible en: <http://apps.who.int/medicinedocs/es/m/abstract/Js22386en/>. Acceso 2 de diciembre 2017.
10. Melvin D, Brooke M. Métodos de laboratorio para el diagnóstico de parasitosis intestinales. 1ª edición. México-D.F.: Editorial Interamericana; 1971.
11. Winn W, Allen S, Janda W, Koneman E, Procop G, Schreckenberger P, Woods G. Koneman: Diagnóstico microbiológico. 6ta ed. Madrid-España: Editorial Médica Panamericana; 2008.
12. Mata M, Parra A, Sánchez K, Alviarez Y, Pérez-

- Barra Luis. Relación clínico-epidemiológica de giardiasis en niños de 0-12 años que asisten a núcleos de atención primaria. Municipio Francisco Linares Alcántara, estado Aragua, Venezuela. Comunidad y Salud. 2016; 14:3-9. Disponible en: http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1690-32932016000100002&lng=es. Acceso 11 junio 2017.
13. Tinuade O, John O, Saheed O, Oyeku O, Fidelis N, Olabisi D. Parasitic etiology of childhood diarrhea. Indian J Pediatr. 2006; 73:1081-4.
 14. Acurero-Yamarte E, Díaz O, Rivero Z, Bracho Á, Calchi La Corte M, Terán *et al.* Enteroparásitos en niños de una comunidad indígena del municipio Machiques de Perijá, estado Zulia Venezuela. Kasmera. 2016; 44: 26-34. Disponible en: http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0075-52222016000100005&lng=es. Acceso 25 de febrero 2018.
 15. Harhay MO, Horton J, Olliaro PL. Epidemiology and control of human gastrointestinal parasites in children. Expert Rev Anti Infect Ther. 2010; 8:219-34.
 16. Oliveira FMS, Neumann E, Gomes MA, Caliarí MV. *Entamoeba dispar*: Could it be pathogenic. Trop Parasitol. 2015; 5:9-14. doi:10.4103/2229-5070.149887.
 17. Jia Hu, Torres A. Enteropathogenic *Escherichia coli*: foe or innocent bystander? Clin Microbiol Infect. 2015; 21:729-34.
 18. González R, Díaz C, Mariño M, Cloralt R, Pequeneze M, Pérez-Schael I. Age-specific prevalence of *Escherichia coli* with localized and aggregative adherence in Venezuelan infants with acute diarrhea. J Clin Microbiol. 1997; 35:1103-7.
 19. Michelli E, Millán A, Rodulfo H, Michelli M, Luiggi J, Carreño N, de Donato M. Identificación de *Escherichia coli* enteropatógena en niños con síndrome diarreico agudo del Estado Sucre, Venezuela. Biomédica. 2016; 36:118-27.
 20. Blanco M, Blanco JE, Dahbi G, Mora A, Alonso MP, Varela G, *et al.* Typing of intimin (eae) genes from enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC) isolated from children with diarrhoea in Montevideo, Uruguay: Identification of two novel intimin variants (muB and xiR/beta2B). J Med Microbiol. 2006; 55:1165-74. Disponible en: <http://jmm.microbiologyresearch.org/content/journal/jmm/10.1099/jmm.0.46518-0#tab2>. Acceso 5 de mayo 2017.
 21. Watterworth L, Topp E, Schraft H, Leung K. Multiplex PCR-DNA probe assay for the detection of pathogenic *Escherichia coli*. J Microbiol Methods. 2005; 60:93-105.
 22. Toledo MRF, Alvariza M do CB, Murahovschi J, Ramos SRTS, Trabulsi LR. Enteropathogenic *Escherichia coli* serotypes and endemic diarrhea in infants. Infect Immun. 1983; 39:586-9.
 23. Ochoa TJ, Mercado EH, Durand D, Rivera FP, Mosquito S, Contreras C y col. Frecuencia y patotipos de *Escherichia coli* diarrogénicas en niños peruanos con y sin diarrea. Rev Peru Med Exp Salud Pública. 2011; 28: 13-20. Disponible en: http://www.scielosp.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-46342011000100003&lng=en. <http://dx.doi.org/10.1590/S1726-46342011000100003>. Acceso 20 de diciembre 2016.
 24. Kaper JB, Nataro JP, Mobley HL. Pathogenic *Escherichia coli*. Nat Rev Microbiol. 2004; 2:123-40.
 25. Horne C, Vallance BA, Deng W, Finlay BB. Current progress in enteropathogenic and enterohemorrhagic *Escherichia coli* vaccines. Expert Rev Vaccines. 2002; 1:483-93.
 26. Sociedad Venezolana de Puericultura y Pediatría. Consenso de Diarrea. Arch Ven Puer Pediatr. 2009; 72:43-7.
 27. Ávila-Rodríguez EH, Ávila-Rodríguez A, Araujo-Contreras JM, Villarreal-Martínez A, Taren D, Factores asociados a parasitosis intestinal en niños de la consulta ambulatoria de un hospital asistencial. Rev Mex Pediatr. 2007; 71:5-8.
 28. 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; 23:S161-S7.
 29. Organización Mundial de la Salud/ Organización Panamericana de la Salud (OMS/OPS). Vacunas e inmunización: datos, mapas y estadísticas. Disponible en: http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_to_pics&view=readall&cid=7342&Itemid=40929&lang=es. Acceso 10 de noviembre 2017.
 30. De Oliveira LH, Giglio N, Ciapponi A, Martí S, Kuperman M, Sanwou NJ, *et al.* Temporal trends in diarrhea-related hospitalizations and deaths in children under age 5 before and after the introduction of the rotavirus vaccines in four Latin American countries. Vaccine. 2013; 31:C99-C108.