

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA
ESCUELA DE QUÍMICA BIOLÓGICA

DETERMINACIÓN DE LA FRECUENCIA DE *Escherichia coli*
ENTEROPATOGENA EN NIÑOS DE 0 A 3 AÑOS DE EDAD,
QUE ASISTEN A UN LABORATORIO CLÍNICO PRIVADO DE MAZATENANGO,
CABECERA DEL DEPARTAMENTO DE SUCHITEPEQUEZ.



Informe final de Tesis

Presentado por

Maria de los Angeles Meneses Molina

Para optar al título de

Químico Biologo

Guatemala, Noviembre del 2000

DL
06
T(2053)

JUNTA DIRECTIVA

**FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA
UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA**

DECANA:	Licda. Hada Marieta Alvarado Beteta
SECRETARIO:	Lic. Oscar Federico Nave Herrera
VOCAL I:	Dr. Oscar Manuel Cobar Pinto
VOCAL II:	Dr. Rubén Dariel Velásquez Miranda
VOCAL III:	Dr. Federico Adolfo Richter Martinez
VOCAL IV:	Br. César Alfredo Flores López
VOCAL V:	Br. Manuel Anibal Leal Gómez

DEDICATORIA

A: Dios, de quien proviene toda la sabiduría y vida.

A: La Universidad de San Carlos de Guatemala.

A: La Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia.

A: Mis padres Leonel y Antonieta con todo mi amor y gratitud por haberme guiado a la meta hoy alcanzada.

A: mi hermana Paola, con todo mi amor.

A: mi hermano Leonel Alejandro, por que aunque no estás presentes compartes mi triunfo y se que estarías orgulloso de mí, Te Amo.

A: mi esposo Luis Alejandro López, por su amor y apoyo incondicional.

A: mis hijos Cristian, Andrea y Valeria con infinito amor.

A: mis amigos con afecto.

AGRADECIMIENTOS

A: Licda. Ingrid Tabarini por su asesoría, colaboración y apoyo.

A: Lic. Jorge Luis de León por su asesoramiento estadístico.

A: Licda. Heidi Logemann por su colaboración y ayuda.

A: Laboratorio clínico López y Meneses por ayudarme a completar mi estudio.

A: Ing. Gabriel Viemann y Leslie Chacón de Viemann por toda la ayuda prestada.

INDICE

I. Resumen	1
II. Introducción	2
III. Antecedentes.....	4
1. Familia Enterobacteriaceae.....	5
1.1 Taxonomía y morfología.....	6
1.2 Características bioquímicas y de su cultivo.....	7
1.3 Estructura antigénica.....	8
1.4 Infección clínica.....	10
2. Género <i>Escherichia</i>	13
2.1 Taxonomía.....	14
2.2 Características bioquímicas y de su cultivo.....	15
2.3 Estructura antigénica.....	15
2.4 Determinantes de la patogenicidad	16
2.5 Infección Clínica.....	24
3. <i>Escherichia coli</i> enteropatógena.....	29
3.1 Producción de citotóxicas.....	29
3.2 Mecanismos de adherencia.....	30
3.3 Manifestaciones clínicas.....	32
3.4 Epidemiología.....	32
4. Rotavirus	33
IV. Justificaciones.....	36
V. Objetivos	37
VI. Materiales y Métodos.....	38
A. Universo	38

B. Muestra	38
C. Materiales	38
D. Procedimiento.....	39
D.1 Muestreo	39
D.2 Recolección de muestra	40
D.3 Procesamiento.....	40
E. Diseño de Investigación	42
E.1 Muestra.....	42
E.2 Análisis estadístico de resultados.....	43
VII. Resultados	44
VIII. Discusión de Resultados.....	46
IX. Conclusiones.....	49
X. Recomendaciones.....	50
XI. Referencias.....	51
Anexo No. 1.....	57
Anexo No. 2	58
Anexo No. 3.....	59
Anexo No. 4	60
Anexo No. 5	61

I. RESUMEN

La diarrea es una de las principales causas de muerte infantil en Guatemala, por lo que ha sido necesario realizar estudios orientados a establecer los principales agentes causales de dicho problema.

En el presente estudio se determinó la frecuencia de *Escherichia coli* enteropatógena en niños de 0 a 3 años de edad que acudieron a un laboratorio clínico privado de Mazatenango, cabecera del departamento de Suchitepéquez, con el fin de estimular la tipificación y diagnóstico de dicha bacteria como parte del diagnóstico coprológico.

Las muestras que cumplieron con los criterios de inclusión: 1- heces diarreicas; 2- de niños procedentes de Mazatenango; 3- comprendidos entre 0 a 3 años de edad; 4- que no se observaran parásitos en un examen de heces; 5- prueba de detección de rotavirus negativa, fueron procesadas según la marcha para un coprocultivo convencional.

En los resultados obtenidos de las noventa y seis muestras, (para el estudio representó el 100 por ciento de las muestras) se observó en un 19 por ciento la presencia de *E. coli* enteropatógena.

Este estudio puede tomarse como tipo piloto, ya que no se han realizado otros estudios en esta área, pero se deberá tomar en cuenta el tiempo de duración de la diarreas, y realizar serotipificación de otras *E. coli*, para evitar terapéuticas innecesarias.

Se demostró que no existe relación entre el sexo y la infección causada por *E. coli* enteropatógena, y también se demostró que no existe relación entre las edades y el aislamiento de *Escherihia coli* enteropatógena.

II. INTRODUCCION

La diarrea es una de las principales causas de muerte infantil en Guatemala, por lo que es necesario realizar estudios orientados a establecer los principales agentes causales de dicho problema.

Muchas veces el agente causal de una enfermedad gastrointestinal no es un parásito, por lo que se realiza un coprocultivo o se hace la determinación de agentes virales principalmente rotavirus. Cuando no se aísla ningún enteropatógeno en el coprocultivo, y se aísla únicamente *Escherichia coli*, es de interés diagnóstico para el médico saber si dicho microorganismo es el causante de la patología, ya que *Escherichia coli* enteropatógena (EPEC) tiende a ser clínicamente más severa que otras infecciones diarreicas en infantes. Esta infección produce deshidratación y pérdida de electrolitos, pudiendo prolongarse la diarrea por más de catorce días (6,7,30).

Según datos obtenidos en la Jefatura de Area de Suchitepéquez se sabe que la diarrea es una de las diez principales causas de morbilidad en Mazatenango. Sin embargo actualmente no se cuenta con datos de la prevalencia de *Escherichia coli* enteropatógena ni de otras bacterias y virus enteropatógenos en Mazatenango.

Debido a que en Mazatenango, el clima es cálido y muy húmedo, las condiciones para la multiplicación de EPEC pueden ser mejores que en la ciudad capital y otras regiones templadas del país en donde se han efectuado estudios de prevalencia (30). No se tomaron en cuenta factores socioeconómicos, culturales y de salubridad, los cuales podrían afectar los resultados obtenidos.

Por ello, en el presente estudio se determinó la frecuencia de *Escherichia coli* enteropatógena en un grupo de niños de 0 a 3 años de edad que asistieron a un laboratorio

clínico privado de Mazatenango, con el fin de saber la relación que hay de dicha bacteria con el género, la edad y otros microorganismos, ya que por ser uno de los principales patógenos intestinales en niños menores de un año, es importante saber la situación epidemiológica del mismo. De esta forma, al mejorarse el diagnóstico de diarreas bacterianas infantiles, se evitará la aplicación de tratamientos antibacterianos innecesarios.

El estudio se realizó con noventa y seis muestras de heces provenientes de niños con diarrea, que asistieron a un laboratorio clínico privado, en los cuales no se encontró ningún parásito al realizar un examen corriente de heces y que además dieron un resultado negativo para la detección de rotavirus (utilizando aglutinación en látex).

La identificación de los microorganismos se realizó por medio de un coprocultivo convencional. Para la determinación de *Escherichia coli* enteropatógena se utilizaron los sueros anti *E. coli* enteropatógena trivalente y nonavalente marca Pasteur. No se realizó la serotipificación de los diferentes grupos de *E. coli* enteropatógena.

Para saber si existe relación entre el aislamiento de *E. coli* enteropatógena, y las edades se utilizaron las tablas de contingencia y el test exacto de Fisher, y para el sexo se utilizó una Z de proporciones. La frecuencia de EPEC en niños de 0 a 3 años de edad es del 19 por ciento. Se podría tomar como base este estudio para realizar otros, como tipificación de las otras *E. coli*, y tomar en cuenta otros factores como tiempo de duración de las diarreas, estado nutricional del paciente y el lugar de origen de los pacientes, para tener un estudio más completo.

III. ANTECEDENTES

La diarrea es la principal causa de morbilidad y mortalidad infantil en países en desarrollo (1). La mayoría de las bacterias que causan enfermedades diarreicas pertenecen a la familia de bacilos Gram negativo, la familia *Enterobacteriaceae*, y algunas pertenecen a la familia *Vibrionaceae*. La familia *Enterobacteriaceae* incluye miembros de la microbiota normal del colon así como a otros que más comunmente son patógenos. Las bacterias de la familia *Enterobacteriaceae*, comunmente conocidas como microorganismos entéricos, abarcan un gran número de especies que se diferencian sobre la base de las características serológicas y metabólicas. La familia *Vibrionaceae* incluye muchos vibriones no patógenos, pero también al *V. cholerae* agente causal del cólera (2).

Las enfermedades diarreicas continúan siendo el problema de salud pública más importante en Guatemala. Estudios epidemiológicos en el área rural del país han demostrado que los niños menores de tres años de edad pueden sufrir, en promedio, cinco episodios de diarrea al año, lo que resulta no solo en una alta mortalidad, sino también en deterioro del estado nutricional (37,38). En Mazatenango que es la cabecera del departamento de Suchitepéquez, con 38,319 habitantes, se encuentra a 371.13 metros sobre el nivel del mar, la diarrea infantil está considerada dentro de las diez causas principales de morbilidad, según estadísticas recabadas por la Jefatura de Area de Salud de Suchitepéquez, durante el año de 1,998 (Anexo 1).

Esta estadística reporta un creciente número de casos de diarrea en comparación con el año de 1,997, sin contarse con datos epidemiológicos de los agentes causales de la diarrea, ni a los grupos que afecta.

Existe también la gastroenteritis de tipo viral, la cual es una enfermedad muy común que se manifiesta por vómitos, diarrea o ambos, que se pueden acompañar de náuseas, anorexia, fiebre o malestar general; puede ser desde enfermedad leve de corta duración hasta enfermedad deshidratante, sobre todo en lactantes y niños pequeños (6). Los virus más comunmente relacionados y de mayor importancia en enfermedades entéricas en niños son los Rotavirus, los cuales se replican dentro de las células epiteliales maduras que cubren la porción superior de las vellosidades intestinales, causando destrucción celular y acortamiento de las vellosidades (2,32).

Por lo menos tres agentes virales más se reconocen como causas importantes de diarrea: a- Adenovirus entéricos, b- Calicivirus y c- Astrovirus (2).

1. FAMILIA ENTEROBACTERIACEAE

Está compuesta por un gran número de especies estrechamente relacionadas que se encuentran en el suelo, el agua, la materia en descomposición y en el intestino grueso del hombre, los animales y los insectos. Debido a su hábitat natural en el intestino grueso de los seres humanos, éstos microorganismos reciben el nombre de "bacilos entéricos". Dentro de esta familia se encuentran algunos de los agentes causales más importantes de enfermedad gastrointestinal: los agentes de la fiebre tifoidea y de la disentería bacilar. No obstante, la mayor parte de las especies no son patógenos intestinales sino microorganismos oportunistas que pueden infectar cualquier sitio del organismo cuando encuentran un hospedero alterado. En efecto, los bacilos entéricos son responsables de la mayor parte de las infecciones nosocomiales (adquiridas en el hospital) que se observan en la actualidad. Las implicaciones médicas y económicas de estas infecciones nosocomiales se tornan evidentes cuando se considera que en los

Estados Unidos unos dos millones de pacientes por año (cinco a diez por ciento de la población hospitalaria total) contraerán una infección mientras estén hospitalizados. La gravedad del problema se complica aún más por el hecho de que muchos de los microorganismos aislados de infecciones nosocomiales son resistentes a múltiples agentes antimicrobianos (3).

1.1 Taxonomía y Morfología

La taxonomía de la familia *Enterobacteriaceae* se ha estudiado más que la de cualquier otro grupo de microorganismos. Por fortuna solo unos veinticinco bacilos entéricos son patógenos humanos importantes (3).

La familia *Enterobacteriaceae* incluye bacilos Gram negativo pequeños (0.5 por 0.3 μm) que no forman esporas. Pueden ser móviles o inmóviles. Cuando son móviles la locomoción se realiza por medio de flagelos peritricos, una propiedad que ayuda a diferenciarlos de la familia *Pseudomonadaceae* y *Vibrionaceae*, que incluye flagelados polares. Dos géneros, *Shigella* y *Klebsiella*, son típicamente inmóviles por carecer de flagelos (3).

Los bacilos entéricos pueden poseer una cápsula bien definida, como se ve en el caso del género *Klebsiella*, o una cubierta laxa y mal definida conocida como cubierta mucosa, o pueden carecer de cualquiera de estas estructuras. Las fimbrias o pili están presentes en casi todas las especies y son responsables de la fijación de las células bacterianas a otras bacterias, a las células hospederas y a los bacteriófagos. La pared celular está compuesta por mureína, lipoproteína, fosfolípido, proteína y lipopolisacáridos (LPS) y tiene una disposición laminar. La capa lipoproteína-mureína constituye alrededor del veinte por ciento de la pared de la célula y es responsable de la

rigidez celular. El ochenta por ciento restante de la pared celular se une con los lípidos de la lipoproteína para formar la bicapa lipídica. El LPS contiene las cadenas laterales polisacáridas específicas que determinan la antigenicidad de las diversas especies y es la porción de la célula responsable de la actividad endotóxica (3).

1.2 CARACTERÍSTICAS BIOQUÍMICAS Y DE SU CULTIVO

La familia *Enterobacteriaceae* incluye microorganismos anaerobios facultativos con diversidad bioquímica. Cuando se desarrollan en anaerobiosis o en atmósfera con baja tensión de oxígeno fermentan los hidratos de carbono; empero cuando se les ofrece suficiente cantidad de oxígeno utilizan el ciclo del ácido tricarboxílico y el sistema de transporte de electrones para la producción de energía. Por definición, todos los miembros de la familia fermentan la glucosa, reducen nitratos a nitritos pero no licuan el alginato y son oxidasa-negativo. Casi todos los bacilos entéricos fermentan la glucosa por la vía ácida mixta, pero los miembros de los géneros *Klebsiella*, *Enterobacter* y *Serratia* utilizan la vía fermentativa del butanodiol. Las distintas especies difieren en los hidratos de carbono que fermentan y éstas diferencias, junto con las variaciones en la producción del producto terminal y en la utilización de sustrato, constituyen la base para la determinación de las especies dentro de ésta familia (3).

En medios no diferenciales o no selectivos, por ejemplo agar-sangre o agares infusión, las diversas especies no pueden ser distinguidas entre sí y se desarrollan como colonias húmedas, lisas y grises. Es posible que produzcan variaciones de lisa a rugosa. Algunas cepas de ciertos géneros son β -hemolíticas. Se han ideado diversos medios selectivos y diferenciales para el aislamiento y la diferenciación de ésta familia. Los medios selectivos en un principio fueron ideados para el aislamiento de los patógenos

entéricos de los géneros *Salmonella* y *Shigella* a partir de materia fecal, en tanto que los medios diferenciales se pensaron para separar los bacilos entéricos en categorías amplias por su capacidad para fermentar hidratos de carbono seleccionados como la lactosa (3).

Los equipos de asistencia respiratoria y de anestesia han servido como fuentes de infecciones por enterobacterias y no fermentadores en los hospitales y los microorganismos han sido aislados de la nieve y del hielo después de varios meses, lo que proporciona un mecanismo de contaminación de los suministros de agua durante los deshielos de la primavera. El control de éstos microorganismos en los alimentos puede lograrse por pasteurización, por cocción y por la refrigeración apropiada (3).

1.3 ESTRUCTURA ANTIGENICA

En el caso de ciertas especies de la familia *Enterobacteriaceae* la estructura antigénica desempeña un papel importante en la epidemiología y la clasificación. Esto es particularmente cierto con respecto a los patógenos intestinales de los géneros *Salmonella* y *Shigella*. Los antígenos O, H y K son los principales componentes que se usan en la tipificación serológica de la familia.

Antígenos somáticos (O). El lipopolisacárido (LPS) de la pared celular de los bacilos entéricos está compuesto por tres regiones diferentes. El antígeno O específico o de la pared celular está contenido en la región I y es un polímero de unidades oligosacáridas repetidas de tres o cuatro monosacáridos. Unida al antígeno O se encuentra la región II, la que está formada por un polisacárido central que es constante dentro de un género enterobacteriano particular pero que difiere entre géneros. La fracción del lípido A, o región III, está unida con la región II a través de un único azúcar de ocho carbonos, 2-ceto-3-desoxioctanato (KDO). La unidad básica del lípido A es un disacárido unido con

cinco o seis ácidos grasos. Por su estructura, el lípido A une al LPS con la capa de lipoproteína-mureína de la pared celular. Además de su utilidad como marcador serológico el LPS puede servir como un importante factor de virulencia en el sentido de que es tóxico. Además, el antígeno O puede aumentar el establecimiento de los microorganismos en el hospedero (3).

Antígenos flagelares (H). Los antígenos H o flagelares, son proteínas. La variación antigénica de los diferentes tipos flagelares se debe a las diferencias en las secuencias de aminoácidos. La tipificación serológica de los antígenos flagelares ayuda a construir las bases de la tipificación antigénica de las *Salmonella* (3).

Antígenos capsulares (K). El término antígeno K proviene del alemán Kapsule y ha sido utilizado para describir los antígenos polisacáridos de la cápsula de los bacilos entéricos. Los estudios recientes han demostrado que ciertos antígenos K de *E. coli* son proteínas, no polisacáridos y que forman las fimbrias de ciertas cepas. Las fimbrias K88 y K99 de los aislamientos de animales y los antígenos del factor de colonización (CFA) de los aislamientos humanos son ejemplos de antígenos K no polisacáridos (3).

Además de estos antígenos primarios los bacilos entéricos comparten un antígeno común (cuya siglas en inglés son ECA) que está presente en la superficie externa de la célula bacteriana. Este antígeno es útil en estudios taxonómicos y epidemiológicos (3). Esto se debe a que a pesar de que en la actualidad se cuenta con técnicas genéticas para la taxonomía de las enterobacterias, el dilema básico es que las bacterias pueden clasificarse de acuerdo con un conjunto establecido de caracteres morfológicos o bioquímicos a nivel fenotípico o a nivel genotípico, con el cual las clasificaciones en grupos se hacen de acuerdo con secuencias de nucleótidos cromosómicos observadas con

estudios de hibridación de ADN; si bien las taxonomías basadas en genótipos pueden servir como la referencia final para la clasificación de todos los microorganismos, en la actualidad no se usan técnicas de hibridación en los laboratorios de microbiología diagnóstica, para aplicaciones prácticas diarias, aún deben usarse orientaciones taxonómicas basadas en características fenotípicas fácilmente observadas (como la expresión de proteínas o antígenos)(34).

1.4 INFECCION CLINICA

Tipos de Infección. En los Estados Unidos microorganismos de la familia *Enterobacteriaceae* constituyen la causa más importante de bacteremia e infecciones de las vías urinarias. Además, pueden invadir cualquier sitio del organismo y causar infecciones de heridas, neumonía, meningitis y diversos trastornos gastrointestinales. Es útil pensar en las infecciones causadas por microorganismos diferentes de *Salmonella*, *Shigella*, *Yersinia*, *E. coli* enteropatógena y enterohemorrágica como oportunistas o como causales de infecciones secundarias. Las infecciones oportunistas en general ocurren fuera del intestino y requieren una alteración del huésped por algún proceso mecánico, fisiológico o infeccioso antes de poder ocasionar enfermedad. *Salmonella*, *Shigella* y *Yersinia* se consideran patógenos entéricos verdaderos y su aislamiento de muestras intestinales implica una enfermedad o un estado de portador. Aunque la *E. coli* puede causar enfermedad intestinal o infecciones oportunistas, la mayor parte de las infecciones que se observan en los Estados Unidos son no intestinales u oportunistas. Independientemente del tipo de infección inicial, el daño potencial en las infecciones por enterobacterias es el desarrollo de una bacteremia secundaria y del shock endotóxico (3).

Diagnóstico de Laboratorio. Las muestras remitidas para el aislamiento de enterobacterias comprenden esputo, tejido, pus, líquidos corporales, hisopados rectales o heces. Estas muestras deben cultivarse de inmediato o de lo contrario ser colocadas en un medio de transporte adecuado, como el medio de Stuart o de Amies para impedir la desecación del espécimen y prevenir el sobrecrecimiento de microorganismos, lo que podría distorcionar la naturaleza real de la microbiota en la muestra (3).

El medio usado para el aislamiento de los bacilos entéricos depende del origen clínico de la muestra. En el caso de las muestras no fecales cualquier bacilo entérico puede ser un patógeno; por consiguiente, estas muestras se siembran en placas con medios que permitan el desarrollo de todos los bacilos entéricos, pero que inhiban la proliferación de las bacterias Gram positivo. En las muestras fecales el laboratorio busca aislar sólo los patógenos intestinales, *Salmonella*, *Shigella* o *Yersinia*. Independientemente del propósito, la mayor parte de los medios entéricos contienen varios hidratos de carbono e indicadores ácido-base para diferenciar entre las diversas especies de microorganismos que se desarrollan en los medios. Es posible distinguir con facilidad una colonia fermentadora de una no fermentadora por los cambios de color producidos por la interacción de los ácidos de la fermentación con el indicador ácido-base. El hidrato de carbono de uso más común es la lactosa, y en la jerga de laboratorio los microorganismos se conocen como “fermentadores de lactosa” y “no fermentadores de lactosa”. Esta terminología surgió durante el período en el cual el propósito principal del aislamiento de bacilos entéricos era la diferenciación entre las colonias no fermentadoras de los patógenos intestinales de las colonias fermentadoras correspondientes a los habitantes principales del tracto intestinal, *Escherichia*,

Enterobacter y *Klebsiella*. En varios otros medios se han usado otros hidratos de carbono y otros métodos para la detección de la producción de H₂S con el objeto de ayudar a la diferenciación por colonias de las distintas colonias de bacilos entéricos (3).

Una vez aislados los microorganismos individuales se les debe identificar hasta el nivel de especie por medio de diversas pruebas bioquímicas. Debido a la complejidad de la familia se han ideado muchos esquemas bioquímicos diferentes para ayudar a identificar a éstos microorganismos. Además de las reacciones bioquímicas, el laboratorio clínico también emplea la agrupación serológica de los antígenos O, H y K para la caracterización de ciertos aislamientos de bacilos entéricos. Cuando se trata con los géneros *Salmonella* y *Shigella*, la caracterización serológica es necesaria para la identificación completa del microorganismo; en el caso de otros microorganismos la agrupación serológica se emplea principalmente con propósitos epidemiológicos (3).

Tratamiento. Pese al descubrimiento de los agentes antimicrobianos más nuevos, el tratamiento adecuado de las infecciones por enterobacterias sigue siendo un problema terapéutico de primer orden. Varios factores contribuyen a la dificultad que implica el tratamiento de éstas infecciones. Uno de los factores más importantes es la enfermedad subyacente del paciente, ya que éste tipo de enfermedades provocan un estado de inmunidad deprimido. Los estudios realizados en pacientes con bacteremia por bacilos Gram negativo demuestran que a pesar de una terapéutica antibiótica adecuada la tasa de mortalidad se relaciona de forma estrecha con la enfermedad subyacente. Los pacientes que sufren una enfermedad subyacente rápidamente fatal (en la que la muerte sobreviene en un año) presentan una mortalidad del ochenta y cinco por ciento cuando desarrollan bacteremia por microorganismos entéricos, mientras que la tasa de

mortalidad para los pacientes bacterémicos con enfermedades con desenlace fatales (muerte dentro de los cinco años) es de cuarenta y dos por ciento. Esto es comparable con la tasa de mortalidad del diez por ciento en los pacientes bacterémicos que presentan una enfermedad subyacente fatal (3). Otro factor importante es la aparición de microorganismos resistentes. Esta resistencia ha sido atribuida al uso indiscriminado de antibióticos que tienden a seleccionar las formas resistentes y a la capacidad de éstas formas resistentes para transferir sus genes a microorganismos previamente susceptibles. Además del desarrollo de nuevos antibióticos para el control de los microorganismos resistentes, algunos investigadores han intentado neutralizar las defensas bacterianas contra los antibióticos. El enfoque más satisfactorio ha sido la incorporación de los agentes fijadores de β -lactamasa/ácido clavulónico y sulbactam (inhibidores de β -lactamasas) a una penicilina. Estos agentes fijadores inactivan la β -lactamasa bacteriana y dejan la penicilina intacta para destruir al microorganismo (3). Los pacientes que desarrollan shock endotóxico requieren un tratamiento rápido y enérgico de la infección y del shock. El tratamiento del shock se concentra en el sistema cardiovascular e incluye la restauración del volumen intravascular, digitalización y la administración de isoproterenol. Algunos pacientes pueden requerir un tratamiento adicional con otros agentes como esteroides, aminas presoras y noradrenalina (3).

2. GENERO *ESCHERICHIA*

Históricamente las *Enterobacteriaceae* han sido divididas en patógenos oportunistas y patógenos intestinales. Los patógenos intestinales tradicionalmente han incluido a los miembros de los géneros *Salmonella*, *Shigella* y *Yersinia*, y los patógenos oportunistas, a todos los demás géneros. También se consideran las cepas patógenas del

género *Escherichia*, ya que son capaces de producir una gran variedad de enfermedades en humanos (4). Sin embargo, los recientes avances en el conocimiento de las relaciones genéticas de *Escherichia coli* y *Shigella*, junto con los descubrimientos relacionados con los mecanismos de la enfermedad diarreica, han conducido a que ésta diferencia sea menos clara. Todos los bacilos entéricos oportunistas son capaces de causar enfermedades similares, pero la epidemiología, la frecuencia, la gravedad y el tratamiento de éstas enfermedades difieren para las distintas especies (3).

El género *Escherichia* contiene una sola bacteria que ha sido objeto de más investigación científica que cualquier otro microorganismo y está entre los patógenos entéricos más comunes, se trata de *E. coli* (1,3). Esta bacteria es el principal habitante facultativo del intestino grueso y es única entre los microorganismos que integran la microbiota normal por cuanto también es el patógeno humano aislado con mayor frecuencia como agente causal de infecciones de las vías urinarias, heridas, neumonía, meningitis y septicemia. Los últimos estudios han demostrado que ciertas cepas de *E. coli* también son patógenos intestinales importantes que causan una amplia variedad de enfermedades gastrointestinales, estas cepas son cinco: enterotoxigénica, enterohemorrágica, enteropatógena, enteroagregativa y enteroinvasiva (1-3,5-8).

Además de *E. coli*, el género *Escherichia* incluye algunas otras especies que rara vez se aíslan de enfermedades humanas (3).

2.1 TAXONOMIA

Los estudios de homología de ADN demuestran que el género *Escherichia* incluye al género *Shigella*; no obstante, la importancia clínica de la disentería bacilar exige que éste género sea considerado como una entidad separada. Si se excluye a la

Shigella, el género *Escherichia* incluye a seis especies, de las cuales cinco han sido asociadas con enfermedades humanas. *E. coli* es responsable de casi todas las infecciones con importancia clínica causadas por el género, en tanto que las otras especies explican menos del uno por ciento de los aislamientos clínicos (3).

2.2 CARACTERISTICAS BIOQUIMICAS Y DE SU CULTIVO

E. coli se desarrolla bien en los medios de uso común. En los medios para aislamiento de bacilos entéricos la mayor parte de las cepas aparece como colonias fermentadoras de lactosa. Algunas cepas, en particular las asociadas con infecciones del aparato urinario, son β -hemolíticas en agar sangre. Casi todos los aislamientos son no pigmentados y móviles y se caracterizan bioquímicamente por la producción de lisina descarboxilasa, en uso de acetato como fuente de carbono y la hidrólisis de triptófano a indol (3).

2.3 ESTRUCTURA ANTIGENICA

La tipificación serológica de *E. coli* se basa principalmente en la determinación del tipo de antígeno O, el tipo de antígeno H y cuando corresponde, el tipo de antígeno K. Existen mas de ciento sesenta y cuatro antígenos O, cien antígenos K y cincuenta antígenos H descritos para *E. coli*. Los antígenos H pueden subdividirse en los subgrupos L, A y B. La deteminación del perfil antigénico de las diferentes cepas resulta útil en los estudios epidemiológicos y diversos estudios han relacionado tipos antigénicos particulares con distintas enfermedades diarreicas. Por ejemplo, el serotipo O157:H7 produce una toxina de tipo Shiga que es responsable de la colitis hemorrágica y casi todos los aislamientos O78:H11 y O78:H12 son enterotoxigénicos. Otros tipos antigénicos, como por ejemplo O111a, O111b:H2 se han asociado con la diarrea infantil

y las cepas O124:H30 son enteroinvasoras y provocan una disentería bacilar similar a la causada por *Shigella* (3,6).

2.4 DETERMINANTES DE LA PATOGENICIDAD

El término descriptivo *E. coli* comprende un grupo diverso de microorganismos que pueden infectar cualquier sistema del hospedero y producir un vasto número de factores de virulencia que varían desde características estructurales hasta toxinas excretadas. La importancia relativa de cada uno de estos factores depende no sólo de la genética de una cepa particular de microorganismos sino también del sitio de infección y de la afección subyacente del huésped (3). Las cepas patógenas de *E. coli* tienen la capacidad de producir toxinas e invadir las células epiteliales del intestino y de esta forma causar enfermedad diarreica y otros tipos de enfermedad (9,10).

Factores de Superficie. Tanto en los Estados Unidos como en Europa *E. coli* y los estreptococos del grupo B son las causas principales de meningitis neonatal, y el ochenta por ciento de todos los aislamientos de *E. coli* de individuos con ésta enfermedad producen una cápsula de ácido polisialílico denominado K1. Es interesante destacar que ésta cápsula es idéntica a la cápsula polisacárida del grupo B de *Neisseria meningitidis*. La cápsula K1 es única entre los antígenos capsulares de *E. coli* en el sentido de que permite que el microorganismo resista la acción letal de los neutrófilos y de los anticuerpos del suero normal humano en diferentes ensayos in vitro. El tipo de antígeno O del microorganismo infectante también parece tener importancia así como la producción de fimbrias S, las que tienen predilección por la unión a receptores presentes en el endotelio vascular y en el epitelio que recubre el plexo coroideo y los ventrículos cerebrales de los ratones recién nacidos (3).

Además de las fimbrias de tipo S, *E. coli* produce cierto número de tipos diferentes de fimbrias que permiten que el microorganismo se fije a distintos tejidos del hospedero. Estas fimbrias han sido divididas en dos grandes grupos denominados fimbrias resistentes a la manosa y sensibles a la manosa. Las fimbrias sensibles a la manosa se unen a los receptores de la célula hospedera que contiene manosa y su capacidad para unirse a estos receptores se reduce cuando las células bacterianas son pretratadas con D-manosa. Las fimbrias sensibles a la manosa o de tipo 1 también se denominan pili comunes porque se las encuentra en la mayor parte de las *E. coli*. Si bien las fimbrias de tipo 1 se unen a una amplia variedad de células eucarióticas, no se ha definido ninguna función patogénica para ellas, ya que no existe correlación entre la presencia o ausencia de las fimbrias de tipo 1 y la enfermedad. Sin embargo, algunos autores consideran que estas fimbrias son importantes en la colonización de la vejiga en ausencia de otras fimbrias. Más aún, se considera que las fimbrias de tipo 1 desempeñan un papel fundamental en la colonización por fijación del microorganismo a las mucosas del intestino grueso, la cavidad bucal y el tracto vaginal (3).

Los factores de superficie implicados en la adherencia resistentes a la manosa son más complejos que las fimbrias de tipo 1. Incluidos en éste grupo de factores de adherencia a la superficie se encuentran las fimbrias y otras propiedades de la superficie conocidas como adhesinas. Independientemente de la naturaleza de éstos factores de adherencia, todos parecen ser importantes para el establecimiento de las cepas patógenas de *E. coli* en los diferentes tejidos del hospedero y la información genética para varios de ellos se encuentra estrechamente asociada con otros factores de virulencia. Uno de éstos factores de adherencia resistentes a la manosa son las fimbrias de tipo S ya que se han

descrito como un cofactor de *E. coli* con cápsula K1. Otro grupo importante de fimbrias resistente a la manosa es el de las fimbrias P, denominadas así por su capacidad para unirse a los antígenos P del grupo sanguíneo humano (3).

Las fimbrias y las adhesinas resistentes a la manosa también son importantes factores de adherencia en las infecciones intestinales causadas por *E. coli* (11). En los animales las fimbrias F4 (antes K88), F5 (antes K99), 987P y F41 son necesarias para el establecimiento de las cepas enteropatógenas en el tracto gastrointestinal. Las fimbrias CFA1 y CFA2 (CS1, CS2, CS3) desempeñan la misma función en la *E. coli* enterotoxigénica humana (ETEC). La *E. coli* enteropatógena (EPEC), la *E. coli* enteroadherente (EAEC) y la *E. coli* productora de verotoxina (VTEC) elaboran adhesinas no fimbriadas que fijan los microorganismos a sus células blanco en una asociación más estrecha que la observada con otras formas de fijación. Algunas de estas adhesinas parecen ser proteínas de superficie de la bacteria, aunque se ignoran los mecanismos por los cuales fijan la célula bacteriana a la célula hospedera. Una vez unidas a la célula blanco la EPEC y la EAEC producen modificaciones en la estructura de la célula hospedera y se considera que esta alteración es responsable de los cambios en la permeabilidad celular que conducen a la diarrea (3,6,12,13).

Se ignora si la adhesina sola es responsable de la alteración estructural o si se producen otros productos bacterianos. Se piensa que la unión de la VTEC a las células blanco proporciona un medio que posibilita la transferencia de la toxina directamente a éstas células. La información genética para casi todas estas adhesinas parece estar contenida en plásmidos (3).

Se ignora el papel exacto de los otros antígenos de superficie. Como se menciona en las secciones sobre determinantes antigénicos y manifestaciones clínicas, ciertos serotipos O se han asociado con diferentes enfermedades. No se ha establecido si la localización genética de un determinante patogénico simplemente está cerca de los loci genéticos para la especificidad antigénica o si los antígenos de superficie son realmente necesarios para el establecimiento de los microorganismos en el hospedero. Sin embargo, los antígenos O intactos protegen al microorganismo de la acción del complemento. Además, la porción del lípido A del lipopolisacárido (LPS) es responsable de los efectos endotóxicos que se observan en los pacientes bacterémicos (3).

Enterotoxinas. Varias cepas de *E. coli* desempeñan un papel significativo en la enfermedad gastrointestinal y los mecanismos patogénicos de la diarrea por *E. coli* son diversos y complejos. Uno de estos mecanismos patogénicos implica la producción de una amplia variedad de enterotoxinas, algunas de las cuales se asocian con la enfermedad humana, en tanto que otras están relacionadas de forma primaria con infecciones en animales. Independientemente del sistema del hospedero, el órgano blanco de las enterotoxinas de *E. coli* es el intestino delgado y el resultado es una diarrea acuosa causada por la efusión de líquidos y electrolitos. La capacidad para producir casi todas estas toxinas depende de la presencia de plásmidos que codifican las mismas (3). Las cepas de *E. coli* que poseen el plásmido necesario, producen una enterotoxina termolábil (LT) que es similar a la enterotoxina del *Vibrio cholerae* (3,6,8,14,15). Al igual que la toxina colérica, la LT estimula la actividad de la adenilciclase en las células epiteliales de la mucosa del intestino delgado, la que a su vez aumenta la permeabilidad del revestimiento intestinal, lo que conduce a una pérdida de líquidos y electrolitos. Las

subunidades B de la toxina colérica y de la LT se unen al gangliósido GM1, de las células intestinales. Luego se hidroliza la subunidad A y el fragmento A1 penetra en la célula huésped y cataliza de forma enzimática la transferencia de adenosina difosfato (ADP)-ribosa a partir de nicotinamida adenina dinucleótido (NAD) a la subunidad reguladora de adenilciclase aumentando su actividad, lo que eleva el nivel de AMP cíclico. Este incremento en AMP cíclico ocasiona una pérdida de electrolitos y de líquido desde las células. Aunque la toxina colérica y la LT tienen una estructura similar y producen los mismos efectos en cultivos celulares y en modelos animales, poseen estructuras antigénicas ligeramente diferentes y en los modelos animales la potencia de LT es unas cien veces menor que la de la toxina colérica. La homología global en aminoácidos y nucleótidos de las dos toxinas es de alrededor del ochenta por ciento (3,6,8,14).

Se ha identificado una segunda clase de LT, la LT-II, que no comparte reactividad inmunológica u homología nucleotídica con la toxina colérica ni con la LT. La clase LT-II contiene por lo menos dos toxinas diferentes, LT-IIa y LT-IIb. Los genes que codifican las subunidades B de LT-IIa y LT-IIb tienen una homología del sesenta y seis por ciento entre sí. Los genes que codifican la subunidad A tanto de la LT-IIa como de la LT-IIb tienen una homología del setenta y siete por ciento entre sí y del cincuenta y siete por ciento con los genes de LT-I y de la toxina colérica; la mayor parte de la homología se produce en la región que codifica la subunidad A1. Si bien la forma de acción de LT-IIa y de LT-IIb es similar a la de la toxina colérica y a la de LT, no producen acumulación de líquidos en el modelo de intestino ligado del conejo adulto ni se unen al gangliósido GM1. Más aún la información genética para éstas toxinas está codificada en el

cromosoma bacteriano, no en plásmidos. Se desconoce la importancia de éstas toxinas en la enfermedad humana (3,8,16).

Además de la LT, *E. coli* puede producir dos enterotoxinas termoestables (ST), la STa (ST-I) y la STb (ST-II) (3,6,8,14,15). La ST es un polipéptido con un peso molecular de 1500 a 2000 Da, es activa en el ratón lactante y en cerdos recién nacidos. Posee una estructura secundaria altamente enrollada que parece ser necesaria para la actividad, como lo evidencia su alto contenido de cisteína, su inactivación por agentes reductores y su pH alcalino. La STb no es soluble en metanos y sólo es activa en cerdos lactantes. Las dos toxinas también difieren en las secuencias de aminoácidos. STa se une fuertemente a receptores intestinales específicos y luego activa con rapidez una guanilato ciclasa particulada en las células de la mucosa intestinal, lo que ocasiona una respuesta secretora principalmente por inhibición de la absorción de sodio y cloruro por la membrana con borde de cepillo en las células del epitelio intestinal (3,6,8,14). El mecanismo de acción de la STb se desconoce, pero, no implica la producción de nucleótidos cíclicos, recientemente se sugiere que STb eleva el nivel de prostaglandina intestinal y promueve la descarga de 5-hidroxitriptamina en el intestino, estas dos sustancias al parecer promueven la secreción intestinal (14). Si bien las cepas de *E. coli* productoras de STa causan diarrea en el hombre, un estudio realizado en heces de pacientes de Brasil y Bangladesh no comunicó la detección de ninguna *E. coli* productora de STb. La capacidad para producir STa está codificada en dos plásmidos, uno de los cuales también codifica LT y el otro sólo ST; estudios con sonda han revelado que existen por lo menos dos genes STa diferentes, ST-I y ST-II (3,6,16).

Verotoxinas (toxinas de tipo Shiga). La *E. coli* produce por lo menos dos citotoxinas derivadas de seres humanos y una derivada de porcinos, denominadas verotoxinas, debido a su efecto citotóxico irreversible sobre cultivos de células Vero, una línea celular obtenida de células de riñón de mono verde africano (3,8,17). En humanos se ha aislado VTEC de casos de diarrea, colítis hemorrágica y síndrome urémico hemolítico (SUH)(3,8,17,18). Debido a la semejanza de las verotoxinas con la toxina Shiga, también se les denomina toxinas de tipo Shiga (STL); el término STL-I es sinónimo de VT1 la VT2 es denominada STL-II. Ambas inhiben la síntesis protéica en las células eucarióticas de la misma manera que la toxina Shiga, pero, se diferencian entre sí y de la toxina Shiga en la reactividad inmunológica y las actividades biológicas en modelos animales y de cultivos celulares. VT2 también parece diferir de VT1 en el espaciamiento de las subunidades y en el patrón de restricción del ADN. El nivel de producción de toxina tiene importancia en el desarrollo de la enfermedad. Las VTEC están infectadas por uno o por los dos bacteriófagos que codifican las toxinas VT1 o de VT2 o ambas, VT1 y VT2. Si bien algunas cepas de *E. coli* pueden llegar a infectarse con estos bacteriófagos y por lo tanto producir verotoxinas, la mayor parte de los aislamientos de VTEC en brotes epidémicos en los Estados Unidos y en Canadá han sido atribuidos al serotipo O157:H7 (3,8,19-21).

Otros factores. Las cepas de *E. coli* enteroinvasoras son similares a las de *Shigella* y penetran el revestimiento epitelial del tracto intestinal. Estos microorganismos poseen grandes plásmidos que codifican antígenos O, lo que puede ser importante para la unión de los microorganismos con las células hospederas y la supervivencia intracelular posterior (3,12,13,17,22,23).

Las cepas de *E. coli* hemolíticas se aíslan con mayor frecuencia de infecciones no intestinales que de muestras fecales y estas cepas hemolíticas parecen ser más nefropatogénicas (3,24).

La hemólisis se debe a la elaboración de una hemolisina filtrable la cual no sólo lisa los eritrocitos de una variedad de especies sino que también es citotóxica para los leucocitos y los fibroblastos de pollo y de ratón. La acción lítica de la hemolisina parece deberse a la inserción de moléculas de hemolisina en las membranas lipídicas lo que produce un canal selectivo de cationes que aumenta la permeabilidad de la membrana al calcio, al potasio, a la manosa y a la sacarosa. Algunos autores consideran que la hemolisina contribuye a la inflamación, a la lesión tisular y al deterioro de las defensas del hospedero por una acción directa sobre las células de los tejidos o indirectamente por lisis de los monocitos y de los granulocitos.

La producción de hemolisina puede ser codificada por genes cromosómicos o por la presencia de un plásmido de 41 MDa. Los estudios con cepas que contienen plásmidos de hemolisina señalan que la pérdida del plásmido se asocia con una pérdida de nefropatogenicidad. Es interesante destacar que algunas cepas hemolíticas también producen fimbrias P, lo que puede ayudar a la colonización de estos microorganismos en el sistema renal. El papel de la hemolisina en relación con la célula bacteriana puede proporcionar una forma de adquirir hierro del medio del hospedero, donde la mayor parte del hierro se encuentra fuertemente unido con las moléculas proteicas o está presente en concentraciones muy bajas (3).

Otro medio de adquirir hierro por parte de la *E. coli* es a través de la producción de la aerobactina siderófora quelante de hierro. Parece haber una relación recíproca

entre la producción de aerobactina y la producción de hemolisina y algunos autores han propuesto que diferentes cepas usan aerobactina y hemolisina como dos medios alternativos para obtener hierro (3).

Las cepas hemolíticas con frecuencia producen un factor citotóxico necrozante (CNF). Esta proteína de 110,000 Da produce necrosis en la piel del conejo e induce la formación de células multinucleadas en cultivos de tejidos. En un estudio el sesenta y tres por ciento de las cepas hemolíticas produjo CNF en tanto que ninguna de las cepas no hemolíticas elaboró esta toxina. El papel exacto del CNF en la enfermedad y su relación con la hemolisina todavía no se conoce si bien algunos investigadores creen que es responsable de varias de las lesiones tisulares observadas en algunas infecciones (3).

2.5 INFECCION CLINICA

Manifestaciones clínicas. En los Estados Unidos *E. coli* es la causa principal de las infecciones de las vías urinarias, tanto nosocomiales como adquiridas en la comunidad. El espectro patológico varía desde cistitis hasta pielonefritis. Las mujeres son más propensas a sufrir infecciones del tracto urinario a una edad más temprana debido a diferencias en la estructura anatómica, la maduración sexual, las alteraciones que se producen durante el embarazo, el parto y la presencia de tumores. Después de los cuarenta y cinco años de edad, el varón con hipertrofia prostática es más propenso a sufrir infección de las vías urinarias. El cateterismo u otras manipulaciones mecánicas del tracto urinario, la obstrucción, la diabetes y la incapacidad para el vaciamiento completo de la vejiga durante la micción son otros factores que predisponen a las infecciones urinarias por *E. coli* y otros microorganismos (3).

Como ocurre con otros patógenos oportunistas, *E. coli* puede invadir el torrente sanguíneo desde cualquiera de los sitios de infección primaria (infecciones pulmonares, meningitis neonatal, heridas). En la mayor parte de los hospitales éste microorganismo es la causa más frecuente de sepsis por bacterias gramnegativo y de hecho habitualmente es el aislamiento más importante de hemocultivos (3,25). La producción de hemolisinas es uno de los principales factores asociados a la infección extraintestinal producida por *E. coli* ya que las cepas de la misma que invaden fuera del intestino frecuentemente producen éstas sustancias (24). *E. coli* también ha sido nombrada como el principal agente causal de meningitis neonatal (26-28).

El papel de *E. coli* en la enfermedad diarreica todavía no se ha aclarado por completo debido a que los métodos para la detección de los microorganismos enteropatógenos no suelen estar al alcance del laboratorio en los hospitales. Además, los mecanismos por los cuales *E. coli* puede causar diarrea son complejos (3,5).

Sin embargo cabe mencionar que *E. coli* causante de diarrea puede dar por resultado diversos síndromes clínicos, ya que virtualmente todos los mecanismos conocidos de diarrea están presentes en éste microorganismo, inclusive toxinas secretorias, toxinas citotóxicas, invasión y adherencia patógena (6).

Una estimación coloca la incidencia de la diarrea por *E. coli* en los Estados Unidos en el cuatro por ciento. En cambio, en los países tropicales las *E. coli* enteropatógenas constituyen causas importantes de diarrea infantil (3,5). Las ETEC han sido asociadas con un once a un quince por ciento de los casos de diarrea infantil en los países en desarrollo y son las principales causas de la diarrea del viajero que se observa entre las personas que visitan esos países. Las ETEC han sido responsables de alrededor

del treinta al cuarenta y cinco por ciento de las diarreas del viajero entre los individuos que visitan México. Estudios realizados en otros países indican que la ETEC puede ser la causa del once al setenta y dos por ciento de las diarreas del viajero. En algunos estudios la EAEC parece ser otra causa importante de la diarrea del viajero y estos microorganismos causan hasta el treinta por ciento de la enfermedad (3).

Estudios recientes sugieren una relación entre el riesgo de desarrollar enfermedad diarreica y el grupo sanguíneo, nombrando el grupo O como el de más alto riesgo, el AB el de menor y los grupos A o B de riesgo intermedio, sin embargo las bases biológicas para esta asociación todavía no están claras (29).

Las EPEC constituyen un grupo especial de microorganismos adherentes asociados con brotes de diarrea infantil (3,5). Por tradición este término se ha reservado para los serotipos clásicos: O:26:H11, O:26:NM, O55:NM, O55:H6, O55:H7, O86:NM, O86:H34, O86:H2, O111:NM, O111:H2, O111:H12, O111:H21, O114:H2, O119:H6, O125ac:H21, O128ab:H2, O142:H6 y O158:H23. Estos microorganismos son causas habituales de diarrea en lactantes en guarderías y salas de niños recién nacidos de hospitales en el Reino Unido, Canadá e Israel. En países como Brasil donde se realizan estudios de población se ha demostrado que las EPEC constituyen la principal causa de diarrea infantil en la comunidad (3).

La *E. coli* enteroinvasiva (EIEC) causa disentería bacilar en todos los grupos etarios. La enfermedad producida por estos microorganismos es indistinguible de la shigelosis (3).

En los Estados Unidos y Canadá la *E. coli* productora de verotoxinas (VTEC) ha causado cierto número de brotes de diarrea, colitis hemorrágica y síndrome urémico hemolítico.

La colitis hemorrágica es una enfermedad diarreica sanguinolenta aguda autolimitada que se caracteriza por cólicos abdominales, deposiciones líquidas y secreción hemorrágica. El síndrome urémico hemolítico se caracteriza por insuficiencia renal aguda, anemia hemolítica microangiopática y trombocitopenia. Tanto la colitis hemorrágica como el síndrome urémico hemolítico son complicaciones de una diarrea leve y común que se ve principalmente en instituciones encargadas de la atención de niños o en niños de edad preescolar y en pacientes de edad avanzada. Es probable que el origen de las infecciones sea la carne y productos animales como la leche y las hamburguesas. El serotipo O157:H7 es un gran productor de verotoxina y se lo ha implicado en algunos brotes; sin embargo, otros serotipos de VTEC han sido aislados por investigadores canadienses. En diferentes estudios prospectivos realizados en los Estados Unidos y en Canadá las VTEC ocuparon el tercero o cuarto lugar en importancia como causa de diarrea y el número de VTEC aisladas sólo fue superado por los aislamientos de *Campylobacter* y *Salmonella* (3).

Diagnóstico de Laboratorio. La *E. coli* se desarrolla sin problemas en los medios que se describen en la sección de la familia *Enterobacteriaceae* y las cepas se identifican con facilidad por medio de los métodos que se utilizan en los laboratorios clínicos, tales como cultivos en agares como MacConkey, Salmonela-Shigella, XLD, eosina-azul de metileno y otros; perfiles bioquímicos (baterías con medios como triple azúcar hierro que nos da una reacción : A(K) / A, g +(-),h -; lisina hierro que nos da una reacción: K/K

ó N, g +(-),h -, citrato que no da reacción, urea que no da reacción, producción de indol positivo), e identificaciones serológicas con antisueros específicos (ver página 40)(3,32,34). No obstante, el simple aislamiento de *E. coli* de muestras contaminadas como esputo y heridas no significa que éste microorganismo sea la causa de la infección del paciente. Se debe efectuar una evaluación cuidadosa de los factores del paciente y de otros microorganismos aislados. Por ejemplo, un paciente que está recibiendo penicilina por una neumonía neumocócica puede tener un desarrollo profuso de *E. coli* en cultivos posteriores de esputo porque la penicilina destruye la microbiota respiratoria normal, lo que permite que la *E. coli* colonice el tracto respiratorio superior (3).

Los adelantos recientes en el estudio de las causas de diarrea demostraron que en ausencia de enteropatógenos conocidos la *E. coli* debe ser considerada en el diagnóstico, así como en estudios epidemiológicos (3,30). Sin embargo, los laboratorios de los hospitales no poseen las técnicas para la detección de muchos de éstos microorganismos. Casi todos los informes publicados que implican a *E. coli* en la enfermedad diarreica provienen de investigaciones de brotes por grupos de salud pública o de estudios prospectivos efectuados por equipos de investigadores especializados. No obstante, los adelantos recientes dentro del área de las sondas de ácidos nucleicos y anticuerpos monoclonales pueden proporcionar al laboratorio del hospital la capacidad para detectar ETEC y EPEC. Actualmente las VTEC pueden detectarse con reactivos comerciales. Las VTEC del serotipo O157:H7 (la cual es el serotipo más importante) no fermentan sorbitol y este hecho se utilizó para idear un medio que sustituye el sorbitol por lactosa en agar McConkey (3,6).

Tratamiento. Debe realizarse una prueba de susceptibilidad a los antibióticos para determinar cual es el indicado para el tratamiento de la infección. El manejo de los líquidos y el equilibrio de los electrolitos parece ser el mejor tratamiento para la diarrea, aunque la diarrea infantil y la disentería bacilar responden al tratamiento antibiótico. El tratamiento profiláctico con trimetoprim-sulfametoxazol reduce la incidencia de diarrea del viajero; no obstante, algunos médicos piensan que la profilaxis sólo sirve para seleccionar microorganismos resistentes y para potenciar el estado de portador en personas infectadas por *Salmonella* más que por *E. coli* (3).

3. *ESCHERICHIA COLI* ENTEROPATOGENA

En éste grupo se encuentran los serogrupos O que se relacionan directamente con la diarrea infantil, dichos grupos son el O18a18c, O20a20b, O26, O44, O55, O86, O111a111b, O114, O119, O125a125c, O126, O127, O128a128b128c, O14 O158 (12,13,30). La forma en la cual éstos microorganismos producen patogenicidad es por la producción de una citotoxina similar a la producida por el bacilo de Shiga (verotoxina) o por su capacidad de adherirse a la mucosa intestinal y producir cambios histológicos en la misma (5,12,22,30).

3.1 PRODUCCION DE CITOTOXINAS

Como ya se mencionó algunas cepas de EPEC producen una verotoxina parecida a la del bacilo de Shiga en cantidades que pueden ser desde mínimas o llegar a ser comparables con las cantidades producidas por *Shigella dysenteriae* (17,30).

Existen dos toxinas en *E. coli* similares a la de Shiga, la SLT I (Shiga like toxin I) que se encuentra en EPEC y EHEC y la SLT II que se encuentra en los sobrenadantes de EHEC (O157:H7)(19,20,21). Estas toxinas son las mismas que anteriormente se les

denominaban toxinas Vero I y II (17,30). Estas toxinas producen citotoxicidad en células HeLa y Vero, enterotoxigenicidad en segmentos ileales de conejo y letalidad en dosis de cien nanogramos y dos microgramos al igual que la toxina de Shiga (17,30).

La SLT I es neutralizada por antisuero anti Shiga y los anticuerpos monoclonales contra SLT I neutralizan la toxina de Shiga. No se ha logrado determinar si inmunoquímicamente la toxina de Shiga y la SLT I son idénticas o si se diferencian en algunos determinantes antigénicos. La SLT II no se neutraliza por la antitoxina de Shiga (17,30). Estas toxinas juegan un papel importante en la patología de éstas infecciones, pues se encuentran en niveles moderados o elevados en pacientes con diarrea o enterocolitis (17,30).

3.2 MECANISMOS DE ADHERENCIA

Uno de los principales mecanismos de patogenicidad de la *E. coli* enteropatógena lo constituye la adhesión a la mucosa intestinal (5,12,20,22,30).

La adherencia por EPEC causa lesiones histológicas patognomónicas en el epitelio intestinal, que consiste en una destrucción de las microvellosidades del borde de cepillo y formación de un pedestal en el mismo epitelio y otros lugares donde EPEC ataca (5,12,20,22,30).

Este cambio se debe a que la bacteria se adhiere al enterocito formando microcolonias sobre las microvellosidades por medio de la creación de proyecciones de actina (12,13,20,22,23). Esta cualidad de EPEC recibe el nombre de barrido y ataque, y es debida a la expresión del gen *eaeA* que produce la síntesis de una proteína de la membrana exterior de 94-kDa (llamada Intimina) (12,17,20,22,23).

La destrucción de las microvellosidades se produce por dos estadios diferentes:

1- un ataque inicial donde la microvellosidad (o sea el borde de cepillo) no se ve afectado; y 2 - un ataque interno entre la bacteria y la célula que da como resultado una elongación del borde de cepillo, con una consecuente vesiculación de la membrana, hasta provocar una desorganización del citoesqueleto de la microvellosidad deformándola (12,17,22,23,30). Como consecuencia de éstos cambios se produce una disminución de las disacaridasas, alfa glucosidasa y fosfatasa alcalina y una reducción del área de absorción (30). Se piensa que el ataque inicial es de naturaleza fimbrial mientras que el ataque interno no. Una colonización fuerte sobre los enterocitos muestra un daño intracelular, incluyendo dilatación de los canales del retículo endotelial y una disminución del número de ribosomas dando así una palidez citoplasmática (30).

Existen tres patrones diferentes de adherencia, los cuales son: **Adherencia Localizada (AL)** la que se asocia con ciertos serotipos clásicos de EPEC y con la presencia de una adhesina no fimbrial denominada Factor de Adherencia de EPEC (EAF)(1,17,23,30,31). Se reconoce por la formación de microcolonias en sitios específicos de la superficie celular. Los serogrupos de EPEC que presentan éste tipo de adherencia incluyen O111, O119, O55, O86, O127, O128 y O142. El EAF se supone está codificado por un plásmido que recibe el nombre de p MAR 2 (23,30,31). **Adherencia Difusa (AD)** en la que se observa que la bacteria se adhiere a la superficie interna de las células en diversos lugares. Se ha relacionado con este patrón a una adhesina fimbrial, la que ha sido denominada F1845. La presencia de esta adhesina se asocia también con la propiedad que tiene la bacteria de aglutinar eritrocitos en presencia de D-manosa. Se divide en dos clases, I y II. Clase I los que presentan el factor de enteroadherencia

(EAF+) y muestran un patrón de adherencia localizada. Dentro de éste grupo se incluyen los serogrupos O55, O111, O119, O127, O128 y O142. Clase II los que tienen ausente el factor de enteroadherencia (EAF-). Generalmente presentan un patrón de adherencia difuso o no presentan adherencia, y lo constituyen los serogrupos O44, O86 y O114 (5,30). **Adherencia agregativa (AA)** que constituye una nueva categoría dada a un patrón diferente al de AL y AD. Microscópicamente se observan las colonias autoagregadas (en grumos) sobre la célula o lejos de ella. *E. coli* agregativa parece ser importante como causa de diarrea persistente en niños, generalmente de duración de catorce días o más (30).

3.3 MANIFESTACIONES CLINICAS

EPEC produce una enfermedad que se caracteriza por fiebre, malestar, dolor abdominal, vómitos y diarrea con cantidades grandes de moco pero sin sangre; produce deshidratación y pérdida de electrolitos (6,7,30). Esta enfermedad tiende a ser clínicamente más severa que otras infecciones diarreicas en infantes. Algunos desarrollan diarrea prolongada por más de catorce días (6,7,30).

3.4 EPIDEMIOLOGIA

Desde 1920 EPEC ha sido considerada como agente causal de diarrea. Su forma de transmisión es a través de agua y comida contaminada y una deficiente limpieza de utensilios; para que EPEC sea capaz de producir diarrea el inóculo debe estar entre uno y mil millones de microorganismos, contrastando con inóculos más pequeños de *Shigella* y *Salmonella* (30). Estudios realizados en distintas partes del mundo colocan a los serotipos O111 y O119 como los principales y más importantes en el desarrollo de enfermedades diarreicas (30). En Guatemala se realizó en las áreas rurales un estudio en

1969, en el cual se concluyó que las infecciones por *Escherichia coli* enteropatógena y *Salmonella* representaban las dos quintas partes de todas las infecciones causadas por enterobacterias patógenas (30). La tasa más alta de EPEC se encontró en el período en el cual se interrumpe la lactancia materna y fué muy rara durante el primer trimestre de vida (30). En 1976 se investigó en el Hospital de Gineco-obstetricia del Instituto Guatemalteco de Seguridad Social los agentes causantes de diarrea en recién nacidos reportando a EPEC como el único agente importante, e identificándose como serogrupos prevalentes el O111 y O126 (30). En 1986 se reveló que EPEC está relacionada con diarrea endémica en niños menores de un año, en un estudio realizado en la colonia El Limón en la capital de Guatemala, donde encontraron un 2.2 por ciento de prevalencia (anexo 2)(30,37); también se realizó otro estudio en Santa María de Jesús durante 1,987 a 1,989, en el cual también se observó la presencia de EPEC en casos de diarrea infantil, reportando un 2.1 por ciento en diarreas agudas y un 7.9 por ciento en diarreas persistentes (anexo 3)(39).

4. ROTAVIRUS

Los miembros de éste grupo de virus, que miden cerca de 70 nm de diámetro se asemejan a los reovirus y al inicio recibieron una diversidad de nombres, incluidos orbivirus, virus tipo reovirus, rotavirus, duovirus y virus de gastroenteritis infantil (6).

Los rotavirus constituyen un género de la familia *Reoviridae*, que también comprende a reovirus, orbivirus, fitorreovirus, fijivirus y ciprovirus (6). Se acogió en un principio el término Rotavirus (*rota* proviene del latín y significa rueda) ya que el virus tiene apariencia de rueda, con rayos cortos que irradian desde un centro ancho y con una

orilla que se distingue con claridad (6). El virus se asocia en la actualidad a diarrea aguda no sólo en el hombre sino también en recién nacidos y juvenes de otras especies de mamíferos (6). Se calcula que el período de incubación de la diarrea por Rotavirus es menor de cuarenta y ocho horas (6). Los Rotavirus son eliminados en las heces en gran número y se transmiten por vía feco-oral; algunos investigadores han sugerido la vía respiratoria como transmisión, aunque rara vez se han identificado en las secreciones respiratorias (6).

El Rotavirus se ha identificado en diversas regiones geográficas, y es un patógeno universal importante. En Estados Unidos en niños de uno a cuatro años de edad se calcula que los Rotavirus causan más de un millón de casos de diarrea grave y hasta ciento cincuenta defunciones al año. En países en desarrollo en niños menores de cinco años de edad se calcula que los Rotavirus causan más de ciento veinticinco millones de casos de diarrea al año, con dieciocho millones considerados moderadamente graves o graves (6).

En países con menor desarrollo, las tasas específicas por edades de enfermedad diarreica son mayores; por ejemplo, diez episodios por niño entre los seis y once meses de edad al noreste de Brasil; 7.9 episodios al año por niño durante los primeros tres años en Guatemala; y 6.1 episodios al año por niño durante los primeros tres años de vida en Bangladesh (6). En ésta población Black y cols. informaron que el Rotavirus fue causante de cuarenta y siete por ciento de las diarreas en menores de dos años atendidos por la enfermedad (6). De esta manera, aunque se desconoce la frecuencia exacta de diarrea por el agente en cuestión, es alta y se calcula en Guatemala un mínimo de 1.1 episodios de diarrea por Rotavirus por niño durante los primeros tres años de vida(6).

Los Rotavirus se replican dentro de las células epiteliales maduras que cubren la porción superior de las vellosidades intestinales, causando destrucción celular y acortamiento de las vellosidades (6,32).

La gastroenteritis por Rotavirus incluye diarrea, vómitos, fiebre y deshidratación y se caracteriza por ser autolimitante, pudiendo durar de 6 a 8 días, sin secuelas cuando se administra tratamiento para la deshidratación (6,34).

Como en otras formas de gastroenteritis deshidratantes, la clave del tratamiento consiste en el manejo meticuloso y adecuado del equilibrio hidroelectrolítico en pacientes con gastroenteritis por Rotavirus (6). La rehidratación satisfactoria por vía oral en adultos con cólera se ha logrado mediante una solución con glucosa y electrolitos, con lo que se incrementa la absorción de sodio y, por tanto, de agua en el intestino (6). Se han aplicado las mismas técnicas de manera satisfactoria a poblaciones pediátricas, y en estudios de países desarrollados y menos desarrollados se ha demostrado la aplicación positiva de tratamientos de rehidratación oral en casos de diarrea por Rotavirus con deshidratación de grado leve a moderado (6). Cuando el paciente está gravemente deshidratado o en choque, también, cuando la rehidratación oral no es satisfactoria, se deben administrar líquidos endovenosos (6).

IV. JUSTIFICACIONES

La diarrea bacteriana es un problema de gran importancia en niños pequeños, especialmente de cero a tres años de edad (30). Sin embargo en ocasiones, no se encuentra tanto en el examen coproscópico como en el coprocultivo, ningún parásito ni bacteria patógena, aislándose únicamente *Escherichia coli*.

En Guatemala se han realizado estudios donde se ha demostrado que EPEC es un importante agente en el desarrollo de enfermedad diarreica. Sin embargo Mazatenango presenta condiciones climáticas, de salubridad, culturales y socioeconómicas distintas a las de la ciudad capital de Guatemala.

Por lo antes mencionado, fué importante determinar la prevalencia de *Escherichia coli* enteropatógena en niños que asistieron a un laboratorio clínico privado de Mazatenango, con el fin de estimular la tipificación y diagnóstico de dicha bacteria como parte del diagnóstico coprológico y así en alguna medida contribuir a evitar tratamientos antimicrobianos innecesarios en pacientes con diarrea causada por el agente en estudio.

V. OBJETIVOS

General

- Determinar la frecuencia de *Escherichia coli* enteropatógena en niños de cero a tres años de edad que asistieron a un laboratorio clínico privado de Mazatenango.

Específicos

- Detectar la presencia de *Escherichia coli* enteropatógena en heces diarreicas en niños menores de tres años que asistieron a un laboratorio clínico privado de Mazatenango.
- Determinar si la proporción de la frecuencia de *Escherichia coli* enteropatógena entre los varones en estudio es igual a la de las mujeres.
- Determinar si existe relación entre la edad y el aislamiento de *Escherichia coli* enteropatógena.

VI. MATERIALES Y METODOS

A. UNIVERSO

Muestras de heces diarreicas de niños de cero a tres años que acudieron a un laboratorio clínico privado de Mazatenango.

B. MUESTRA

Noventa y seis heces diarreicas procedentes de niños que cumplieron con los siguientes criterios de inclusión 1- niños procedentes de Mazatenango; 2- comprendidos entre cero y tres años de edad; 3- diarreas excentas de parásitos y rotavirus.

C. MATERIALES

Equipo:	incubadora bacteriológica con termómetro
	autoclave
	campana bacteriológica
	mechero de Bunsen
	asas bacteriológicas
	balanza analítica
	centrífuga
	microscopio
	estufa
Cristalería:	tubos de vidrio con rosca
	cajas de petri descartables
	cubreobjetos
	portaobjetos
	erlenmeyers de 500 ml

beakers de 250 ml
pipetas de 5 ml, 10 ml

Reactivos:

Agar *Salmonella-Shigella* (SS)
Agar MacConkey
Agar Mueller-Hinton
Agar Triple Azucar Hierro (TSI)
Agar Lisina Hierro (LIA)
Medio Para Movilidad, Indol y Ornitina (MIO)
Agar Citrato
Caldo de Urea
Reactivo de Kovacs
Suero anti *E. coli* enteropatógena nonavalente
(marca Pasteur)
Suero anti *E. coli* enteropatógena trivalente
(marca Pasteur)
VIROTECT-ROTA (Rotavirus, marca Omega)
Aceite de inmersión

D. PROCEDIMIENTO

D.1 MUESTREO

Se realizó un muestreo no probabilístico.

Para la selección de muestra se tomaron en cuenta los siguientes criterios de inclusión: 1- niños procedentes de Mazatenango; 2- comprendidos entre cero y tres años de edad; 3- diarreas excentas de parásitos y rotavirus.

El muestreo fue llevado a cabo con todas las muestras de pacientes que acudieron a un Laboratorio Clínico privado de Mazatenango que cumplieron con los criterios de inclusión hasta llegar al número establecido. El mismo fue llevado a cabo durante la época lluviosa que en Mazatenango comenzó aproximadamente en Mayo. Se realizó en esta época del año ya que una de las principales fuentes de contaminación son la aguas residuales, que se producen en mayor cantidad durante el invierno, según boletín epidemiológico de la Dirección General de Salud (40).

D.2 RECOLECCION DE MUESTRA

Se aceptaron todas las muestras de heces frescas diarreicas con no más de treinta minutos de emitidas.

D.3 PROCESAMIENTO

Anotar la edad del paciente así como su lugar de procedencia.

Examen macroscópico. Se anotó aspecto, color, presencia de moco, presencia de sangre y pH de la muestra.

Examen microscópico. Se tomó aproximadamente un gramo de la muestra, se mezcló con cinco ml. de solución salina, luego se coló (en un colador común), se centrifugó por cinco minutos a 1000 rpm. Se procedió a la observación microscópica del sedimento, colocando una gota de solución salina y otra de lugol en un portaobjetos, en las cuales se agregó una gota del sedimento, y luego se anotó la presencia o ausencia de parásitos.

Determinación de Rotavirus. Si después del examen microscópico de la muestra no se

encontraron parásitos, se procedió a la determinación de Rotavirus por medio de la prueba Virotect-Rota (aglutinación en látex) en la muestra de heces original.

Coprocultivo. En las muestras con resultado negativo para Rotavirus se realizó el coprocultivo: inoculando una porción anormal de heces o de muestra similar, directamente en una caja de agar MacConkey y una caja de agar SS. El inóculo se colocó con asa en anillo (flameada y fría) o con hisopo en las cajas de ambos medios. Se inoculó solo medio centímetro en el MacConkey y un centímetro en el SS (32).

Se diseminó el inóculo utilizando dos asas en anillo. Se flameó una de las asas, mientras la otra se enfriaba. Ya diseminadas de ésta manera las muestras en la superficie de las cajas, se incubaron a 36°C de 18 a 24 horas (anexo 4)(32).

Interpretación de resultados. Después de incubadas, se observaron cuidadosamente las dos cajas de cada paciente simultáneamente. Se escogió en el MacConkey una colonia por cada tipo de colonias lactosa negativo (incoloras), se empezó por las colonias más pequeñas (1 mm), (si el paciente es un niño menor de un año) se buscaron en el MacConkey colonias típicas de *Escherichia coli* (roja, brillante y de bordes lisos pero no mucosa) y también colonias sospechosas de otros enteropatógenos (para el presente estudio); se examinó el SS de la misma forma. En el SS el crecimiento es más escaso pues es más inhibitor. Se buscaron colonias lactosa negativo o con punto negro en el centro (ácido sulfhídrico) o bien lactosa positivo para investigar *E. coli* enteropatógena (32). Con un asa en punta (flameada y fría) se tomó una colonia sospechosa y se inoculó en un tubo de TSI (medio rojo) así: se pinchó el medio en el centro y hasta el fondo tocando exactamente el centro del fondo del tubo, se retiró el asa sin salir del tubo de TSI y luego se hizo un estriado rápido y parejo en la superficie inclinada. Sin flamear

y con la misma asa, se inoculó el medio LIA (morado) pinchando esta vez tres veces y luego estriando la superficie y con la misma asa sin flamear, se hizo una estria en un tubo de Agar Urea de Christensen (32).

Se pudo haber usado los medios MIO (pinchando con el asa en medio y no hasta el fondo) y Citrato (únicamente estriando en la superficie inclinada) con el fin de realizar una identificación más precisa (33). Los tubos inoculados se incubaron de 18 a 24 horas (32). Los tapones de rosca quedaron ligeramente flojos para permitir la entrada de oxígeno (32). Se examinaron las reacciones coloreadas simultáneamente y se observó contra la luz, y se interpretaron los resultados comparando con la tabla de reacciones para enterobacterias.

Para realizar la diferenciación de *Escherichia coli* enteropatógena se utilizaron los antisueros antes mencionados, con un asa en punta previamente flameada y enfriada se picó una colonia de *Escherichia coli* de las que fueron identificadas y se mezcló con una gota de cada uno de los reactivos en un portaobjetos, se observaron macroscópicamente la aparición de grumos (aglutinación) y se informó como *E. Coli* enteropatógena cuando la aglutinación fue positiva para el respectivo antisuero.

E. DISEÑO DE INVESTIGACION

E.1 MUESTRA

Se calculó en 96 según la fórmula:

$$n = \frac{NC^2 \sigma^2}{D^2}$$

Donde: n = número de muestra
 NC = nivel de confianza
 σ = varianza
 D = límite de error

Cálculo: $NC = 1.96$ (95 % de confianza)

$$\sigma = (p)(q) = (0.5)(0.5) = 0.25$$

$$D = 0.05 \text{ (límite de error)}$$

$$n = (3.8416)(0.0625)/0.0025$$

$$n = 96$$

E.2 ANALISIS DE RESULTADOS

1. Tabulación de las boletas de recolección de muestras (anexo 5).
2. Se calculó el porcentaje de muestras positivas para *Escherichia coli* enteropatógena.
3. Se analizó si existió diferencia entre el porcentaje de aislamientos de *Escherichia coli* enteropatógena, entre niños y niñas, utilizando una Z de proporciones.
4. Se determinó si existió relación entre la edad y el aislamiento de *Escherichia coli* enteropatógena, utilizando tablas de contingencia y el test exacto de Fisher.

VII. RESULTADOS

Fue necesario procesar un total de ciento trece muestras de heces diarreicas y también heces diarreicas con moco y sangre, para poder alcanzar el número de muestra calculado ($n = 96$), ya que fueron rechazadas diecisiete muestras que no cumplieron con los criterios de inclusión, debido a que algunas presentaron parásitos intestinales y otras prueba de rotavirus positiva (ver tabla No. 1). No fue objetivo del presente estudio comparar los resultados obtenidos con los de otros agentes patógenos asociados (parásitos intestinales, rotavirus, otras bacterias).

Tabla No. 1 Patógenos intestinales aislados en niños de 0 a 3 años de edad, que asisten a un laboratorio clínico privado de Mazatenango.

Microorganismo	Total	Porcentaje (%)
<u>Escherichia coli</u>	44	38.9 *
EPEC	18	15.9
<u>Shigella boydii</u>	2	1.8
Rotavirus	6	5.3
Parásitos	11	9.7
No patógenos	32	28.3
Total	113	100

Fuente: Boleta de recolección de muestras.

* No incluye las EPEC

En la tabla No.1, se encuentra la distribución de los patógenos intestinales aislados y el porcentaje de muestras positivas de *Escherichia coli* enteropatógena es del 15.9 por ciento.

En la tabla No. 2, se observa la distribución de los niños por edades y sexo, el aislamiento de *Escherichia coli* enteropatógena fue del 19.0 por ciento.

Tabla No. 2 Clasificación de los niños por edades y sexo (n=96), contra los microorganismos aislados en niños de 0 a 3 años que asistieron a un laboratorio clínico privado de Mazatenango.

Microorganismo	0 - 1 años				1 - 2 años				2 - 3 años			
	F		M		F		M		F		M	
	Total	%	Total	%	Total	%	Total	%	Total	%	Total	%
<i>Escherichia coli</i>	5	5.2	11	11.5	13	13.5	9	9.4	3	3.1	3	3.1
EPEC	1	1.0	6	6.2	9	9.4	1	1.0	0	0	1	1.0
<i>Shigella boydii</i>	2	2.1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
No enteropatógenos	3	3.1	12	12.5	7	7.3	7	7.3	0	0	3	3.1
Total	11	11.5	29	30.2	29	30.2	17	17.7	3	3.1	7	7.3

Utilizando una Z de proporciones se analizó que no existe diferencia entre el porcentaje de aislamiento de *Escherichia coli* enteropatógena y los niños y niñas.

Usando tablas de contingencia y el test exacto de Fisher se determinó que no existe relación entre la edad y el aislamiento de *Escherichia coli* enteropatógena.

VIII. DISCUSION DE RESULTADOS

Una de las principales causas de morbilidad y mortalidad infantil a nivel nacional es el Síndrome Diarreico Agudo (SDA), ocupando en ambos el segundo lugar con un 12.18 y un 9.33 por ciento respectivamente. En Mazatenango sólo se cuenta con un dato de 6.66 por ciento de SDA como causa de morbilidad (Anexo No. 1).

La frecuencia de *Escherichia coli* enteropatógena (EPEC) encontrada en los 96 ensayos realizados fue de un 19.0 por ciento; con esto se comprueba la relación de EPEC con diarrea en niños menores de tres años.

En Guatemala existen otros estudios realizados con anterioridad como el de la colonia El Limón en el cual reportaron un 2.2 por ciento de EPEC en niños de cero a cuatro meses y que fueron monitoreados durante 42 semanas (37); y el de Santa María de Jesús en el que reportaron un 2.1 por ciento para diarreas agudas y 7.9 por ciento para diarreas persistentes, aplicado a 322 niños de cero a 35 meses (39). Estos estudios demuestran que EPEC ha sido un microorganismo históricamente relacionado con trastornos digestivos en nuestro país.

Sin embargo, hacen falta estudios en el interior de la república; ya que el 19.0 por ciento de EPEC encontrado en el presente estudio demuestra que puede ser un microorganismo de importancia epidemiológica en dichos lugares (en este caso Mazatenango).

Existe un factor muy importante a considerar como causa del porcentaje de EPEC encontrado, y es el clima cálido, ya que es sabido que condiciones climáticas de este tipo son favorables para el desarrollo microbiano, a este respecto existen estudios en regiones de clima cálido (Sao Paulo Brasil) en donde se reportan prevalencias altas de EPEC (41).

Además, existen otros factores que deben ser tomados en cuenta tales como estado nutricional, estado inmunológico, nivel socioeconómico, el lugar de residencia de los pacientes, las estaciones del año y la duración de la diarrea (crónica o aguda) ya que al igual que el clima podrían influir en los resultados, aunque esto no podrá ser comprobado hasta que se realicen estudios en Mazatenango bajo estas condiciones.

Se puede observar que EPEC en este estudio demostró ser el segundo microorganismo enteropatógeno en importancia, como causante de diarrea infantil, superado únicamente por el grupo de *E. coli*, donde podrían estar otras variedades patológicas de *E. coli* pero que no se tipificaron en este estudio.

También se observó un grupo de muestras (32 por ciento), en el cual no se obtuvo ningún enteropatógeno, posiblemente por la incidencia de trastornos intestinales no infecciosos, tales como intolerancia a ciertos componentes alimenticios, intoxicaciones por alimentos, diarreas por trastornos de la motilidad gástrica, diarreas secretoras no infecciosas, diarreas por antibióticos y otras (43,44).

A este respecto es pertinente mencionar que la causa de cualquier diarrea es el trastorno del transporte de solutos a través de la pared intestinal (43,44). Dichas alteraciones pueden ser de tipo secretor, osmóticas y de la motilidad (43,44). De esta manera se puede observar que no siempre debe buscarse un agente infeccioso como causa de diarrea ya que existen causas fisiológicas y metabólicas, incluso existen factores no orgánicos que pueden causar alteraciones digestivas tales como el estado de ánimo y el estrés (44).

En este estudio no se evaluó la significancia de diarreas de tipo viral, porque no era el objetivo del mismo, pero, se necesitaba tener muestras libres de estos

microorganismos, antes de aceptar las muestras para la investigación se les realizó una prueba para determinación de rotavirus (virotec-rotavirus, marca Omega), encontrándose seis casos positivos. Se sabe por estudios realizados con anterioridad en Guatemala, que el Rotavirus es el agente viral más importante en muestras diarreicas (37,38,45). Sin embargo no hay que olvidar que existen otro tipo de virus asociados con diarreas tales como el Adenovirus y los Astrovirus y que en este estudio por factores económicos no se tomaron en cuenta y que pudieron haber formado parte de las muestras clasificadas como diarreas de origen no infecciosos (2,45,46).

Utilizando la prueba estadística Z de proporciones, se pudo demostrar que no existe relación en la frecuencia de *Escherichia coli* enteropatógena con respecto al sexo de los niños.

Así mismo se utilizó la prueba del test exacto de Fisher y se demostró que no hay relación entre los rangos de edades de los niños y el aislamiento de *Escherichia coli* enteropatógena.

Se utilizaron estos rangos de edad ya que entre 0-1 año los niños generalmente son alimentados con lactancia materna o con una variedad relativamente mínima de alimentos; después del año los niños aumentan su ingestión de alimentos y aparecen otros factores que pueden facilitar la infección con microorganismos enteropatógenos, tales como el caminar, mayor contacto con objetos que pudieran estar contaminados o bien agua contaminada.

Si bien EPEC ha sido tradicionalmente descrita en los dos primeros años de vida (2), en el presente trabajo de investigación se demostró parcialmente que se encuentran en niños de hasta tres años ya que se encontró un caso en dicho rango de edad.

IX. CONCLUSIONES

- La frecuencia de *Escherichia coli* enteropatógena en niños de 0 a 3 años de edad que asistieron a un laboratorio clínico privado de Mazatenango es del 19.0 por ciento.
- No se encontró asociación estadística significativa entre la edad y el aislamiento de *Escherichia coli* enteropatógena.
- No hay diferencia significativa entre el sexo y el aislamiento de *Escherichia coli* enteropatógena.

X. RECOMENDACIONES

- Tipificar de rutina las *E. coli* enteropatógenas en diarreas infantiles, para establecer los serotipos con importancia epidemiológica en el área.
- Realizar estudios epidemiológicos en el área de Mazatenango, para establecer la prevalencia de los otros tipos de *E. coli*, tomando en cuenta el tamaño de la muestras, si las diarreas producidas por *E. coli* enteropatógena son agudas o crónicas, la asociación que puede tener con otros agentes causantes de diarrea, el estado nutricional del paciente y el origen de las muestras (si el paciente es del área rural o urbana).
- Realizar estudios de frecuencia de enteropatógenos de tipo viral en el área de Mazatenango.
- Hacer llegar los resultados de estudios como el presente a las autoridades de salud del área en estudio para que puedan tomar las medidas de prevención y correcto tratamiento de las enfermedades diarreicas en base a los mismos.
- Realizar estudios en diferentes épocas del año para determinar el comportamiento de las enfermedades diarreicas y sus agentes causales durante las diferentes estaciones y así poder llevar a cabo una adecuada vigilancia epidemiológica del microorganismo en estudio.
- Realizar estudios en un mayor número de muestras de niños mayores de 2 años.

XI. REFERENCIAS

1. Giron JA, et al. Diffuse-Adhering *Escherichia coli* (DAEC) as a putative cause of diarrhea in mayan children in mexico. *J Inf Dis* 1991; 163:507-513.
2. Schaechter M., Medoff G, Eisenstein B, Guerra H. *Microbiología: Mecanismos de las enfermedades infecciosas.* 2 ed. Argentina: Editorial Médica Panamericana, 1994. 1000 p (p. 272-273,491).
3. Joklik WK., Willet HP, Amos DB, Wilfert CM. *Zinsser: Microbiología.* 20 ed. Argentina: Editorial Médica Panamericana, 1995. 1696 p (p. 736-750).
4. Bertin Y, et al. Characterization of 20K fimbria, a new adhesin of septicemic and diarrhea-associated *Escherichia coli* strains, that belongs to a family of adhesins with n-acetyl-d-glucosamine recognition. *Infect Immun* 1996; 64:332-342.
5. Tatsuo Y, et al. Characterization of a novel hemagglutinin of diarrhea-associated *Escherichia coli* that has characteristics of diffusely adhering *E. coli* and Enteroaggregative *E. coli*. *Infect Immun* 1996; 64: 3694-3702.
6. Feigin RD, Cherry JD. *Tratado de infecciones en pediatría.* 3 ed. Interamericana McGraw Hill, 1995. Volumen 1. XXX + 1337 p (p 77,676-689,731-741).
7. Behrman RE, Vaughan VC. *Nelson: Tratado de pediatría.* 13 ed. Interamericana McGraw Hill, 1987. Volumen 1. XXII + 813 p (p 640,641).
8. Krugman S, et al. *Infectious diseases of children.* 9 ed. Editorial Mosby, 1992. XV + 688 p (p 105-108).
9. Fleckenstein JM, et al. Molecular characterization of the *tia* invasion locus from enterotoxigenic *Escherichia coli*. *Infect Immun* 1996; 64: 2256-2265.

10. Hoffman WD, et al. Role of endotoxemia in cardiovascular dysfunction and lethality: virulent and nonvirulent *Escherichia coli* challenges in a canine model of septic shock. *Infect Immun* 1996; 64:406-412.
11. Kaul AK, et al. Rapid cyclic changes in density and accessibility of endometrial ligands for *Escherichia coli* dr fimbriae. *Infect Immun* 1996; 64: 611-615.
12. Rosenshine I, et al. Expression of attaching/effacing activity by enteropathogenic *Escherichia coli* depends on growth phase, temperature, and protein synthesis upon contact with epithelial cells. *Infect Immun* 1996; 64: 966-973.
13. Gómez OG, Kaper JB. A plasmid-encoded regulatory region activates chromosomal *eaeA* expression in enteropathogenic *Escherichia coli*. *Infect Immun* 1995; 63: 1767-1776.
14. Harville BA, Dreyfus L. Involvement of 5-hydroxytryptamine and prostaglandin E2 in the intestinal secretory action of *Escherichia coli* heat-stable enterotoxin b. *Infect Immun* 1995; 63: 745-750.
15. Valvatne H, et al. Identification and characterization of CS20, a new putative colonization factor of enterotoxigenic *Escherichia coli*. *Infect Immun* 1996; 64:2635-2642.
16. Yamamoto T, Echeverria P. Detection of the enteroaggregative *Escherichia coli* heat-stable enterotoxin 1 gene sequences in enterotoxigenic *E. coli* strains pathogenic for humans. *Infect Immun* 1996; 64: 1441-1445.
17. Willshaw GA, et al. Properties of vero cytotoxin-producing *Escherichia coli* of human origin of O serogroups other than O157. *J Inf Dis* 1992; 166:797-802.

18. Darnell SC, et al. Activation of shiga-like toxins by mouse and human intestinal mucus correlates with virulence of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O91:H21 isolates in orally infected streptomycin-treated mice. *Infect Immun* 1996; 64: 1569-1576.
19. McKee ML, et al. enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 requires intimin to colonize the gnotobiotic pig intestine and to adhere to hep-2 cells. *Infect Immun* 1995; 63: 3739-3744.
20. Ismaili A, et al. Signal transduction responses following adhesion of verocytotoxin-producing *Escherichia coli*. *Infect Immun* 1995; 63: 3316-3326.
21. Johnson RP, et al. Serum antibody responses of cattle following experimental infection with *Escherichia coli* O157:H7. *Infect Immun* 1996; 64: 1879-1883.
22. Baldwin TJ, et al. Phosphorylation of myosin light chain at distinct sites and its association with the cytoskeleton during enteropathogenic *Escherichia coli* infection. *Infect Immun* 1996; 64: 2368-2370.
23. Echeverria P, et al. Attaching and effacing enteropathogenic *Escherichia coli* as a cause of infantile diarrhea in Bangkok. *J Dis Inf* 1991; 164: 550-554.
24. Beutin L, et al. Molecular analysis of the plasmid-encoded hemolysin of *Escherichia coli* O157:H7 strain EDL 933. *Infect Immun* 1995; 63: 1055-1061.
25. Tanner JE, et al. Inefficient bacteriolysis of *Escherichia coli* by serum from human neonates. *J of Inf Dis* 1992; 165: 290-298.
26. Prasadarao NV, et al. Endothelial cell GlcNAc β 1-4GlcNAc epitopes for outer membrane protein enhance traversal of *Escherichia coli* across the blood-brain barrier. *Infect Immun* 1996; 64: 154-160.

27. Baldwin G, et al. Effect of polymyxin b on experimental shock from meningococcal and *Escherichia coli* endotoxins. J Inf Dis 1991; 164: 542-549.
28. Meier C, et al. Ability of *Escherichia coli* isolates that cause meningitis in newborns to invade epithelial and endothelial cells. Infect Immun 1996; 64: 2391-2399.
29. Van Loon FPL, et al. ABO blood groups and the risk of diarrhea due to enterotoxigenic *Escherichia coli*. J Inf Dis 1991; 163: 1243-1246.
30. Dubón DM. Producción de antisueros para el diagnóstico de *Escherichia coli* enteropatógena de los serogrupos más frecuentes en Guatemala. Universidad de San Carlos de Guatemala (Tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 1992. 72 p (p 5-16,49).
31. Cravioto A, et al. Inhibition of localized adhesion of enteropathogenic *Escherichia coli* to HEP-2 cells by immunoglobulin and oligosaccharide fractions of human colostrum and breast milk. J of Inf Dis 1991; 163: 1247-1255.
32. Torres MF. Manual práctico de bacteriología médica. 1 ed. Guatemala: Editorial Serviprensa C.A., 1996. 229 p (40-62).
33. Gini GA. Manual de procedimientos para la identificación de las bacterias con importancia clínica. 2 ed. Guatemala: Editorial Merck, 1995. 140 p (p 47-49).
34. Koneman EW, et al. Diagnóstico microbiológico. 3 ed. México: Editorial Médica Panamericana, 1998. 909 p (p. 204-205, 222).
35. Mendenhall W. Introducción a la probabilidad y la estadística. 5 ed. México: Grupo Editorial Iberoamérica, 1987. IX + 628 p (p. 158-159).

36. Chenal ZA. Determinación de la presencia de *Listeria monocytogenes* en camarones comercializados en la ciudad de Guatemala. Universidad de San Carlos de Guatemala (Tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 1,997. 69 p (p 37).
37. Cruz JR., et al. Etiología de diarrea aguda en infantes de áreas marginales de Guatemala. Publicación INCAP 1,986.
38. Cruz JR., et al. Agentes causales de enfermedades de transmisión feco-oral en Guatemala. Publicación INCAP, Primer Seminario Taller Nacional sobre Letrinas aboneras secas familiares, 1,987.
39. Cruz JR., et al. Epidemiología de diarrea persistente en niños del área rural de Guatemala. Publicación INCAP, Resultados de investigaciones del proyecto de terapia de rehidratación oral, monitoreo del crecimiento y educación en atención primaria de Salud, 1,992.
40. Dirección General de Servicios de Salud, División de Vigilancia y control de enfermedades. Boletín epidemiológico nacional No. 11, volumen 11. Guatemala: 1995. 87 p(p 16-17).
41. Castillo MC. Prevalencia de serogrupos "O" enteropatógenos de *Escherichia coli* en niños menores de 1 año y su asociación con diarrea endémica. Universidad de San Carlos de Guatemala (Tesis de graduación, Facultad de Ciencia Químicas y Farmacia) 1989. 63 p (p 16 -17).
42. Lewis AE. Bioestadística 1ed. Mexico: Editorial Continental, 1979. 279p (p.145-161).
43. Behrman RE, et al. Nelson: Tratado de pediatría. 15 ed. Interamericana McGraw Hill, 1997. Volumen 1. XLIX + 1461 p (p1301-1304).

44. Wyngaarden JB, et al. 19 ed. Cecil: Tratado de medicina interna. Interamericana McGraw Hill, 1994. Volumen 1. XXXIX + 1389 p(p 724).
45. Cruz JR, et al. Adenovirus types 40 and 41 and Rotaviruses associated with diarrhea in children from Guatemala. J of Cli Mic 1990; 28:1780-1784.
46. Cruz JR, et al. Astrovirus-Associated diarrhea among Guatemalan ambulatory rural children. J of Cli Mic 1992; 30:1140-1144.

Anexo No. 1
Causas de Morbilidad en el Departamento de Suchitepéquez
(Fuente: Jefatura de Area del Departamento de Suchitepéquez)

No.	Nombre	Porcentaje (%)
1	Resfrío Común	20.93
2	Parasitismo	14.64
3	Anemia	8.41
4	Bronconeumonia	7.47
5	Síndrome diarréico agudo	6.66
6	Amigdalitis	6.65
7	Amebiasis	5.18
8	Infecciones de tracto urinario	4.62
9	Conjuntivitis	3.2
10	Heridas	2.53
11	Resto de causas	19.71
Total		100.00

Anexo No. 2
Enteropatógenos aislados de muestras fecales
Colonia El Limón, Zona 18
Guatemala, 1,985-1,986 (37)

Enteropatógeno	Casos (n=179)	
	No.	%
<i>Escherichia coli</i>	49	27.4
adherente	13	7.3
adherente Enteropatógena	62	34.7
<i>Escherichia coli</i> enterotoxigénica		
lábil	8/73	11.0
estable	9	5.0
ambas	1/73	1.4
<i>Escherichia coli</i> enteropatógena	4	2.2
<i>Campylobacter</i>	15	8.4
<i>Shigella</i>	5	2.8
<i>Salmonella</i>	5	2.8
<i>Cryptosporidium</i>	18	10.0
<i>Giardia</i>	1	0.6
Rotavirus	10	5.6

Anexo No. 3
Tasa de detección de enteropatógenos
Santa María de Jesús, 1,987-1,989 (39)

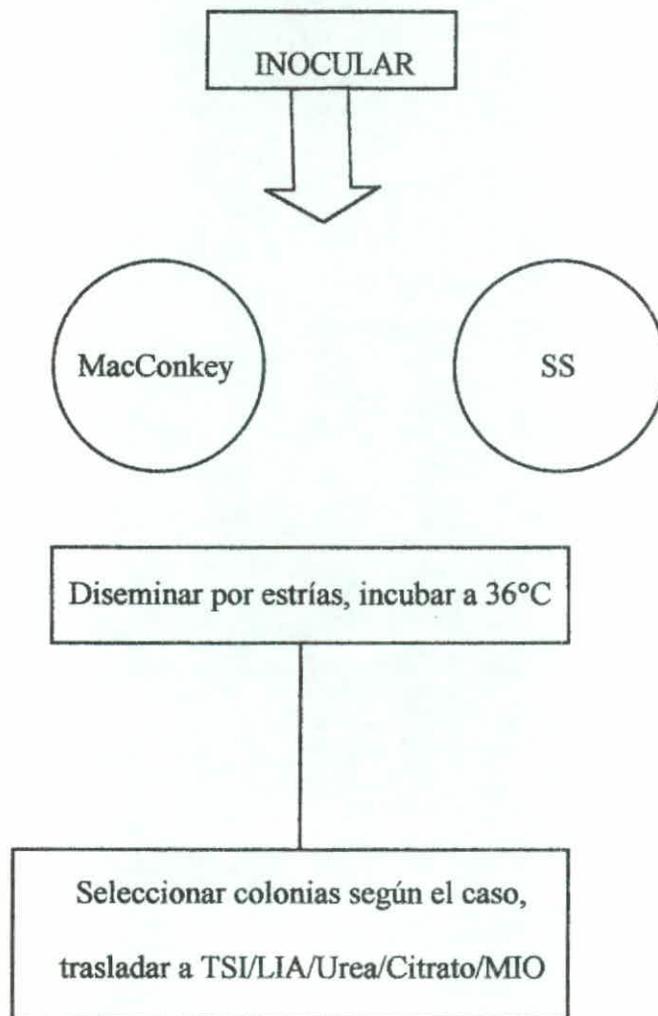
Patógeno	Diarrea	
	Aguda *	Persistente*
<i>Salmonella</i>	1.6	3.0
Adenovirus 40,41	2.4	3.3
Rotavirus	7.0	6.1
ETEC (LT + ST)	6.5	6.3
<i>Cryptosporidium</i>	2.9	7.2
EPEC	2.1	7.9
EAEC (localizada)	3.2	10.0
ETEC (LT)	11.4	10.3
Astroviruses	6.5	10.6
ETEC (ST)	9.0	11.2
EAC (autec)	4.7	12.0
<i>Shigella</i>	8.7	14.4
<i>Campylobacter jejuni</i>	10.7	18.2
<i>Giardia lamblia</i>	12.7	22.0
EAC (difusa)	12.7	28.9

*Los datos están expresados en porcentaje.

Anexo No. 4
Marcha Bacteriológica para
Coprocultivo (32)

Muestras:

Heces frescas



Anexo No. 5
Boleta de Recolección de muestras

Nombre: _____

Edad: _____

Fecha: _____

Lugar de Procedencia: _____

Tratamientos y Medicación: _____

Examen macroscópico:

Examen microscópico:

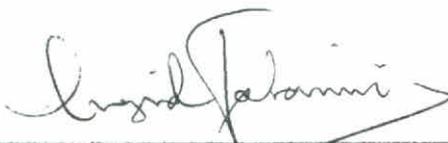
Test de Rotavirus:

Coprocultivo:

Tipificación para *Escherichia coli* enteropatógena:



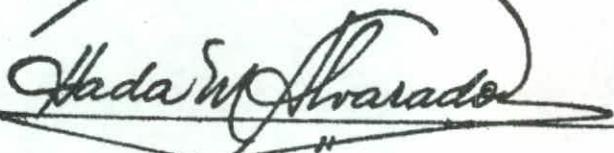
Maria de los Angeles Meneses Molina
Tesisista



Licda. Ingrid Tabarini
Asesora



Licda. Heidi Logemann
Directora



Licda. Hada Marieta Alvarado Beteta
Decana