

11237
Sej
14



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO
HOSPITAL GENERAL TACUBA
I. S. S. S. T. E.

INCIDENCIA DE ROTAVIRUS EN LACTANTES CON DIARREA
AGUDA DEMOSTRADA MEDIANTE ELECTROFORESIS DEL
ARN VIRAL

TESIS DE POSTGRADO

Para obtener el titulo en la Especialidad de

PEDIATRIA MEDICA

P r e s e n t a

DR. DEMETRIO ARTURO BERNAL ALCANTARA

México, D. F.

1989

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

I N D I C E

CONTENIDO	PAGINA
INTRODUCCION	1
MARCO TEORICO	3
HIPOTESIS, JUSTIFICACION Y OBJETIVOS	15
MATERIAL Y METODOS	18
RESULTADOS	25
DISCUSION	28
CONCLUSIONES	31
RESUMEN	33
BIBLIOGRAFIA	35

I N T R O D U C C I O N

Un problema cotidiano en el quehacer médico, y sobre todo en el pediátrico, es el síndrome diarreico agudo. Este es uno de los principales causantes de la morbilidad en la población infantil de los países no desarrollados, como lo es México.

En los últimos doce años se ha demostrado a través de trabajos clínicos, epidemiológicos e inmunológicos que uno de los agentes etiológicos de la diarrea aguda más común es el rotavirus.

Dicha afección se presenta con más frecuencia en menores de cinco años, siendo más importante entre los seis meses y los dos años. Su incidencia depende de la región geográfica y del clima. Por lo tanto, en países con clima templado la morbilidad se eleva en los meses fríos, mientras que, en los de clima tropical o subtropical es constante en el transcurso del año.

El diagnóstico se puede suponer clínicamente por la triada hipotermia, diarrea y vómito, aunque hay bacterias que tienen similar presentación clínica. La participación del rotavirus se puede demostrar sin lugar a dudas con microscopía electrónica, pero, como es muy costoso y requiere de personal experimentado, su uso está limitado. En consecuencia, se han desarrollado otros métodos de laboratorio más factibles de utilizar. De estos, destaca la electroforesis del ARN ví

ral, método sensible, específico, sencillo y de costo no elevado. -

Aunque uno de los motivos comunes de atención en consulta de urgencias y del área de hospitalización del servicio de pediatría del Hospital General Tacuba es el síndrome diarreico, no se sabe realmente la frecuencia de éste. Así mismo, tampoco se conoce la frecuencia con que participa el rotavirus en la etiología. -

El abordaje diagnóstico de la diarrea aguda que se supone sea de origen viral, en todos los casos, se basa en la sospecha clínica y en exámenes de laboratorio no específicos debido a que en el Hospital no se cuenta con los exámenes ideales. -

Por lo anterior, la mayor parte de los tratamientos se basa en actitudes empíricas, y no es difícil que en ocasiones se utilicen antibióticos y otros medicamentos en forma excesiva.

M A R C O T E O R I C O

Se ha estimado que aproximadamente 420,000 niños menores de cinco años mueren cada año en América Latina, y que la mayor parte de las víctimas tiene menos de un año de edad (1). El síndrome diarreico es responsable de 75,729 de estas muertes; las cifras de frecuencia de diarrea que se han comunicado han sido relativamente bajas a causa de las deficiencias de registro estadístico que impera en algunos países. No obstante, incluso estas cifras son suficientes para brindar cierta idea de la importancia de este problema de salud (2).

Las diarreas continúan siendo en México la causa más frecuente de muerte en niños menores de cinco años de edad (3). En 1980 las enteritis constituyeron el 21% de los casos de enfermedades transmisibles notificados a la SSA en toda la República Mexicana. En el Hospital Infantil de México, se ocuparon 6,712 días/cama por niños con enfermedades diarreicas, lo que constituyó el 9 % del total de días/cama de ese hospital; el tiempo promedio de estancia por paciente fue de 12 días. En ese mismo año, en el ISSSTE se ocuparon 58,000 días/cama, con tiempo promedio de estancia de ocho días; 95 % del total correspondió a niños menores de cinco años y 87 % a menores de un año. En el IMSS se ocuparon 305,952 días/cama, con tiempos promedio por paciente de seis días; 86 % de los casos correspondió a niños menores de cinco años y 43 % a menores de un año (4).

El síntoma diarrea suele ser una manifestación común a una amplia variedad de enfermedades del tubo digestivo que afectan a los niños. Mientras en algunas entidades es de moderada intensidad, en otras constituye la condición dominante en el complejo sintromático. La diarrea es causada por un gran número de agentes genéricamente agrupados en: bacterianos, virales, parasitarios, químicos y antigénicos. En ocasiones este síntoma ocurre como consecuencia de alteraciones orgánicas y fisiológicas del tubo digestivo y sus anexos, o bien es debido a anomalías inmunológicas o a ciertas características psicológicas inherentes al huésped. El tiempo de evolución del episodio de diarrea suele ser el primer criterio que tiene en cuenta el médico, con el propósito de discriminar entre las enfermedades de corta duración y las de evolución prolongada. La diarrea aguda se acompaña de manifestaciones compatibles con su proceso infeccioso o con una intoxicación alimentaria que se establece en un lapso de horas o en el transcurso de un par de días. Con frecuencia se identifican algunos hechos epidemiológicos que permiten reafirmar el diagnóstico de una enfermedad diarreica aguda de origen infeccioso. Estas enfermedades ponen en juego complejos mecanismos de defensa y ordinariamente son autolimitados sin más ayuda terapéutica que el mantenimiento del equilibrio hídrico y electrolítico, el control de la fiebre, el empleo de una dieta apropiada y otras medidas generales. Antes de quince días, la mayoría de los niños normalizan su función gastrointestinal, lo cual les permite consumir la dieta que acostumbraban en el estadio previo a la enfermedad. En base a esta observación, se califica como

diarrea aguda aquella que tiene menos de quince días de evolución (5).

La importancia de las diarreas agudas en la infancia está relacionada con su alta morbimortalidad y graves consecuencias, principalmente desnutrición, retardo en el crecimiento y muerte en el peor de los casos (6).

Los procedimientos técnicos de diagnóstico más actualizados, han demostrado que una proporción importante de los episodios de diarrea aguda en los niños lactantes tienen origen viral (7,8,9, - 10).

La diarrea viral puede dividirse en dos grupos etiológicos: aquella producida por los rotavirus y la producida por agentes semejantes a los virus Norwalk, actualmente se reconocen otros agentes virales que parecen tener alguna participación etiológica, tales como los adenovirus, astrovirus, calicivirus, coronavirus y los pequeños virus redondos (11).

De todos los gérmenes señalados, los rotavirus son los agentes causales más frecuentemente involucrados en la diarrea aguda. Estudios seroepidemiológicos demuestran que la infección por rotavirus afecta a niños en épocas muy tempranas de la vida y es causa frecuente de gastroenteritis adquirida intrahospitalariamente durante internamientos prolongados (12,13,14).

El nombre rotavirus es derivado de la palabra latina rota, la cual significa rueda y fue sugerido por el aspecto que presentan en la microscopía electrónica, donde dan la apariencia de rueda o anillo con capas polipéptidas rodeando al virión que contiene ARN de dos cadenas (15,16).

El rotavirus fue identificado inicialmente en las diarreas de ratones lactantes y en terneras, posteriormente en simios, cabras, caballos, conejos, ciervos, antílopes y en aves. Los rotavirus del hombre se descubrieron simultáneamente en Australia, Inglaterra y Canadá (17).

La existencia de estos virus fue señalada primero en 1973 por Ruth Bishop y sus colegas de Melbourne quienes encontraron una lesión duodenal concomitante con invasión viral del epitelio intestinal y con excreción fecal masiva de virus durante el periodo agudo de la enfermedad pero no durante la convalecencia. Poco después, estudios inmunitarios con técnicas fluorescentes y la infección de un voluntario mostraron participación difusa del epitelio de las vellosidades intestinales. Casi todos los demás estudios señalan una relación estrecha entre la excreción de rotavirus y la diarrea aguda en los lactantes. Sin embargo, informes de Francia señalan que un número importante de niños asintomáticos eliminan rotavirus en sus deposiciones. Otro hecho curioso observado en varios centros hospitalarios y no aclarado del todo, es la excreción fecal de partículas de rotavirus por recién nacidos asintomáticos (18).

Los rotavirus se clasifican como un nuevo género en la familia reoviridae. Esta familia comprende seis distintos géneros: reovirus, orbivirus, rotavirus, phytoreovirus, fujivirus y un grupo de virus citoplásmicos polihédricos aún sin nombre. Los rotavirus son antigénicamente diferenciables de los reovirus por fijación de complemento y electromicroscopía inmune, del reovirus tipo 1 por neutralización, de reovirus tipo 2 y 3 por radioinmunoensayo, de un gran número de orbivirus por fijación de complemento y del virus de la lengua azul por electromicroscopía inmune (19).

Los rotavirus tienen una apariencia morfológica distintiva por tinción negativa con microscopía electrónica. La partícula completa tiene una doble capa de cápsides y mide 70 nm de diámetro. Las partículas completas también se designan como partículas lisas porque el margen externo de la pared del cápside exterior tiene una apariencia circular lisa bien definida. Partículas de armazón simple que miden 55 nm de diámetro se designan como partículas irregulares por la falta de capa lisa externa y los capsómeros del cápside interno se proyectan a la periferia dando una apariencia circular. El núcleo de forma hexagonal mide 37 nm de diámetro. La partícula completa con sus dos capas L (ligera) y D (densa) es infectiva, cuando se pierde la parte polipeptídica externa, queda una partícula simple D no infectiva, conservando su capacidad de revertir dentro del ciclo de réplica viral hacia una partícula íntegra. La infectividad del rotavirus se puede aumentar más de 100 veces cuando se exponen a la acción de la tripsina, propiedad que-

ahora se utiliza para propagarlos en cultivo de células de riñón de mono; la tripsina rompe la estructura del polipéptido L en dos fragmentos que permanecen anclados al virión facilitando su conversión de L a D. Esta acción se presenta durante la ingestión y paso intestinal de los rotavirus en la infección humana (16,19).

El genoma del rotavirus contiene 11 segmentos de doble cadena de ARN con rangos de peso molecular de 2×10^5 a 2.2×10^6 daltons. La estimación del peso molecular de los 11 segmentos es de 11×10^6 a 14×10^6 daltons. Los segmentos del ARN caen dentro de 4 clases de tamaño basadas en la longitud del contorno medidas por microscopía electrónica. La distribución de los 11 segmentos dentro de estas 4 clases de tamaño se muestra por electroforesis del ARN con gel de poliacrilamida. Estos segmentos de ARN se numeran en orden de migración durante la electroforesis, con el segmento más lento de RNA designado 1, etc. Hay cuatro segmentos largos, dos de tamaño medio, tres segmentos pequeños y dos segmentos muy pequeños. En el genoma viral cada molécula contiene un mensaje monocistrónico expresándose en un polipéptido viral. Uno de ellos es una glicoproteína, que representa la proteína mayor de la cápside superficial y es responsable de la producción de anticuerpos neutralizantes (el segmento 8 codifica para la síntesis de esa glicoproteína). En esta región se encuentra la clave de la diversidad antigénica de los rotavirus y como es de suponer, ahí podría encontrarse la respuesta para la producción de una vacuna. Además de los antígenos serotípicos específicos, los rotavirus poseen un antígeno común de grupo, demostrado por di-

versas técnicas, fundamentalmente las de tipo ELISA. El segmento 4 - del genoma es responsable de producir hemaglutinación de globulos rojos O humanos; igualmente codifica para la acción de la tripsina, - siendo responsable de la restricción del crecimiento en cultivo de tejido no adicionado de esa enzima (16). -

Las especificidades antigénicas de los rotavirus determinadas - por las pruebas de fijación de complemento, ELISA e inmunoadherencia- los divide en subgrupos, mientras que la valoración de anticuerpos - neutralizantes los clasifica en serotipos. Se conocen dos subgrupos - que son determinados por la migración electroforética de los segmentos 10 y 11 de ARN. El subgrupo 1 corresponde a migración "corta" y - el subgrupo 2 a migración "larga"; esto nos permite tipificar electroforéticamente las cepas prevalentes en una comunidad o en un medio - particular, durante un periodo determinado. No se ha podido establecer una correlación entre el subgrupo antigénico y la virulencia. Se conocen cuatro serotipos de rotavirus humano. Dos de éstos ocurren en animales. Los serotipos 1 y 3 son los agentes que con mayor frecuencia son identificados en casos humanos, pero todavía no se ha aclarado totalmente la relación que existe entre virulencia, resistencia - del huésped, distribución geográfica y serotipo. Los anticuerpos séricos al rotavirus se encuentran en el 90 % de los niños de dos años estudiados en diferentes partes del mundo. Aunque no se sabe hasta quegrado es protectora esta reacción inmunitaria, se ha observado que en un mismo niño pueden ocurrir infecciones sucesivas con diferentes cepas. Así mismo, niños con inmunodeficiencias combinadas pueden tener grandes dificultades para difundir el virus (17,18).

Los rotavirus son muy resistentes a las altas temperaturas, pH-ácido, solventes de lípidos y detergentes no iónicos. El cloro es relativamente ineficaz como inactivador de los rotavirus, mientras que el etanol al 70% o más es muy eficaz (17).

Los rotavirus se han detectado en cualquier parte del mundo - donde se han buscado (20).

Los rotavirus muestran un consistente patrón estacional de infección en países desarrollados, con picos en los meses fríos de cada año (19,21,22,23,24,25,26,27). En países como México se observa durante todo el año, con cierto aumento durante el invierno (16,28,29,30).

La gastroenteritis por rotavirus es generalmente una enfermedad de recién nacidos y menores de cinco años. La frecuencia de infecciones por rotavirus va del 20 hasta el 50% de los casos de gastroenteritis. Los datos de estudios obtenidos en población abierta son muy escasos y de acuerdo con la información en diferentes ciudades del mundo, la frecuencia de rotavirus en una comunidad que presenta casos de diarrea es de aproximadamente 10 a 25 %, similar porcentaje obtenido en poblaciones de la República Mexicana (17,29,30,31).

La propagación de la enteritis por rotavirus humano es de persona a persona y probablemente fecal-oral. La dureza o resistencia del virus es impresionante, ya que éste conserva su virulencia mucho después de haberse diseminado, como lo demuestra su capacidad para provo

car infecciones nosocomiales después de haber permanecido durante largos periodos sobre los enseres, paredes y pisos del hospital (18).

En cuanto a las características clínicas, el modelo de los síntomas experimentados por un niño pequeño en reacción al primer contacto con el rotavirus humano es más bien uniforme. La gravedad de los síntomas y su efecto sobre el niño varían mucho ya que dependen de numerosas variables como la extensión de la lesión intestinal, la resistencia y las reservas del huésped. Dos días después del contacto con el virus se observa febrícula, anorexia y generalmente vómitos que pueden durar hasta 48 horas. La diarrea acuosa y el cólico empiezan al segundo día y duran unos seis días. La eliminación fecal puede ser masiva y provocar una rápida deshidratación que puede ser mortal, y desequilibrio acidobásico. Los signos físicos de deshidratación, pérdida de peso corporal, disminución de la turgencia cutánea, fontanela y ojos hundidos, pueden aparecer antes que uno se de cuenta de la diarrea, puesto que las heces líquidas pueden acumularse en la luz intestinal o pueden ser confundidas con orina en los pañales. Durante la fase aguda de la enfermedad, la auscultación del abdomen revela ruidos intestinales hiperactivos. Cuando es difícil evaluar la gravedad, el examen rectal puede ser muy útil al proporcionar una estimación instantánea de la consistencia y volumen de las heces. Aunque, por lo general, el examen de estas heces revela pocas cosas, sangre o exudado celular, pueden encontrarse sustancias reductoras. Lo típico es que la enfermedad cure espontáneamente al cabo de cuatro a diez días, con estabilización de la diarrea durante el sexto día, o antes,

y regreso progresivo del apetito y de la actividad normal. Los datos de laboratorio provenientes de diferentes pacientes muestran concentración más elevada de Na⁺ en las heces con deshidratación isotónica y niveles reducidos de bicarbonato en plasma. Los niños muy graves, - sobre todo los lactantes, pueden presentar hipernatremia o hiponatremia mortal con acidosis considerable. Si el niño estuvo ingiriendo be bid as hiperosmolares (refrescos comerciales, agua de gelatina, jugos de fruta no diluidos) o soluciones con contenido muy elevado de sal - (algunas sopas enlatadas, leche hervida durante mucho tiempo), la pro ba bi li dad de hipernatremia aumenta considerablemente. Los índices hematológicos estandar pueden alterarse por la deshidratación y en algu nos casos se observa un pequeño aumento de la actividad de la transaminasa sérica (17,18,32,33,34,35).

El lactante es el más vulnerable a esta enfermedad, pero en el recién nacido los síntomas pueden ser muy leves o ausentes en presencia de excreción del virus en las heces. En los adultos, el rotavirus raras veces provoca diarrea grave y, por lo general, los síntomas son menos intensos que en los niños, quizá porque casi todos ya desarrollaron antes una reacción inmunitaria a la infección. Los rotavirus pueden producir una infección sintomática crónica en niños inmunodeficientes con una excreción prolongada del virus. Este mismo fenómeno se ha observado en pacientes que han sufrido transplante de médula ósea (17,18).

El diagnóstico de la infección por rotavirus en humanos se hace

por la demostración del virus en las heces o empleando métodos serológicos. La microscopía electrónica es la técnica original de diagnóstico y es el método que se mantiene como estandar para valorar la eficacia de otros métodos. Otro método empleado es la inmunomicroscopía electrónica. Estos métodos requieren de tiempo y experiencia y solamente pueden ser examinadas un número limitado de muestras por día. También se utiliza la inmunofluorescencia para detectar la presencia de antígeno viral en el tejido infectado. Cuando se encuentra presente - un gran número de partículas virales en heces diarreicas, los métodos inmunológicos para la búsqueda del antígeno ofrecen excelentes resultados. De estas técnicas se tienen: fijación de complemento, inmunofluorescencia directa modificada, contrainmunolectroforesis, electroforesis del ARN viral, radioinmunoanálisis y el análisis inmunoenzimático. Los últimos cuatro métodos son sensibles y específicos, así como también de mayor valor práctico para su realización en el laboratorio de un hospital. Recientemente se han desarrollado dos nuevas técnicas para la investigación de antígenos y anticuerpos de rotavirus: la prueba de aglutinación en látex, y el empleo de anticuerpos monoclonales en pruebas de neutralización (9,17,36,37,38,39,40).

De los métodos señalados anteriormente, el que ofrece una alternativa bastante favorable para identificar la presencia de rotavirus en materia fecal, sobre todo para centros hospitalarios con escasos recursos, es la electroforesis del ARN viral pues tiene un índice de sensibilidad y especificidad elevadas, del orden de .94 y .98 respectivamente; además de constituir un método sencillo, rápido y económico (37).

La electroforesis del ARN viral es una técnica rápida de diagnóstico de la diarrea causada por los rotavirus. Está basada en la detección del genoma viral conformado por once moléculas de ARN de distintos tamaños. Esta última propiedad permite identificar el genoma de los rotavirus por el patrón característico que rinde al ser separado por electroforesis en gel. La electroforesis del ARN viral permite una caracterización parcial del rotavirus y la identificación de los para-rotavirus que no es posible realizar con los otros equipos de diagnóstico basados en técnicas inmunológicas (40).

La electroforesis del ARN viral en gel de poliacrilamida y tinción con nitrato de plata, de acuerdo a la técnica de Merrill, se realiza como sigue: La extracción del ARN viral se efectúa al diluir las heces (0.2 g) con volúmenes iguales (100 mL) de amortiguador disruptor (SDS 6% beta-2-mercaptoetanol 0.6%, EDTA 0.036 M), fenol bidistilado con TE (Tris 10 mM, EDTA 3 mM) y cloroformo: isoamílico (24:1). La muestra se homogeniza y centrifuga a 1,500 rpm durante 20 minutos a temperatura ambiente. Se obtienen 50 mL de la fase superior y se mezcla con agarosa al 1% con xylene cyanol al 0.05% (proporción 2:1) y 25 mL de cada muestra se colocan en sendos pozos de gel de poliacrilamida al 10%. El corrimiento electroforético se realiza con intensidad de campo constante, con una corriente de 150 voltios a temperatura ambiente, durante 90 minutos utilizando el amortiguador tris-glicina. Posteriormente, el gel se tiñe con nitrato de plata 0.011 M y se revela con hidróxido de sodio (NaOH) 0.75 M y formaldehído 0.037%. La reacción se detiene con ácido acético al 5%, al aparecer las bandas características del ARN viral en la muestra control.

HIPOTESIS, JUSTIFICACION Y OBJETIVOS

El presente trabajo pretende demostrar que el rotavirus se presenta en lactantes con diarrea aguda, atendidos en el Hospital General Tacuba del ISSSTE, con la frecuencia reportada en la literatura nacional e internacional, aún en primavera y verano debido a que el clima en la Ciudad de México no es tan marcadamente diferenciado como en otros sitios; el rotavirus se transmite por vía fecal-oral y es altamente resistente a temperaturas elevadas.

Así mismo, se pretende demostrar que la práctica de la electroforesis del ARN viral como método diagnóstico es un procedimiento útil, sencillo y necesario en nuestro Hospital.

Conocer la etiología de un cuadro diarreico producido por rotavirus mediante electroforesis del ácido ribonucleico viral permite: Evitar quedarse en el diagnóstico clínico por carecer de estudios más sofisticados; profundizar en los aspectos epidemiológicos del padecimiento; deducir la evolución del mismo; e indicar un tratamiento adecuado.

La utilización de la rotaforesis en el Hospital General Tacuba significaría instituir un método que no tiene precedente y que sería determinante para el manejo de la diarrea de tal etiología, por ser un método rápido y de costo similar al de cultivos bacterianos, y por que evitaría usar injustificadamente antimicrobianos y otros fármacos.

Para el Instituto, lo anterior, se reflejaría en una disminución del gasto en medicamentos innecesarios, y en el paciente el evitar complicaciones por su utilización.

Para el país, como todo tipo de investigación, influir en su desarrollo y progreso; y desde el punto de vista económico, contribuir a la utilización racional del presupuesto público.

En consecuencia, se emprendió el presente estudio con la intención de confirmar las metas previamente señaladas, teniendo como apoyo los siguientes objetivos:

- 1.- Registrar la frecuencia de presentación del rotavirus en menores de dos años enfermos de diarrea aguda.
- 2.- Demostrar que en nuestra Ciudad la diarrea por rotavirus no se presenta únicamente en las estaciones de otoño e invierno.
- 3.- Corroborar que la impresión clínica nos puede orientar hacia una probable etiología viral en niños con diarrea aguda.
- 4.- Corroborar que en la diarrea aguda por rotavirus no hay alteraciones importantes en la fórmula roja y en el examen de las heces.
- 5.- Establecer la posible relación de la diarrea por rotavirus con una de etiología bacteriana o parasitaria.
- 6.- Contribuir a la información epidemiológica de la diarrea aguda por rotavirus.
- 7.- Verificar la factibilidad de la electroforesis del ARN viral, y-

su necesidad real en el Hospital General Tacuba y/o en los hospitales de la Institución.

- 8.- Establecer la utilidad de la rotaforesis en el Hospital General-Tacuba y/o en los hospitales de la Institución.

M A T E R I A L Y M E T O D O S

En forma prospectiva, transversal, descriptiva y abierta, - durante un periodo de siete meses, de marzo a septiembre de 1989, se estudiaron 99 pacientes que fueron atendidos en el Hospital General - Tacuba del ISSSTE.

Los criterios de inclusión fueron:

- 1.- Pacientes lactantes no mayores de dos años.
- 2.- Evidencia clínica de diarrea aguda de menos de quince - días de evolución.
- 3.- Procedentes del servicio de urgencias pediátricas o del área de hospitalización de pediatría.

Los criterios de exclusión fueron:

- 1.- Pacientes con edad mayor a la señalada.
- 2.- Cuadro clínico de diarrea de evolución prolongada.
- 3.- Evidencia de enfermedad intercurrente.

A su ingreso al hospital o durante su estancia, se les tomó - muestra única de sangre y materia fecal para efectuar biometría hemática, búsqueda de sangre en heces, determinación de pH y azúcares reductores en heces, leucocitos en moco fecal, amiba en fresco y coprocultivo.

Se llevó a cabo registro cuidadoso de cada paciente, anotando - edad, sexo, peso, y resumen clínico especificando las características-

de las evacuaciones.

La detección del rotavirus se realizó a través de la identificación del ARN viral mediante electroforesis en gel de acrilamida, de acuerdo a la técnica del Instituto Nacional de Higiene. Los equipos de rotaforesis fueron proporcionados, sin costo alguno, por dicho Instituto.

El equipo de rotaforesis es un equipo de diagnóstico para rotavirus basado en la detección directa de su ácido ribonucleico. El ARN de estos virus consiste de 11 moléculas de distinto tamaño que dan un patrón característico de bandas después de una electroforesis en gel de acrilamida.

MATERIAL INCLUIDO EN EL EQUIPO

Un frasco con 5 ml de solución desintegradora A5X.

Un frasco con 12 ml de solución extractora del ARN BIX.

Un tubo de ensayo con 3 ml de solución gelificadora CIX.

Un frasco con 28 ml de solución amortiguadora para electroforesis D10 X.

Un frasco con 28 ml de solución fijadora E10 X.

Un frasco con 3 ml de solución para tinción F100 X.

Un frasco con 3 ml de solución reveladora G 125 X.

Un frasco con 1.5 ml Control positivo (lisado de virus cepa - SA11).

Una cámara de electroforesis.

Dos placas de grafito

Dos terminales (bananas)

Una caja con 5 geles y 2 separadores.

**EQUIPO, REACTIVOS Y MATERIAL NECESARIO QUE DEBE TENER
EL LABORATORIO PARA LOS ENSAYOS**

EQUIPO:

- 20 tubos de ensayo de 10 x 100 mm
- 15 Pipetas de 1 ml
- 3 Pipetas de 5 ml
- 1 Baño de agua de temperatura constante
- 2 Probetas de 50 y 100 ml
- 1 Recipiente de vidrio de fondo plano
- 1 Par de guantes desechables o de hule limpios
- 10 Pipetas Pasteur o pipetas de 1 ml
- 1 Espátula
- 1 Fuente de poder (voltaje 0-500 voltios, con cronómetro).
- 1 Agitador (vortex)
- 1 Centrífuga
- 1 Mechero de Bunsen
- 1 Soporte universal
- 3 Gradillas

REACTIVOS Y SOLUCIONES

Agua destilada libre de cloruros (no debe formar precipitado con una gota de solución F que contiene Nitrato de plata).

6.- Centrifugar a 1,500 rpm durante 10 minutos. Después de la centrifugación deben obtenerse dos fases y la fase superior debe estar clara.

7.- Tomar 0.15 ml (tres gotas) de la fase acuosa superior de cada tubo y colocarle en el tubo correspondiente de la segunda serie.

B. ELECTROFORESIS

1.- Poner a fundir el medio gelificador CIX en baño de agua hirviendo (la fusión completa tarda aproximadamente 15 min).

2.- Colocar la segunda serie de tubos conteniendo las muestras correspondientes en baño de agua a 60°C con el objeto de mantenerlos a la misma temperatura del medio gelificador.

3.- Adicionar 0.05 ml (una gota) de solución CIX (bien fundida) a los tubos mantenidos a 60°C.

4.- Sacar el gel de su bolsa, poner los separadores de teflón entre los vidrios a ambos lados del gel cuidando que queden perfectamente adosados. (Asegurarse que los geles no rebasen la fecha de caducidad).

5.- Con una pipeta Pasteur poner las muestras en los pozos del gel de acrilamida (cuidando de no derramar muestra en los pozos adyacentes).

6.- Después de unos cinco minutos comprobar que las muestras han gelificado inclinando el gel. Una vez solidificadas las muestras, colocar el gel en la cámara de electroforesis, de tal manera que los pozos del gel queden orientados hacia uno de los electrodos de la cámara.

- 7.- Agregar 50 ml de solución D10X a la cámara diluida 1:10 en agua destilada. Eliminar las pequeñas burbujas golpeando o moviendo suavemente el gel. El gel debe quedar totalmente cubierto con la solución D10X diluida y ésta debe hacer contacto con los electrodos.
- 8.- Conectar los electrodos. El electrodo (-) al lado de los pozos y conectar la fuente de poder fijando la corriente eléctrica a 100 volts. El colorante debe migrar hacia el polo (+) a una velocidad de 1 - 2 cm en 30 minutos aproximadamente.

Continuar la electroforesis hasta que todo el colorante haya salido del gel. También puede utilizarse voltaje hasta 150 como máximo para obtener resultados más rápidos, pero esto deforma ligeramente el perfil de bandas. Si se desea se puede usar voltajes menores, la única consecuencia será que la electroforesis tardará más.

C. TINCION

Usar guantes limpios para manipular el gel, la tinción que se utiliza es muy sensible y teñirá sus huellas digitales si toca el gel con sus dedos.

- 1.- Una vez terminada la electroforesis levantar uno de los vidrios con una espátula, cortar una esquina del gel para indicar donde quedó colocada la muestra 1.

Poner el gel en un recipiente de vidrio de fondo plano y lavar por 30 minutos con solución E10X diluida 1:10 en agua destilada (50 ml).

- 2.- Retirar completamente la solución E10X diluida, lavar por 30 minutos con 50 ml de solución F100X diluida 1:100 en agua destilada.
- 3.- Retirar la solución F y enjuague con agua destilada 2 a 3 veces.
- 4.- Agregar 50 ml de solución G125X diluida 1:125 en NaOH al 3 %. Agite ocasionalmente. Una vez que aparezcan bandas en su control positivo retire la solución.
- 5.- Detener la reacción con ácido acético al 1 % diluido 1:100 en agua destilada (50 ml).
- 6.- Enjuagar el gel con agua destilada y si se desea guardarle consérvelo entre los mismos vidrios.

D. INTERPRETACION

La prueba se considera positiva (si hay presencia de rotavirus) en cualquier muestra donde se observen al menos las cuatro primeras bandas.

A N A L I S I S E S T A D I S T I C O

Los datos fueron analizados mediante la prueba de la mediana y - la prueba estadística no paramétrica χ^2 , así como por los intervalos - de confianza.

R E S U L T A D O S

Se estudiaron noventa y nueve pacientes en la forma establecida. Ochenta y seis fueron lactantes, treinta y cinco femeninos y cincuenta y uno masculinos. Trece fueron recién nacidos, cinco femeninos y ocho masculinos.

Se encontró positividad a rotavirus en 22 de los 99 niños estudiados, lo cual corresponde a una frecuencia de 22.2 % (nueve femeninos y trece masculinos, relación F/M = 1:1.4). Veinte correspondieron a lactantes (8 femeninos y 12 masculinos, relación F/M = 1:1.5) lo que representa el 23.2 % de su grupo de edad. Dos fueron recién nacidos - (uno por sexo) con frecuencia de 15.3 % para su grupo de edad (cuadro 1, figura 1). Al analizarlos en términos de intervalos de confianza al 95 % de significancia, los intervalos reportados en base a este estudio (14.2%, 32% para lactantes, -43%, 34.8% para recién nacidos, y 14%, 30.4% para el total de pacientes), contienen puntos del intervalo reportado en la literatura nacional e internacional. Es de esperar que - al incrementarse el tamaño de la muestra se reduzca la amplitud de los intervalos, quedando su valor central entre 22 y 23%. Por otra parte, no se encontró correlación entre sexo y edad. La incidencia de rotavirus en función de la edad, muestra una incidencia mayor en los grupos de 1 a 12 meses de edad, con una mediana de 7 meses de edad (cuadro 2, figura 2).

Los casos positivos a rotavirus se presentaron en todos los me--

Cuadro I
INCIDENCIA DE ROTAVIRUS EN
NIÑOS CON DIARREA AGUDA
POR CATEGORIAS

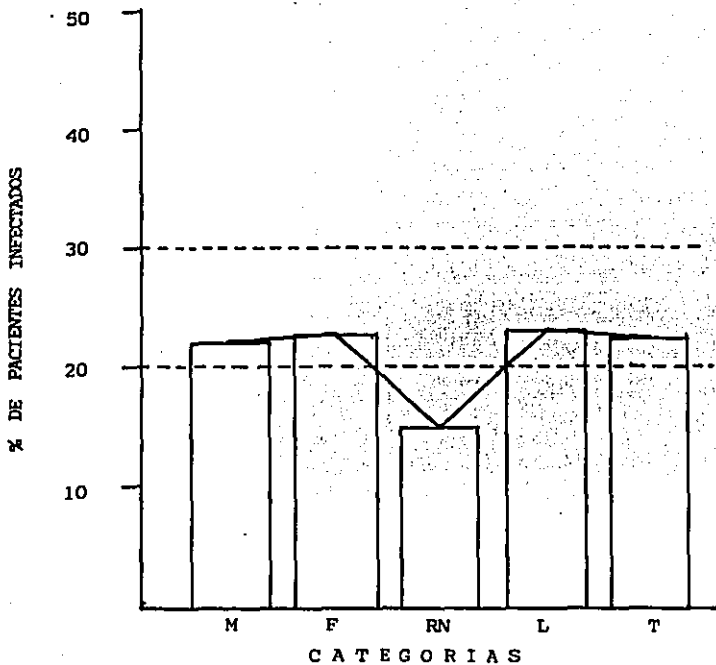
Grupos de edad	Casos Estudiados			Casos Positivos			
	M	F	T	M	F	T	%
Recién nacidos+	8	5	13	1	1	2	15.3
Lactantes*	51	35	86	12	8	20	23.2
T O T A L**	59	40	99	13	9	22	22.2

+ Int. de conf. = -43%, 34.8%

* Int. de conf. = 14.2%, 32%

** Int. de conf. = 14%, 30.4%

$\chi^2 = -0.74$



M= masculinos 22.0 % RN= recién nacidos 15.3 %
 F= femeninas 22.5 % L = lactantes 23.2 %
 T= total 22.2 %

Fig. 1.- Frecuencia de incidencia de diarrea aguda por rotavirus en niños atendidos en el Hospital General Tercera de la Ciudad de México, de marzo a septiembre de 1989; presentada por categorías.

C u a d r o I I
DISTRIBUCION DE PACIENTES CON
DIARREA AGUDA POSITIVOS A ROTAVIRUS
EN GRUPOS ETARIOS

Grupos de edad (meses)	P P R			%
	F	M	T	
- de 1	1	1	2	9.0
1 a 6	3	5	8	36.3
7 a 12	2	5	7	31.8
13 a 18	1	1	2	9.0
19 a 24	2	1	3	13.6
T O T A L	9	13	22	100.0

PPR = Pacientes positivos a rotavirus.
 Mediana = siete meses de edad.

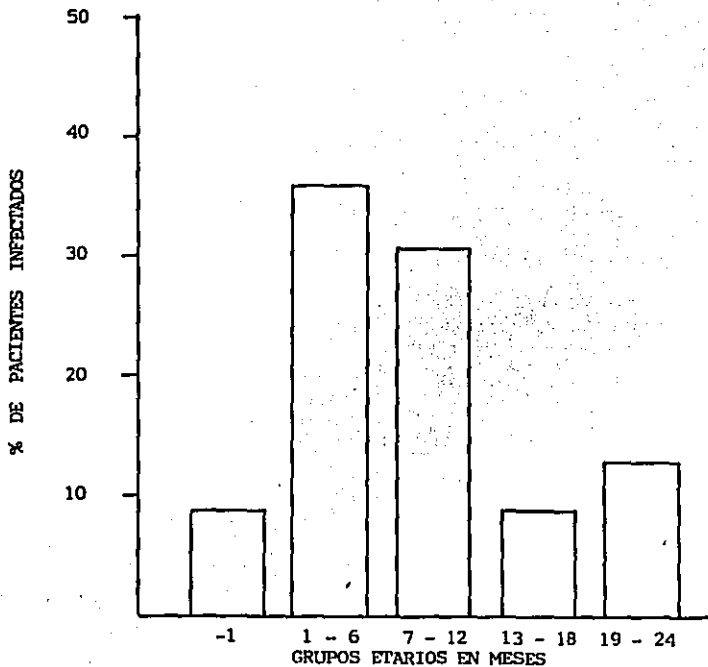


Fig.2.- Frecuencia de pacientes, por grupos etarios, con diarrea aguda por rotavirus, atendidos en el Hospital General Tacuba del ISSSTE en la Ciudad de México, de marzo a septiembre de 1989.

ses del estudio, con excepción del primero, y la distribución de la frecuencia relativa de estos casos en el lapso del mismo fue mayor al inicio de la primavera y al final del verano (cuadro 3, figura 3).

El síndrome diarreico en los pacientes con rotavirus tuvo como manifestaciones predominantes: hipertermia (86.3 %) en valores promedio de 37.8°C y una duración de dos días; evacuaciones disminuidas de consistencia (72.7 % + 22.7 %) de aspecto líquido y semilíquido, normal olientes, en número de 4 a 10 al día, con sangre en los casos en los que participó *Entamoeba histolytica* en la etiología de la diarrea y en ningún caso en los que el rotavirus fue el único causante, la mucosidad se presentó con escasa frecuencia y sin relación significativa con el germen patógeno; vómito en 63.6 % y deshidratación en el mismo porcentaje. Un paciente presentó crisis convulsivas simples, relacionadas a la hipertermia. (cuadro 4, figura 4).

En todos los pacientes positivos a rotavirus en los que éste fue el único causante, el recuento de leucocitos en moco fecal resultó negativo. En ningún paciente se manifestó intolerancia a disacáridos.

Los resultados de la biometría hemática no mostraron alteraciones con respecto al recuento de leucocitos en todos los casos en los que el rotavirus fue el único causante de la diarrea. Se presentó leucocitosis a expensas de los neutrófilos en los casos en los que hubo participación bacteriana. En seis casos se encontraron cifras de hemoglobina por abajo de lo normal, sin relación alguna con el padecimiento.

C u a d r o I I I
INCIDENCIA DE CASOS DE DIARREA
AGUDA POSITIVOS A ROTAVIRUS
POR MESES

Meses	Nº de casos	%
Marzo	0	0.0
Abril	5	22.7
Mayo	5	22.7
Junio	1	4.5
Julio	2	9.0
Agosto	5	22.7
Septiembre	4	18.8
T O T A L	22	100.0

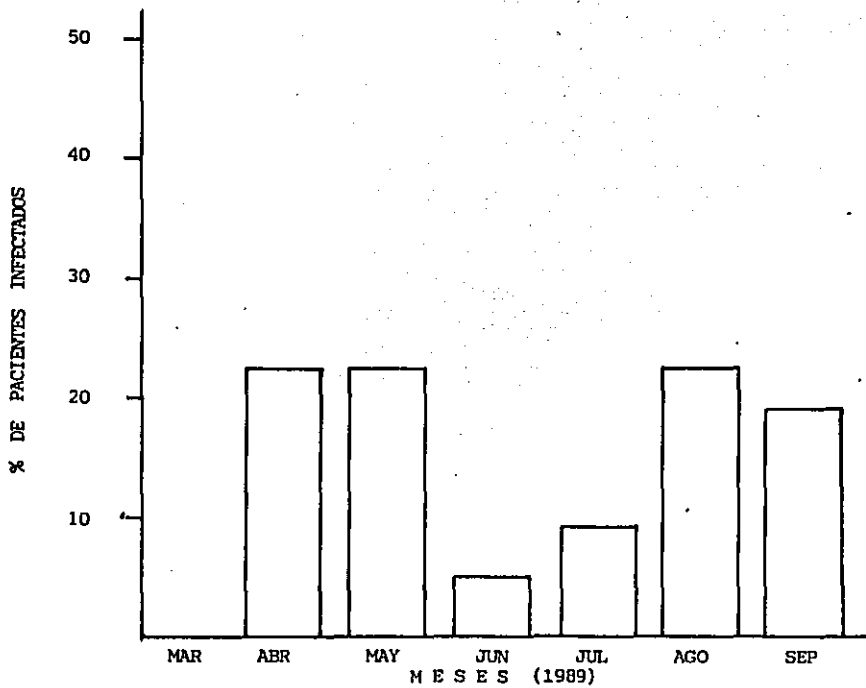


Fig.3.- Frecuencia relativa de casos de diarrea aguda por rotavirus en niños atendidos en el Hospital General Tacuba del ISSSTE en la Ciudad de México, de marzo a septiembre de 1989.

C u a d r o I V
FRECUENCIA DE SINTOMAS EN 22 NIÑOS
CON DIARREA AGUDA PRODUCIDA POR ROTAVIRUS

S í n t o m a s	Nº de pacientes	%
Hipertermia	19	86.3
Evacuaciones líquidas	16	72.7
Vómito	14	63.6
Deshidratación	14	63.6
Mucosidad	8	36.3
Evacuaciones semifluidas	5	22.7
Sangre en heces	5	22.7
Evacuaciones semisólidas	1	4.5
Convulsiones	1	4.5
T O T A L	22	100.0

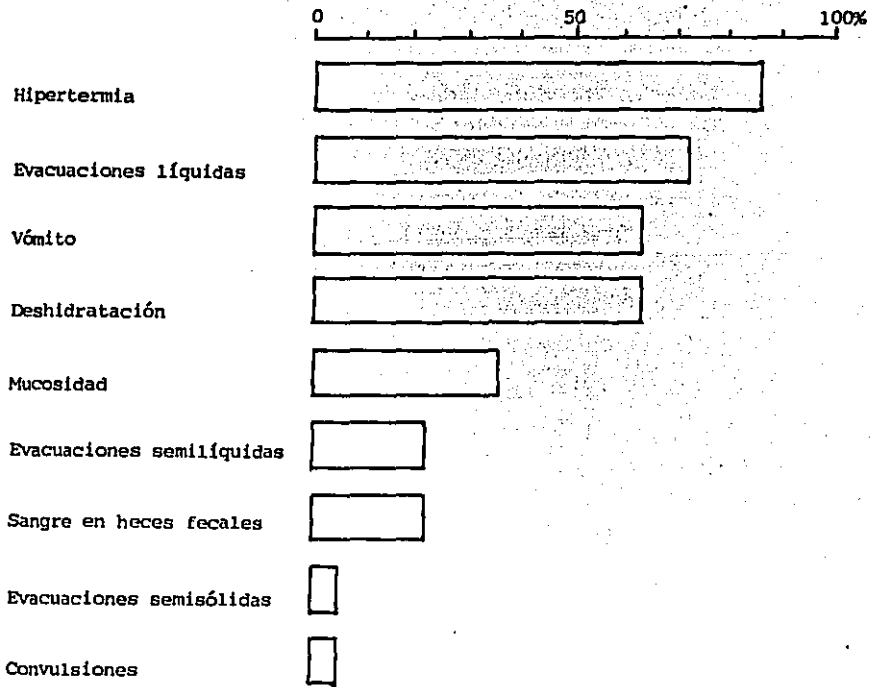


Fig.4.- Frecuencia de síntomas en 22 niños con diarrea aguda por rotavirus, atendidos en el Hospital General Tacuba del ISSSTE en la Ciudad de México, de marzo a septiembre de 1989.

En ocho casos se encontró coparticipación de otros gérmenes patógenos en la etiología de la diarrea: en uno se encontró además del rotavirus, *Escherichia coli* y *Entamoeba histolytica*; en cuatro *E. histolytica*; y en tres, *Escherichia coli*. -

En cuanto al material necesario para el desarrollo de la técnica, no se tuvo ningún problema debido a que fue proporcionado por el Instituto Nacional de Higiene y el laboratorio del Hospital. -

Con respecto a la técnica, se hacen las siguientes consideraciones: por cada gel de acrilamida solo se pueden procesar nueve muestras; el tiempo promedio que se utiliza, es de seis horas; requiere de una persona para su ejecución; para manipular los geles de acrilamida, es mejor utilizarlos inmediatamente después de sacarlos del refrigerador; para eliminar el líquido conservador y las burbujas de aire presentes en los pozos del gel de acrilamida, se obtienen buenos resultados cuando se extraen con agujas de 20 x 32 mm en jeringas de tuberculina o insulina.

D I S C U S I O N

Después del descubrimiento de los rotavirus en 1973 por Bishop-- y col. (41), se ha demostrado plenamente la importancia de estos virus como causantes de la diarrea aguda en todo el mundo (12,13,14,20). La incidencia de diarrea aguda por rotavirus de 22.2% encontrada en este estudio, es similar a lo reportado en los países en vías de desarrollo ó desarrollados (41,42,43,44), y similar a lo reportado en la República Mexicana (25,29,45). -

En este estudio, la mayor incidencia de diarrea aguda por rotavirus se presentó en los pacientes incluidos en los grupos etarios de 1- a 12 meses con aumento de la frecuencia a partir de los cinco meses, -- lo que es similar a lo reportado en la literatura nacional e internacional (25,29,41,42,43,44,45).

¶

Solamente el 15.3 % (2 de 13 casos) de los recién nacidos presen tó rotavirus, lo cual como hallazgo esporádico es normal ya que en la mayoría de los recién nacidos portadores de rotavirus la infección es asintomática (25,44).

No se encontró una diferencia significativa por sexos. En las - series reportadas se afectan por igual (25,29,30,42,44).

La detección de rotavirus en los meses de abril, mayo, agosto y septiembre encontrada en el estudio, difiere de lo reportado en la literatura nacional (25,29,30,45). Es probable que la incidencia encon--

trada se deba a los siguientes factores: el estudio no abarcó el resto de los meses del año, lo cual nos impide saber si la frecuencia encontrada es menor a la que se presentaría en los meses con más frío; la -
polución en la ciudad de México es de tal magnitud, que se tienen va--
riaciones climáticas importantes durante todo el año, favoreciendo una
alteración en el patrón estacional de la infección por rotavirus. -

Las observaciones hechas en este estudio apoyan la idea de que -
el cuadro clínico por sí solo no es suficiente para llegar a un diag--
nóstico etiológico de certeza en los casos de diarrea aguda por rotavi
rus. Pero, la alta incidencia de hipertermia (86.3%), evacuaciones dis
minuidas de consistencia (95.4%) y vómito (63.6%), asociados a la edad
de los pacientes, pueden ser de utilidad en el diagnóstico de diarrea-
aguda por rotavirus. -

El examen de la fórmula blanca en la biometría hemática no mos--
tró alteraciones significativas en todos los casos en que el rotavirus
fue el causante de la diarrea aguda, de manera similar a lo reportado-
en otros estudios (25,29,42,44). Tampoco se encontraron alteraciones -
en el examen de la heces en los casos de diarrea aguda producida única
mente por rotavirus, similar a lo señalado en la literatura (25,28,29,
42,44). Se encontró leucocitosis en los casos en los que se asoció a -
la etiología Escherichia coli, y se encontró sangre en heces cuando se
asoció a la etiología Entamoeba histolytica. -

La presencia de enteropatógenos asociados al rotavirus en la e--

tiología de la diarrea aguda, se ha documentado en varios estudios (25, 42,44,46). En este estudio se encontró asociado a la diarrea por rotavirus la participación de dos gérmenes, Escherichia coli y Entamoeba histolytica, en cuatro (18.8%) y en cinco casos (22.7%) respectivamente. Lo que difiere de lo señalado por Calderon y col., quienes señalan que "en general la asociación con otros agentes, tanto virales como bacterianos, no ha sido mayor de 10-15%". Posiblemente esta diferencia se deba a que la investigación se realizó en los meses de mayor incidencia de estos gérmenes.

En lo relativo al desarrollo de la técnica, corroboramos que el método de electroforesis del ácido ribonucleico viral es sencillo, que no requiere de personal altamente calificado, que no requiere de equipo sofisticado, y que es fácil de implementar en unidades que no cuentan con grandes recursos económicos.

C O N C L U S I O N E S

La frecuencia de diarrea aguda por rotavirus en lactantes y recién nacidos del Hospital General Tacuba del ISSSTE de la Ciudad de México, y en las condiciones en que se efectuó el estudio, es semejante a la de otras series reportadas. Y nos hace suponer que en los meses fríos la incidencia de la enfermedad es mayor.

Se deberá realizar un estudio similar al presente, que abarque todos los meses del año, para tener un conocimiento completo de las características de la diarrea aguda por rotavirus en nuestro Hospital. -

La edad, la presencia de evacuaciones disminuidas de consistencia, hipertermia, vómito, valores normales en la fórmula blanca de la biometría hemática y ausencia de alteraciones en el examen de heces, nos permite sospechar en el diagnóstico de diarrea aguda por rotavirus.

La rotaforesis es un método sencillo, fácil de implementar y necesario, cuando no se tiene acceso a equipos más caros y sofisticados para demostrar la presencia de rotavirus.

La prevalencia y características clínicas de la diarrea aguda asociada a rotavirus encontradas en este estudio, destacan la importancia de considerar a este organismo en el diagnóstico diferencial de la etiología de la diarrea aguda en niños menores de un año, en nuestro Hospital. -

La sospecha y confirmación del diagnóstico por electroforesis -
del ARN viral, seguramente evitará el empleo irracional de antibióti--
cos, no exento de graves riesgos, en un número elevado de pacientes pe
diátricos con síndrome diarreico. -

R E S U M E N

Para demostrar que el rotavirus se presenta en lactantes con diarrea aguda, atendidos en el Hospital General Tacuba del ISSSTE en la Ciudad de México, con la frecuencia reportada en la literatura nacional e internacional, aún en primavera y verano debido a las características propias del virus y del clima cambiante de la ciudad; y, para destacar que la práctica de la electroforesis del ARN viral como método diagnóstico es un procedimiento útil, sencillo y necesario en nuestro Hospital: se estudiaron en forma prospectiva, transversal, descriptiva y abierta 99 pacientes no mayores de 2 años de edad, con evidencia clínica de diarrea aguda de menos de quince días de evolución, del 1º de marzo al 30 de septiembre de 1989, utilizando la electroforesis del ARN viral para evidenciar la presencia de rotavirus.

Se encontró positividad a rotavirus en 22.2 % de los niños estudiados. No hubo correlación entre el sexo y la edad. La incidencia de rotavirus en función de la edad fue mayor en los grupos de 1 a 12 meses de edad, con una mediana de siete meses de edad. Se presentaron casos positivos a rotavirus con mayor frecuencia al inicio de la primavera y al final del verano. Las manifestaciones clínicas predominantes fueron evacuaciones disminuidas de consistencia, hipertermia y vómito. No se encontraron alteraciones en la biometría hemática ni en el examen de heces atribuibles al rotavirus. No se encontraron dificultades materiales, intelectuales ni económicas en la ejecución de la técnica de rotaforesis, y se corroboró que dicho método es sencillo, no requiere de personal altamente calificado, no requiere de equipo sofisticado

y es fácil de implementar. -

Se concluye que la prevalencia y características clínicas de la diarrea aguda asociada a rotavirus encontradas en este estudio, destacan la importancia de considerar a este organismo en el diagnóstico diferencial de la etiología de la diarrea aguda en niños menores de un año de edad, en nuestro Hospital; y, la sospecha y confirmación del diagnóstico por electroforesis del ARN viral, seguramente evitará el empleo irracional de medicamentos, no exento de graves riesgos en un número elevado de pacientes pediátricos con síndrome diarreico. -

BIBLIOGRAFIA

1. Organización Panamericana de la Salud. Las condiciones de salud en las Américas, 1977-1980. Washington, D.C., 1982 (Publicación científica 427).
2. Soriano H y Macaya J. Síndrome diarreico agudo. In: Meneghello, J. *Pediatría*. 2 ed. Buenos Aires, Intermédica, 1978. pp. 1040-1065.
3. Mota HF. Programa Nacional de Hidratación Oral en Diarreas, 1983-1986. Evaluación y Perspectivas. *Salus Pública Méx* 1987; 29:268-274.
4. Mota HF. La hidratación oral en niños con diarrea. *Salud Pública Méx* 1984; 26 (suplemento 1): 7-30.
5. Vega FL. Clasificación de síndromes diarreicos en niños. *Bol Med Hosp Infant Mex* 1984; 41:685-688.
6. Mazzali de Ilya R, Pérez de Blanco M. Estudio serológico de rotavirus en población venezolana. *Revista del Instituto Nacional de Higiene (Caracas)* 1980; 13:91-98.
7. Hernández HH, Pérez SI, Sto EA. Estudio seroepidemiológico de rotavirus en una población infantil venezolana. Relación entre lactancia materna y seropositividad. *Bol Med Hosp Infant Mex* 1984; 41:580-584.
8. Kapikian AZ, Kim HW, Wyatt RG y cols. Human reovirus like agent-as the mayor pathogen associated with "winter" gastroenteritis - in hospitalized infant and young children. *N Engl J Med* 1976; -294:965-972.
9. Dennehy HP, Tente EW, Fisher JD y cols. Lack of impact of rapid-identification of rotavirus-infected patients on nosocomial rotavirus infections. *Pediatr Infect Dis J* 1989; 8:290-296.
10. Bishop RF, Davidson GP, Holmes HR. Virus particles in epithelial cell of duodenal mucosa from children with acute gastroenteritis. *Lancet* 1973; 2: 1281-1283.

11. Hernández HH, Soto EA, Añez F, Dorfman EL. Excreción prolongada de rotavirus en lactantes con diarrea. *Bol Med Hosp Infant Mex* - 1987; 44:650-653. -
12. Walther FG, Bruggeman C, Daniels B, et al. Symptomatic and asymptomatic rotavirus infections in hospitalized children. *Acta Paediatr Scand* 1983; 72:659-663. -
13. Vial PA, Kotloff KL, Losonsky GA. Molecular epidemiology of rotavirus infection in a room for convalescing newborns. *J Infect Dis* 1988; 157:668-673. -
14. Cone R, Mohan K, Thouless M, Corey L. Nosocomial transmission of rotavirus infection. *Pediatr Infect Dis J* 1988; 7:103-109. -
15. Calderon JE. Participación de agentes virales en la diarrea. *Infectología* 1984; 10:245-247. -
16. Calderon JE. Etiología viral de la gastroenteritis. *Bol Med Hosp Infant Mex* 1984; 41:577-579. -
17. Torregosa FL, Olarte J, Rodríguez SR, Santos PJ, Velásquez JL. - Diarrea por rotavirus y otros virus. En: *Enfermedades diarreicas en el niño*. México: Ed Med Hosp Infant Mex, 1988: 207-215.
18. Hamilton RJ. Enteritis viral. En: *Clínicas Pediátricas de Norteamérica*. México: Interamericana, 1988: 95-109. -
19. Grimaldo SR. Rotavirus. *Rev Pediatría (Santiago)* 1986; 29:166-176
20. Kapikian A, Wyatt R, Greenberg H, Kalica A, et al. Approaches to immunization of infants and young children against gastroenteritis due to rotaviruses. *Rev Infect Dis* 1980; 2:459. -
21. Blandt C, Kim H, Rodríguez W, Arrobbio J, et al. Pediatric viral gastroenteritis during eight years of study. *J Clin Microbiol* - 1983; 18:71 -
22. Brandt C, Kim H, Yolken R, Kapikian A, et al. Comparative epidemiology of two rotavirus serotypes and other viral agents associated with pediatric gastroenteritis. *Am J Epidemiol* 1979; 110: 243 -

23. Bryden A, Davies H, Hadley R, Flewett T, et al. Rotavirus enteritis in the West Midlands during 1974. *Lancet* 1975; 2:241 -
24. Davidson G, Bishop R, Townlee R, Holmes I, et al. Importance of a new virus in acute sporadic enteritis in children. *Lancet* 1975 2:242 -
25. Calderon JE, Espejo R, González SN, Hernández M, Romero P, Maullén RI. Aspectos epidemiológicos de la gastroenteritis producida por rotavirus. *Bol Med Hosp Infant Mex* 1978; 35:45-55. -
26. Espejo R, Romero P, Calderon JE, González SN. Existencia de dos tipos de rotavirus asociados con gastroenteritis aguda en niños. *Bol Med Hosp Infant Mex* 1978; 35:217-224. -
27. Espejo R, Romero P, Calderon JE, González SN. Diagnóstico de rotavirus por electroforesis del RNA viral. *Bol Med Hosp Infant Mex* 1978; 35:323-331. -
28. Olarte J. Etiopatogenia de las diarreas infecciosas. *Bol Med Hosp Infant Mex* 1985; 42:66-72. -
29. Muraira GA, Díaz OC, Moreno SH, Méndez JA, Ugalde FM, Madero GC. Gastroenteritis por rotavirus (correlación clínica). *Rev Mex Pediat* 1985; 539-542. -
30. Puerto IF, Polanco GG, Marylin, Puerto SR, Ortega AC, y col. Diarrea infantil aguda por rotavirus en una población pediátrica de Mérida, Yucatán, México. *Bol Med Hosp Infant Mex* 1989; 46:171-174. -
31. Juárez FL, Marín LA, Morales RA, Arguelles AR. Prevalencia y características de la infección por rotavirus en niños con gastroenteritis en la Cd. de Puebla. *Rev Invest Clin (Mex)* 1984; 4: 327-329. -
32. Mizrahi ML, Muñoz HO: Síndromes diarreicos. En: Infecciones entericas. México: Manual Moderno, 1984:3-14. -
33. González SN, Torales TA, Gómez BD. Gastroenteritis. En: *Infectología Clínica Pediátrica*. México: Trillas, 1988:146-175. -

34. Salas AM, Ramírez MJ. Diarrea. En: Síndromes Pediátricos. México Interamericana, 1987:152-166. -
35. Gryboski J. Enfoque fisiopatológico de las diarreas aguda y crónica. En: Problemas gastrointestinales en el lactante. Argentina: Panamericana, 1985:63-77. -
36. Lazo VS, Osornio VA, Ruiz PG. Prueba de coagulación para la detección de rotavirus humano en heces fecales. Comparación con la prueba de ELISA. Bol Med Hosp Infant Mex 1987; 44:373-377. -
37. Vega FL, Romo G, Velasco F, Peña R, Lira J. Sensibilidad y especificidad de la rotaforesis en el diagnóstico de la diarrea por rotavirus. Bol Med Hosp Infant Mex 1984; 41:656-660. -
38. Alvarez MM, Guiscafre GJ, Mondragon SC, Morales CM, Ruiz GJ, Martínez P. Comparación de las técnicas de electroforesis del RNA viral ELISA y fijación de complemento con la microscopía electrónica para demostrar rotavirus. Arch Invest Méd (Mex) 1982; 137, 145-150. -
39. Avendaño FL, Dubinovsky S, Harvey D, James Jr. Comparación de la electroforesis del ARN vírico con el método ELISA indirecto para el diagnóstico de infección por rotavirus humano. Bol Of Sanit - Panam 1984;97:1-7. -
40. Spencer E, Avendaño L, García B. Analysis of human rotavirus mixed electropherotypes. Infect Immun 1983; 39:569 -
41. Malik A, Rattan A, Ashraf M, Shukla I. Rotavirus diarrhoea of infancy and childhood in a North Indian Town-Epidemiological aspects. J of Tropical Pediatrics 1987; 33:243-245. -
42. Kovacs A, Chan L, Hotrakitya Ch, Overturf G, Portnoy B. Rotavirus Gastroenteritis. Clinical and laboratory features and use of the rotazyme test. Am J Dis Chil 1987; 141:151-1666. -
43. Hjelt K, Paerregaard A, Nielsen H, et al. Acute gastroenteritis in children attending day-care centres with special reference to rotavirus infections. Acta Paediatr Scand 1987; 76:754-762. -

44. Frayh a, Ramia S, Bakir F, Zaidi A. Rotavirus shedding by neonates and possible modes of transmission. *J of Tropical Pediatrics* 1987; 33:246-248. -
45. Espinosa L, Colorado DJ, Padilla FR, y cols. Frecuencia de gastroenteritis infecciosa aguda por rotavirus en niños de diversas poblaciones de la República Mexicana. *Bol Med Hosp Infant Mex* - 1983; 40:188-191.

ESTA TESTA NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA