

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA

The seal of the University of San Carlos of Guatemala is a circular emblem. It features a central figure of a man in a red and white robe, likely a saint or scholar, holding a book. Above him is a golden crown with a cross on top. To the left is a golden castle tower, and to the right is a golden lion rampant. Below the central figure is a landscape with green hills and a white path. A figure in a blue and yellow outfit is riding a white horse along the path. The entire scene is set against a light blue background. The seal is surrounded by a grey border containing the Latin text "ACADEMIA CAROLINA CONSPICUA COACTEMALENSIS INTER CETERAS CIVIBUS CONSPICUA".

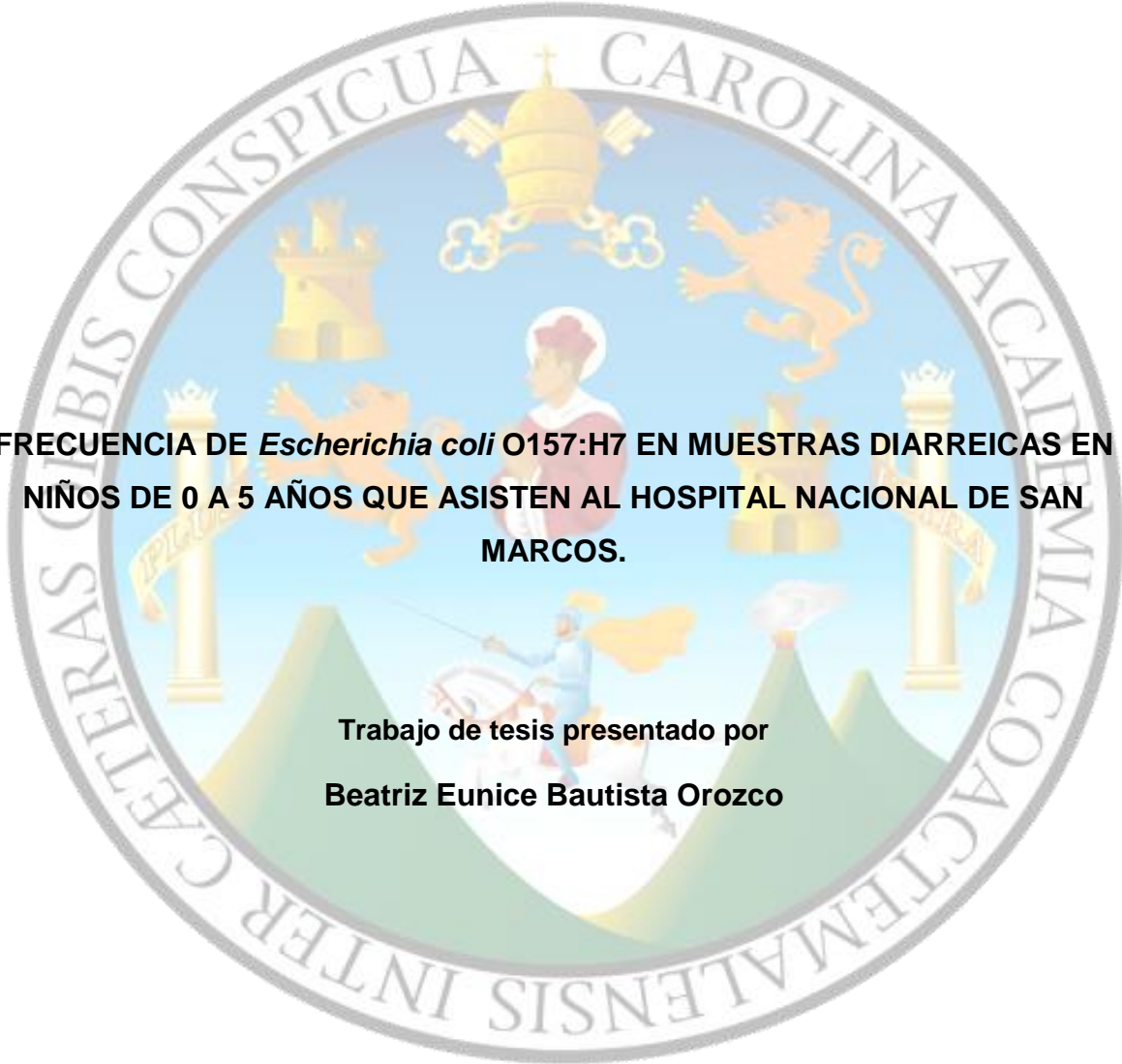
FRECUENCIA DE *Escherichia coli* O157:H7 EN MUESTRAS DIARREICAS EN NIÑOS DE 0 A 5 AÑOS QUE ASISTEN AL HOSPITAL NACIONAL DE SAN MARCOS.

Beatriz Eunice Bautista Orozco

Maestría en Microbiología de Enfermedades Infecciosas

Guatemala, marzo de 2019

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

The seal of the University of San Carlos of Guatemala is a circular emblem. It features a central figure of a man in a red and white robe, possibly a saint or scholar, holding a book. Above him is a golden crown with a cross. To the left is a golden castle tower, and to the right is a golden lion rampant. Below the central figure is a landscape with green hills and a white path. The entire scene is set against a light blue background. The seal is surrounded by a grey border containing the Latin text "LETTERAS QVIBIS CONSPICUA CAROLINA ACCADEMIA COACTEMALENSIS INTER".

FRECUENCIA DE *Escherichia coli* O157:H7 EN MUESTRAS DIARREICAS EN NIÑOS DE 0 A 5 AÑOS QUE ASISTEN AL HOSPITAL NACIONAL DE SAN MARCOS.

**Trabajo de tesis presentado por
Beatriz Eunice Bautista Orozco**

Para optar al grado de Maestra en Ciencias
Maestría en Microbiología de Enfermedades Infecciosas

Guatemala, marzo de 2019

JUNTA DIRECTIVA

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA

MA. Pablo Ernesto Oliva Soto	DECANO
Licda. Miriam Roxana Marroquín Leiva	SECRETARIA
MSc. Miriam Carolina Guzmán Quilo	VOCAL I
Dr. Juan Francisco Pérez Sabino	VOCAL II
Lic. Carlos Manuel Maldonado Aguilera	VOCAL III
BR. Byron Enrique Pérez Díaz	VOCAL IV
BR. Pamela Carolina Ortega Jiménez	VOCAL V

CONSEJO ACADÉMICO

ESCUELA DE ESTUDIOS DE POSTGRADO

Rubén Dariel Velásquez Miranda, Ph.D

María Ernestina Ardón Quezada, MSc.

Jorge Mario Gómez Castillo, MA.

Clara Aurora García González, MA.

Silvia Marisol Archila Jiménez, MSc.

DEDICATORIA

A Dios, Por haberme permitido llegar hasta este punto y lograr mis objetivos por su infinita bondad y amor.

A mis padres Armando y Cony, por el apoyo, los consejos, sus valores y la motivación constante para lograr esta meta, todo es por y para ustedes.

A mis hermanos Rebeca y Armando, ustedes me alientan en mis metas y siempre están ahí, esto también es por su ejemplo y sus ánimos.

A Lic. Martin Gil, por su gran apoyo como mi asesor de Tesis.

A la promoción MAENFI 2014-2015, por que fueron años geniales y vivencias que enriquecieron mucho y fueron personas especiales en mi vida, especialmente Margarita, Gaby y Mercy.

Todos aquellos familiares y amigos que no recordé al momento de escribir esto. Ustedes saben quiénes son.

AGRADECIMIENTOS

A mi alma mater Universidad de San Carlos de Guatemala

A mi facultad de Ciencias Químicas y Farmacia por abrirme las puertas para ser una profesional.

Al Hospital Nacional de San Marcos.

RESUMEN

Escherichia coli es una bacteria que se encuentra en el intestino de los seres humanos como parte de su microbiota normal, pero también puede causar infecciones intestinales. Se conocen más de 100 cepas, siendo una de ellas la *E. coli* O157:H7, que según estudios produce varias toxinas denominadas verotoxinas, las cuales son causantes de virulencia y pueden producir el Síndrome Hemolítico Urémico (SHU), poniendo en peligro la vida del paciente y con el transcurrir de los años ocasiona insuficiencia aguda de los riñones.

El objetivo general de la presente investigación fue determinar la frecuencia de *Escherichia coli* O157:H7 en niños de 0 a 5 años, que asistieron con presencia de diarrea sanguinolenta al Hospital Nacional de San Marcos. La investigación se efectuó en el periodo comprendido de los meses de Febrero a Agosto del año 2018. Se utilizaron los reactivos de agar McConkey-Sorbitol, antisueros para aglutinación en latex y detección de genes por medio de PCR.

La edad más frecuente de pacientes a quienes se les realizó el cultivo fueron menores de 12 meses con un total de 52.67% de pacientes estudiados. Entre los 150 pacientes, no se identificó ningún resultado positivo para cultivo de *Escherichia coli* O157:H7. El 80.54% de los pacientes recibieron lactancia materna exclusiva durante los primeros 6 meses, en su periodo de lactancia; sin embargo, la producción de IgA no pudo prevenir gastroenteritis en los casos atendidos, ello se debe a que las progenitoras no cumplían con medidas higiénicas adecuadas.

El 56.67% de los pacientes presentaron síntomas de gastroenteritis al tercer día, por lo que en algunos casos presentaban mal estado físico, a los cuales se decidió realizarles coprocultivo, posteriormente se estudió cada caso y se les realizó cultivo para descartar *Escherichia coli* O157:H7.

El motivo de consulta de los pacientes estudiados fue por vómitos de más o menos 2 ó 3 días de evolución, posteriormente otros casos consultaron por fiebre; sin embargo, fueron ingresados en algunos casos por deshidratación grado II y grado III. Se llevaron a cabo 150 cultivos para descartar *Escherichia coli* 0157:H7, de los cuales en 143 casos no creció el microorganismo, solo fueron 7 los casos donde creció el microorganismo, sin embargo, al confirmarlos por la prueba con anti-suero el resultado fue negativo.

INDICE

	DESCRIPCION	PÁGINAS
I.	INTRODUCCION	1
II.	ANTECEDENTES	2
	A. Definición	2
	B. Historia	2
	C. Morfología y características	3
	D. Ciclo evolutivo	3
	E. Epidemiología	4
	F. Patogenia y patología	5
	G. Formas de la enfermedad	7
	H. Mecanismo de acción de la toxina e Inmunología	8
	I. Diagnóstico	9
	J. Tratamiento	11
III.	JUSTIFICACIÓN	13
IV.	OBJETIVOS	14
V.	METODOLOGIA	15
VI.	RESULTADOS	20
VII.	DISCUSION DE RESULTADOS	24
VIII.	CONCLUSIONES	28
IX.	RECOMENDACIONES	29
X.	REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	30
XI.	ANEXOS	33

I. INTRODUCCION

Esta investigación se realiza para determinar la prevalencia de *Escherichia coli* O157:H7 en el Hospital Nacional de San Marcos, el cual es un patógeno que está asociado a diarreas agudas y al Síndrome Hemolítico Urémico (SHU), principalmente en niños. El estudio fue de tipo transversal en niños de 0 a 5 años, con muestras diarreicas para detectar por medio de cultivos y luego determinar el genotipo por medio de Biología Molecular.

Las muestras fueron procesadas en el Laboratorio Clínico del Hospital Nacional de San Marcos, se utilizó el medio MacConkey-Sorbitol, aglutinación en latex para serotipos y reacción en cadena de polimerasa (PCR) para la genotipificación de la muestra. En Guatemala, no se han realizado suficientes estudios de diarrea relacionada con *Escherichia coli* O157:H7, la cual, al no detectarla a tiempo en niños puede causar el Síndrome Hemolítico Urémico (SHU) con potenciales secuelas sumamente dañinas para la salud como: fallo renal, trombocitopenia y anemia hemolítica microangiopática, lo cual puede causar la muerte. En este estudio se pretende identificar esta bacteria en niños de 0 a 5 años.

En el país, los principales patógenos causantes de diarrea con sangre en Guatemala son *Shigella*, *Salmonella*, *Campylobacter* y en algunos casos por *Entamoeba histolytica*, además es importante determinar los factores de riesgo y las características que influyen para desarrollar el Síndrome Hemolítico Urémico en los niños.

II. ANTECEDENTES

A. DEFINICIÓN

Escherichia coli es una bacteria que habitualmente se encuentra en los intestinos de humanos y animales. A pesar de que la mayoría de las cepas de estas bacterias son inofensivas, aunque una en particular, conocida como *Escherichia coli* 0157:H7, produce una toxina que puede provocar una enfermedad como lo es el Síndrome Hemolítico Urémico (SHU), lo cual pone en peligro la vida del paciente y, con el transcurrir de los años, ocasiona insuficiencia aguda de los riñones. El SHU puede aparecer en cualquier parte del mundo; la frecuencia es variable de unos países a otros. Existen zonas consideradas endémicas (Argentina y Suráfrica) y zonas epidémicas o con casos esporádicos (Canadá, Francia, Inglaterra, Holanda y algunas zonas de Estados Unidos) que tienen mayor frecuencia en los meses de verano, que es relacionado con un clima cálido y muy húmedo. En España, la presentación es también esporádica con una frecuencia aproximada de 2 casos por millón y medio de habitantes (Karch & Bielaszewska, 2001).

B. HISTORIA

Se distinguen grupos de *E. coli* patógenas, según el tipo de infección que producen, están constituidos por cepas patógenas intestinales, responsables de un elevado número de infecciones. Se clasifican según sus factores de virulencia y patogénesis. Con esta clasificación, se distinguen seis grupos diferentes: *E. coli* enterotoxigénicas (ETEC), *E. coli* enteroinvasivas (EIEC), *E. coli* enteroagregativas (EAEC), *E. coli* enteropatogénicas (EPEC) y *E. coli* enterohemorrágicas (EHEC) (Anexo 1) (Alvarez, 2012).

El reconocimiento de una clase diferente dentro del grupo de *E. coli* patógenas entéricas resultó de 2 observaciones epidemiológicas claves. La primera ocurrió en 1983 durante la investigación de brotes de enfermedad intestinal caracterizados por dolor

abdominal severo y diarrea acuosa seguida por diarrea con sangre. Esta enfermedad se asoció al consumo de hamburguesas poco cocidas en restaurantes de comida rápida. En los cultivos de materias fecales de los pacientes estudiados se encontró *E. coli* O157:H7 (Mark E. Beatty, 2004).

La segunda observación fue informada en 1985, cuando se publicó la asociación de casos esporádicos de Síndrome Hemolítico Urémico con la presencia de citotoxinas libres en materias fecales y aislamiento de VTEC (*E. coli* verotóxico, productor de toxina activa sobre células Vero) de las heces de estos pacientes. Los estudios de brotes y casos esporádicos de infección mostraron que el espectro de manifestaciones clínicas incluye la infección asintomática, la diarrea líquida, la diarrea con sangre, y complicaciones graves como el SHU y la púrpura trombótica trombocitopénica (Wong, Srdian, Habeeb, Watkins, & Tarp, 2000).

C. MORFOLOGÍA Y CARACTERÍSTICAS

Son bacterias Gram negativo cilíndricas con 1,1 – 1,5 μm de diámetro por 2,0 – 6,0 μm de largo que se disponen aisladas o en parejas. Conforme a la definición general de la familia *Enterobacteriaceae* a la que pertenecen, son bacterias quimioheterótrofas facultativas teniendo los metabolismos fermentativo y respiratorio, no forman esporas, están desprovistas de oxidasa, producen catalasa y β -galactosidasa, pueden ser móviles por flagelos peritricos o inmóviles y normalmente reducen nitrato a nitrito (Mark E. Beatty, 2004).

D. CICLO EVOLUTIVO

La bacteria coloniza el intestino, y comienza a producir la toxina tipo *Shiga* (STX) que pasa a la circulación y se une a su receptor específico (globotriaosil ceramide, Gb3) presente fundamentalmente en el endotelio del glomérulo renal y el epitelio tubular, donde es internalizada y produce la muerte celular por inhibición de la síntesis proteica. Si bien la

toxina Shiga es el factor patogénico esencial para el desarrollo de la enfermedad, hay importantes evidencias de que los factores de virulencia de la bacteria que le permiten colonizar el epitelio intestinal y desencadenar una fuerte reacción inflamatoria son absolutamente necesarios, para el desarrollo de la forma completa de SHU (Mark E. Beatty, 2004).

Recientes secuenciaciones de genomas de diversas cepas de *E. coli* indican que una parte importante de su cromosoma es proveniente de bacteriófagos. Los bacteriófagos aparecen como un importante mecanismo en la evolución de *E. coli* mediante transferencia horizontal de genes, incluidos genes relacionados con virulencia. Principalmente el de los genes de la Stx, insertos en el genoma de bacteriófagos atemperados del tipo lambdaoide (fagos Stx) que lisogenizan las cepas. Se han demostrado que los fagos Stx se encuentran presentes en el medio extraintestinal, tanto en forma de partículas víricas libres como dentro de un grupo de cepas productoras de Stx y que, bajo las condiciones adecuadas, pueden infectar e integrarse en cepas no productoras de Stx y convertirlas en productoras de toxina (Mars & De, 2011).

E. EPIDEMIOLOGÍA

1. Mundial

E. coli O157:H7 puede ser aislada en todo el mundo, con una prevalencia en los meses entre junio a agosto, aumentando casos en niños menores de 3 años (Karch & Bielaszewska, 2001).

Está ampliamente distribuida en el mundo. En América del Sur el problema se concentra principalmente en Argentina; actualmente, presenta el registro más alto de SHU en todo el mundo, con aproximadamente 420 casos nuevos declarados anualmente y una incidencia de 12.2/100 000 niños menores de 5 años de edad (Boer, 2001).

En Argentina la complicación causada por *E. coli* O157:H7 el Síndrome Hemolítico Urémico es endémico 12-14 casos/100,000 niños menores de 5 años y constituye la primera causa pediátrica de insuficiencia renal aguda y la segunda de insuficiencia renal crónica, siendo además responsable del 20% de los trasplantes renales en niños y adolescentes. Se producen alrededor de 300 a 400 casos nuevos por año con un importante sub registro, acumulándose más de 7.000 casos desde 1965 hasta la fecha (March & Ratman, 1986) (Alvarez, 2012).

Desde 1986, diversos grupos han efectuado estudios prospectivos, detectándose una incidencia muy baja de *E. coli* O157:H7, inferior al 0,3% de los pacientes estudiados y correspondiendo todos los aislamientos a casos esporádicos, las cepas de *E. coli* enterohemorrágica se presentan, por tanto, con una incidencia muy escasa (Margall, 1997).

2. En Guatemala

En Guatemala *E. coli* O157:H7 es un microorganismo recién conocido, por lo tanto, en las áreas de salud no existen estadísticas que indiquen su frecuencia, prevalencia e incidencia. A nivel de coprocultivos Matheu, J. realizó en 1999 un estudio en el Hospital general del IGSS habiendo encontrado varios casos positivos en un rango poblacional de 0 a 50 años de edad (Boyce, Swerdlow, & Griffin, 1995). En la actualidad para exportar carne algunos países requieren la detección rutinaria de *E. coli* O157:H7

F. PATOGENIA Y PATOLOGÍA

Se considera como dosis infectante de *E. coli* O157:H7 un estimado menor de 100 células, en comparación con la dosis infectante de *Shigella* que es de 10; es frecuente la transmisión de persona a persona, pero los animales, especialmente los bovinos, son considerados el reservorio más importante de *E. coli* O157:H7, y el origen habitual de los brotes en el mundo. Los alimentos o subproductos animales (carne mal cocida o

manipulada, agua, leche o jugos contaminados con heces animales) son los vehículos de transmisión al ser humano más frecuentes (Wong, Srdian, Habeeb, Watkins, & Tarp, 2000).

El factor de virulencia clave para *E. coli* O157:7 es Stx, la cual es también conocido como verocitotoxina (VT). Stx consiste en cinco subunidades B idénticas que son responsables de la unión de la holotoxina a la globotriaosilceramida glicolípido (Gb3) en la superficie de la célula diana, y una sola subunidad A del ARN ribosomal que escinde, lo que produce la síntesis de proteínas. La familia Stx contiene dos subgrupos Stx1 y Stx2 que comparten aproximadamente el 55% de homología. Stx se produce en el colon y viaja por el torrente sanguíneo a los riñones, donde daña las células endoteliales renales y ocluye la microvasculatura a través de una combinación de toxicidad directa e inducción de citoquinas local y la producción de quimioquinas, lo que resulta en la inflamación renal (Updated, Escherichia, Serotypes, & Members, 2009).

La Stx también induce apoptosis en las células epiteliales intestinales, Stx se purificó primero de *Shigella dysenteriae*, y SHU también puede resultar de la infección con esta última bacteria, aunque no con otra; también media el daño local en el colon, lo que resulta en diarrea con sangre, colitis hemorrágica, necrosis y perforación intestinal. Además de Stx, la mayoría de las cepas también contienen la patogenicidad tipo LEE que codifica un sistema tipo III de secreción de proteínas y son similares efectoras a las que se producen por la *E. coli* enteropatógena (EPEC). Estas han demostrado la importancia de la adhesina intimina en la colonización intestinal y los pacientes con SHU desarrollan una fuerte respuesta de anticuerpos a la intimina LEE-que contienen las cepas de EPEC quienes adquirieron dicho factor de virulencia por codificación del bacteriófago Stx (Welinder-olsson & Kaijser, 2005).

Una adhesina potencial es una proteína grande de 362-kDa (ToxB) codificado en el 93-kb del plásmido que está presente en *E. coli* O157:H7. Este plásmido (pO157), también codifica un RTX (repeticiones en toxina) toxina que es similar a la hemolisina, una serina proteasa (PSA), una catalasa y la proteína STCE. La STCE escinde el inhibidor de la

esterasa C1 (C1-INH) de la vía del complemento y podría contribuir potencialmente al daño tisular, edema intestinal y anomalías trombóticas que se observan en las infecciones (Alvarez, 2012).

G. FORMAS DE LA ENFERMEDAD

La infección se manifiesta con diarrea, la presentación clínica más común, algunas veces va acompañada de sangre, con un periodo de incubación de 1-14 días, dolor abdominal, los vómitos pueden estar presentes y en algunos casos fiebre (Coia, 1997).

Las complicaciones de *E. coli* O157:H7 más importantes es el Síndrome Hemolítico Urémico (SHU) y la colitis hemorrágica (CH). El SHU está definido por la tríada: anemia hemolítica, trombocitopenia y falla renal aguda, precedidas habitualmente por diarrea con sangre. Es una enfermedad sobre todo infantil, que aparece como casos esporádicos o brotes. Aproximadamente el 5% de los pacientes con SHU pueden morir en la fase aguda si no es tratada a tiempo (Coia, 1997).

La colitis hemorrágica se manifiesta por dolor abdominal y diarrea acuosa seguida de diarrea con sangre que se asemeja a una hemorragia digestiva baja, que se confunde y a veces se asocia con invaginación intestinal, y que cursa generalmente sin fiebre, sin elementos inflamatorios abundantes (leucocitos fecales) y con imágenes radiológicas características (Gianantonio y col. 1973).

Los síntomas posteriores más frecuentes de las complicaciones son:

- Oliguria que puede ocurrir por la deshidratación, como consecuencia de la diarrea o porque existe una afección del riñón, lo que causa la insuficiencia.
- Palidez y anemia, dado que los glóbulos rojos atraviesan un proceso de destrucción y lisis, lo que provoca la disminución de los mismos.
- Erupción cutánea en forma de pequeños puntos rojos (petequias).

- Distensión abdominal o aumento en el perímetro abdominal (debido al agrandamiento del hígado y del bazo, debido a la insuficiencia renal).
- Coloración amarillenta de la piel y de la esclerótica (ictericia), causada por la degradación del grupo hemo de los glóbulos rojos, lo que hace aumentar la bilirrubina tornando el epitelio de color amarillo.
- Disminución del nivel de estado consciente.

H. MECANISMO DE ACCIÓN DE LA TOXINA E INMUNOLOGÍA

Las verotoxinas son una familia de citotoxinas activas sobre distintas líneas celulares están relacionadas antigénica y funcionalmente con la toxina de shiga producida por cepas de *Shigella dysenteriae*. Pertenecen a 2 grupos antigénicos diferentes: el grupo 1 incluye a las verotoxinas neutralizadas por anticuerpos anti toxina de Shiga; el grupo 2 incluye aquellas toxinas que no son neutralizadas por dicho antisuero. Al igual que otras toxinas bacterianas de naturaleza proteica, las toxinas están formadas por 2 subunidades: una subunidad A (activa) y cinco subunidades B (enlazantes) que son responsables de la unión de la toxina con su receptor funcional. Los receptores de las células eucariotas sensibles a su acción citotóxica son glicolípidos complejos como Gb3 o Gb4 (Mark E. Beatty, 2004).

Una vez unidas al receptor funcional, las verotoxinas son internalizadas por endocitosis y translocadas al citoplasma de la célula, donde la subunidad A es clivada en 2 fragmentos, A1 y A2. El fragmento A1 es transportado en sentido inverso en el aparato de Golgi y alcanza su sitio blanco que es el ribosoma. La toxina cliva un residuo adenina de la unidad ribosómica 28S, produciendo la inhibición del factor de elongación 1, que es responsable de la inhibición de la síntesis proteica en la célula blanco. Las verotoxinas son sumamente activas también sobre los ribosomas bacterianos, pero normalmente no tienen acceso a las células procariotas (Coia, 1997).

Estas citotoxinas son sintetizadas en la luz intestinal. Las toxinas, son transportadas a través de las células epiteliales del intestino, que no poseen receptores funcionales en cantidad significativa, promueven la secreción por éstas y otras células de interleucina 8 y otras citoquinas, promueven el flujo de polimorfonucleares y otros fenómenos inflamatorios, y ejercen su efecto tóxico sobre las células endoteliales de la microvasculatura intestinal y sistémica, que es rica en receptores específicos. La toxina tipo 2 y sus variantes, principales protagonistas de los casos de SHU, se fijan pobremente sobre los endotelios entéricos, pero tienen una capacidad tóxica mucho mayor que la toxina tipo 1, capacidad que se expresa a distancia sobre otros parénquimas como el renal o el neural, ricos también en receptores (Wong, Srdian, Habeeb, Watkins, & Tarp, 2000).

I. DIAGNÓSTICO

Principalmente la diarrea, el dolor abdominal y los vómitos pueden estar presentes y en algunos casos fiebre. Entre los exámenes para el diagnóstico se encuentran:

- Un examen físico puede mostrar hepatomegalia o hepatoesplenomegalia y puede haber cambios anormales en el sistema nervioso.
- Los exámenes de laboratorio mostrarán signos de anemia hemolítica e insuficiencia renal aguda (March & Ratman, 1986).

1. Identificación de la bacteria *E. coli* O157:H7

Las cepas de *Escherichia coli* O157:H7 tienen la capacidad para fermentar D-sorbitol rápidamente y su falta de actividad beta-glucuronidasa se puede observar en el aislamiento e identificación. El agar MacConkey que contiene 1% de D-sorbitol en lugar de lactosa (SMAC) es un medio útil y económico sobre el que crece *E. coli* en pequeñas colonias redondas blanco-grisáceas ya que no fermenta el sorbitol. La selectividad se mejora mediante la adición de 0,5% de ramnosa y la adición de 0,05 mg/litro de cefixima (CR-SMAC) que inhibe el crecimiento en exceso por *Proteus* sp. Una modificación alternativa es la adición de 2,5 mg/litro de telurito potásico además de la cefixima (CT-SMAC), que

tiene un mayor efecto inhibitor frente a *E. coli* no-0157 Este es el medio más usado para aislar *E. coli* 0157:H7 (Konowalchuck, 1977).

Otra alternativa para aislar *E. coli* 157:H7 no productor de β -glucuronidasa es utilizar medios que contengan glucurónidos cromogénicos o fluorogénicos. Mientras que se han hecho algunos avances para mejorar la selectividad de los medios para *E. coli* 0157:H7, las tasas de aislamiento pueden resultar afectadas negativamente por los aditivos usados. Para mitigar estos efectos, la adición de agentes de recuperación tales como 1% de piruvato sódico al agar de tripticasa soya o el retraso de la exposición de las células con estrés a agentes selectivos puede ayudar a la recuperación del organismo (Konowalchuck, 1977).

2. Serología

Antes de la identificación de factores de virulencia específicos en cepas de *Escherichia coli* diarreogénicas, el análisis serotípico ha sido la metodología predominante por la cual se pudieron diferenciar cepas patógenas. En 1944, Kauffman propuso un esquema de clasificación serológica de *E. coli*, que todavía es utilizado, aunque en forma modificada. Según el esquema modificado de Kauffman, *E. coli* son serotipados sobre la base de sus perfiles de antígenos de superficie O (somático), H (flagelar), y K (capsular). Los antígenos O definen un serogrupo y en la actualidad se han reconocido un total de 173 antígenos O diferentes. La presencia de antígenos K fue determinada originalmente por medio de pruebas de aglutinación bacteriana. Una combinación específica de antígenos O y H define el serotipo de un aislamiento (Lothigius, 2009).

3. Reacción en Cadena de Polimerasa (PCR)

Se han descrito muchos PCR para la detección de verotoxinas (VT) tipo VT1, VT2 y genes variantes de VT2, y se han comparado algunos de estos métodos de PCR tipificadores de la toxina. La presencia de los genes asociados con la producción de VT no confirma la expresión del gen y por tanto la producción de toxina. La PCR puede utilizarse sobre placas con cultivo puro o mixto. Y tiene el potencial de ser utilizada para analizar muestras en estudios epidemiológicos. La amplificación de genes diana en extractos de

ADN bacteriano de heces es menos efectiva que en cultivos puros, y se requiere una preparación cuidadosa de la muestra para mejorar su sensibilidad (March & Ratman, 1986).

También se han desarrollado sondas de ADN y ensayos de PCR para detectar otros genes que se ha demostrado que están asociados con virulencia en humanos, incluyendo *EAE* (que codifica intimina), *EHX* (que codifica la producción de enterohemolisina), *FLIC* (que codifica el antígeno H7), *RFB 0157* (que codifica LPS 0157), *UIDA* (el gen de la glucuronidasa mutante en *E. coli* 0157:H7 negativo a la beta-glucuronidasa) y *KATP* (es un gen situado sobre un gran plásmido de *E. coli* 0157:H7 que codifica una nueva catalasa peroxidasa). Se ha desarrollado una variedad de ensayos múltiples para detectar simultáneamente varios genes de diagnóstico. Estos ensayos son importantes en la caracterización de cultivos puros (Konowalchuck, 1977).

J. TRATAMIENTO

No existe una terapia específica que ha demostrado eficacia en pacientes con *E. coli* O157:H7. Los posibles tratamientos para *E. coli* O157:H7 incluyen resinas de fijación de la toxina por vía oral y antitoxina administrada por vía intravenosa (March & Ratman, 1986). Los agentes antidiarreicos están contraindicados en pacientes con diarrea con sangre. Durante la semana después de la aparición de la diarrea, los pacientes con infección documentada deben ser monitoreados para signos y síntomas del síndrome hemolítico urémico, tales como palidez y oliguria. Es prudente vigilar a los pacientes con alto riesgo para el síndrome (como niños menos de cinco años de edad) por medio de frotis periféricos, hemogramas y análisis de orina durante este período (Karch & Bielaszewska, 2001).

Fundamentalmente, tratamiento de soporte como la hidratación. El tratamiento para las complicaciones recibe transfusiones de concentrado de eritrocitos y plaquetas según se necesite. Algunas personas pueden necesitar diálisis renal. Los médicos pueden recetar medicamentos como los corticosteroides (Mark E. Beatty, 2004).

Desde hace unos años se están ensayando distintas maneras de bloquear la unión de la toxina Shiga a las células endoteliales, ya que es éste el paso inicial de una compleja cascada de eventos que conduce a la microangiopatía característica. Se han ensayado análogos de receptores por vía oral (Synsorb), para bloquear la toxina producida en el intestino. Sin embargo, no se obtuvieron los resultados esperados, aparentemente porque cuando comienza la diarrea sanguinolenta, la toxina ya ha pasado a la circulación sistémica (Zadik, P. 1993).

En la etapa crónica, si bien el 60% de los niños afectados se cura sin secuela, entre el 20 y 25% quedan con secuela de enfermedad renal que se expresa con proteinuria de intensidad variable y/o hipertensión arterial. Estos niños deben cumplir un tratamiento dietético controlado en proteínas y sal. Algunos de ellos necesitan el agregado de inhibidores de la enzima convertidora de Angiotensina (ECA) como el enalapril, para disminuir la proteinuria, controlar las cifras de tensión arterial y retardar la progresión a la insuficiencia renal crónica e incluso se aconseja por lo tanto continuar bajo control del nefrólogo pediatra por lo menos una vez por año hasta que sea dado de alta o, de acuerdo con la edad, derivado al médico de adultos (Ziebell, K. 2002)

III. JUSTIFICACION

La infección por *E. coli* O157:H7 se manifiesta con presencia de diarrea, acompañada algunas veces con presencia de sangre, con un periodo de incubación de 1 a 14 días, presentando dolor abdominal, vómitos y fiebre. La principal complicación de *E. coli* O157:H7 es el Síndrome Hemolítico Urémico (SHU), esta complicación es más frecuente en niños, donde los casos no tratados pueden llegar a la muerte (Muñoz, 2010).

La presente investigación se realizó con el objetivo de establecer la prevalencia *Escherichia coli* O157:H7 en el departamento de San Marcos, debido a la poca información que se tiene respecto a esta infección. Se estudió la etiología en las diarreas sanguinolentas en niños de 0 a 5 años en el Hospital Nacional de San Marcos.

Con este estudio se pretendió identificar *E. coli* O157:H7 en esta región del occidente del país, siendo muy importante realizar la presente investigación en esta área, por los pocos o casi nulos estudios al respecto. Según estudios efectuados en otros países, esta bacteria causa una alta mortalidad en niños.

IV. OBJETIVOS

A. General

Determinar la frecuencia de *Escherichia coli* O157:H7 en niños de 0 a 5 años que asisten con diarrea sanguinolenta al Hospital Nacional de San Marcos.

B. Específicos

1. Determinar el tipo de toxina presente en los coprocultivos positivos de *Escherichia coli* O157:H7.
2. Determinar factores de riesgo en los pacientes positivos con *Escherichia coli* O157:H7.

V. METODOLOGIA

A. Unidades de Análisis

- Niños de 0 a 5 años con muestras diarreicas, que asistieron al Hospital Nacional de San Marcos durante el periodo establecido.

- Con base a la estadística anual de enfermedades diarreicas del Hospital Nacional de San Marcos, ingresaron durante el periodo 2017 fue de 403 niños de 0 a 5 años; por lo que en la presente investigación se tomaron 150 muestras comprendidas en el periodo de Febrero a Agosto del año 2018, las muestras tomadas cumplieron con los criterios de inclusión.

1. Criterios de Inclusión

Todas las muestras diarreicas, que ingresaron con solicitud, en edades de 0 a 5 años.

B. Recursos

1. Recursos institucionales

- a. Instalaciones de laboratorio del Hospital Nacional de San Marcos.

2. Recursos físicos

a. Material de oficina

- Hojas de papel bond blancas
- Bolígrafos
- Ganchos
- Computadora
- Impresora

b. Materiales

- Bata
- Guantes de látex
- Recipientes para recolección de muestras
- Gradillas
- Recipiente para descarte de muestras
- Pinzas
- Cajas de Petri

c. Equipo

- Cabinas de seguridad biológica
- Incubadora
- Autoclave
- Hornilla
- Termociclador

d. Reactivos

- Agar MacConkey-Sorbitol
- Antisueros para aglutinación en látex
- BufferII de PCR
- dNTPs 0.2mM (dA, dC, dG, dT)
- MgCl₂ 25mM
- Taq polimerasa 0.025U/μL,
- H₂O
- Primers (Cebadores) (ver tabla siguiente)

Primer	Target gene	GenBank/acceso del EMBL por número de referencia	Secuencia del primer	Tamaño del amplicon (pb)
VT1	<i>vt1</i>	AF461172	5'-GAAGAGTCCGTGGGATTACG-3' 5'-AGCGATGCAGCTATTAATAA-3'	130
VT2	<i>vt2</i>	AY143337	5'- ACCGTTTTTCAGATTTT ^G _A CACATA- 3' 5'- TACACAGGAGCAGTTTCAGACAGT- 3'	298
Eae	<i>eaeA</i>	AE005595	5'- CACACGAATAAACTGACTAAAATG- 3' 5'- AAAAACGCTGACCCGCACCTAAAT- 3'	376

- Agarosa
- Bromuro de Etidio
- Cepa estándar conocida EHEC ATCC 43890

C. Procedimientos

1. Recepción de muestras

La recepción de muestras se llevó a cabo en la recepción del laboratorio del Hospital Nacional de San Marcos (ver anexos 2 y 3).

2. Selección y procesamiento de muestras

A cada muestra que cumpla con los criterios establecidos, se le realizó el cultivo para el diagnóstico correspondiente.

3. Procedimiento

Para las muestras ingresadas se sembraron en el agar MacConkey-Sorbitol, y se incubaron a 37 grados por 24 horas, revisando cajas posteriormente y reincubar 24 horas más si no se observó crecimiento o colonias no sospechosas.

4. Confirmación de muestras MacConkey-Sorbitol positivas

Para las muestras positivas en el cultivo se procedió a confirmar con antisueros. La evaluación e interpretación de los cultivos, la realizó el tesista.

Además de la confirmación con antisueros se procedió a realizar PCR como una segunda confirmación, para confirmar el diagnóstico.

D. Diseño de investigación

1. Diseño del estudio: Transversal.

2. Diseño del muestreo: No probabilístico.

3. Manejo de datos:

- a. Se elaboró una base de datos donde se tuvo la información del paciente por medio de un cuestionario y revisión de expediente en aquellos pacientes que presenten el Síndrome Hemolítico Urémico, el resultado del cultivo y la realización de antisueros en caso de confirmar las muestras; además del PCR.

- b. El análisis de resultados se dividió en varias partes:
- Caracterización de la muestra: análisis descriptivo de las principales características de la muestra (frecuencia de género, nivel educacional de los padres, lugar de residencia, tipo de residencia, servicios básicos, tipo de residencia).

 - Con base en el cálculo de muestra se pudo estimar la prevalencia de *E. coli* O157:H7 en la población con un intervalo de confianza del 99%.

 - Cruce de variables: Se elaboraron tablas de contingencia para cruzar los resultados (frecuencias absolutas) de positividad/negatividad a *E. coli* O157:H7, con las siguientes variables: características clínicas, complicaciones.

 - Se efectuó una prueba de Ji-cuadrado de asociación a un nivel de significancia de 0.05, para determinar si existe asociación entre las variables indicadas y la presencia de la bacteria, así como el cálculo de la razón de oportunidades de prevalencia=Odds Ratio de prevalencia con su respectivo intervalo de confianza del 95%.

VI. RESULTADOS

Se analizaron un total de 150 pacientes de 0 a 5 años del Hospital Nacional de San Marcos durante el período comprendido entre febrero a agosto durante el año 2018. De ellos, 79 (54%) fueron menos de 12 meses, mientras que en 5 cultivos (3%) estaban comprendidos en la edad de 5 años. (Tabla 1).

Tabla 1. Resultados sobre la edad de pacientes sometidos al estudio (N=150)

Edad	n	%
1 año	23	15%
2 años	17	11%
3 años	20	13%
4 años	6	4%
5 años	5	3%
Menor de 12 meses	79	54%
Total	150	100.00%

En la tabla 2, se observa si los pacientes sometidos al estudio se les brindó lactancia materna exclusiva durante los primeros 6 meses, donde 105 (81%) sí recibieron este beneficio en comparación con 45 (19%) que no lo recibieron.

Tabla 2. Pacientes a los que se les brindó lactancia materna exclusiva durante los primeros 6 meses (N=150)

Lactancia materna	Frecuencia	Porcentaje
No	45	19%
Si	105	81%
Total	150	100.00%

En la tabla 3, se observan los servicios básicos con los que cuentan los pacientes que fueron incluidos en este estudio, con agua potable 150 (100%) pacientes cuentan con el servicio; en el caso de la luz eléctrica únicamente 120 (80%) pacientes cuentan con este servicio, es importante mencionar que la mayoría de los pacientes que participaron en este estudio eran provenientes de áreas rurales, principalmente del altiplano de San Marcos, donde muchas veces son lugares que no cuentan con estos servicios.

Tabla 3. Servicios básicos que cuentan los pacientes sometidos al estudio (N=150)

Agua potable			Luz		
	Frecuencia	Porcentaje		Frecuencia	Porcentaje
Si	150	100	Si	125	80
No	0	0	No	25	20
Total	150	100	Total	150	100

Según la tabla 4, se determinó la fecha de inicio de síntomas, no importando si era dolor abdominal, vómitos o diarrea; uno o los tres síntomas en los pacientes estudiados, donde el grupo con mayor número corresponde a 3 días, 77 (57%), y el grupo con menor número de casos, 2 (1%) pacientes que consultaron con inicio de síntomas, de un total de 6 días.

Tabla 4. Fecha de inicio de síntomas de los pacientes sometidos al estudio (N=150)

Fecha de inicio de síntomas	Frecuencia	Porcentaje
1 día	2	1
2 días	35	23
3 días	77	57
4 días	25	15
5 días	4	3
6 días	2	1
Total	150	100

Los síntomas que se tomaron en cuenta para este estudio fueron vómitos, dolor abdominal y diarrea, en la tabla 5 se observa que el síntoma principal y con mayor número de casos corresponde a los vómitos 127(84%) y el síntoma menos consultado fue por dolor abdominal 87(58%).

Tabla 5. Síntomas que presentaron los pacientes sometidos al estudio (N=150)

Síntomas					
Fiebre	Frecuencia n (%)	Vómitos	Frecuencia n (%)	Dolor abdominal	Frecuencia n (%)
No	35 (24%)	No	23 (16%)	No	87 (58%)
Si	114 (76%)	Si	127 (84%)	Si	59 (42%)
Total	150 (100%)	Total	150 (100%)	Total	150 (100%)

En la tabla 6 se observan los resultados obtenidos en el laboratorio de las muestras incluidas en este estudio, donde se realizó el cultivo en agar MacConkey sorbitol a todas las muestras ingresadas, resultaron únicamente positivas al medio 7(4%) muestras; a estas muestras positivas para cultivo se procedió a realizarles el examen de antisueros, las 7 muestras dieron negativo, por lo tanto, no se realizó la prueba de PCR debido a que según protocolos establecidos, únicamente a los antisueros con resultados positivos se deben confirmar con la tercera prueba en busca de los genes que producen las toxinas.

Tabla 6. Resultados de laboratorio que se les realizaron a los pacientes (N=150)

Cultivo con agar MacConkey sorbitol		Resultado			
		anti-suero		Resultado PCR	
	Frecuencia n (%)		Frecuencia n (%)		Frecuencia n (%)
No creció	143 (96%)	No se realizó	146 (97%)	No se realizó	150 (100%)
Si creció	7 (4%)	Negativo	4 (3%)	Si se realizó	0 (0%)
Total	150 (100%)	Total	150 (100%)	Total	150 (100%)

Se realizó una comparación entre el inicio de síntomas con respecto a los cultivos con crecimiento en el agar MacConkey sorbitol (Tabla 7), donde el grupo con mayor número de pacientes, el cual corresponde al día 3, únicamente creció 1 cultivo; en comparación con el día 2 de inicio de síntomas, donde 3 cultivos presentaron crecimiento.

Tabla 7. Fecha de inicio de síntomas y resultados de los cultivos realizados a los pacientes sometidos al estudio (N=150)

Fecha de inicio de síntomas (días)	Cultivo en agar MacConkey sorbitol		Total
	No creció	Si creció	
1	2	0	2
2	32	3	35
3	84	1	85
4	23	0	23
5	4	0	4
6	1	0	1
Total	146	4	150

VII. DISCUSION DE RESULTADOS

En esta investigación se realizó un análisis, el cual estuvo conformado por una muestra universal de 150 casos de pacientes de género masculino y femenino, comprendidos entre las edades desde el nacimiento hasta 5 años, cuyos padres consultaron por dolor abdominal, fiebre o vómitos; en ocasiones son muestras que se les procesa a neonatos o pacientes pediátricos que se encuentran ingresados en el Hospital Nacional de San Marcos, por sintomatología que sugería, cuadros de infecciones intestinales de dichos pacientes pediátricos. A los pacientes seleccionados para la muestra de investigación se les realizó coprocultivo, en el cual se utilizó el medio de cultivo MacConkey sorbitol; posteriormente, se les realizó un análisis por antisueros. Si la muestra con los antisueros daba un resultado negativo el PCR no se realizaría.

A continuación se presenta que la edad más frecuente se encuentra comprendida en pacientes menores de 12 meses quienes son los que presentaron un mayor número de casos, con un total de 79 pacientes (54%), esta edad coincide con estudios realizados anteriormente en el Hospital de Seguridad Social en el área de Pediatría en la ciudad capital donde reportan que el número de pacientes, quienes acuden a consulta por dolor abdominal, fiebre o vómitos y a quienes se les realiza coproanálisis o coprocultivo, se encuentra comprendida de los 6 a 12 meses, según se indica es por gastroenteritis intestinal (Moreno, 2014)

Según las últimas actualizaciones (Casado, 2017) se menciona que la cepa *E. coli* O157:H7 es el principal causante de infección urinaria y gastroenteritis aguda en los niños. Algunas cepas como el serotipo O140 producen en los niños, igual que sucede ahora en los adultos, un cuadro grave de insuficiencia renal y destrucción de los glóbulos rojos, en consecuencia aparece bruscamente una palidez producida por anemia grave, orina escasa y oscura, decaimiento intenso y diarrea. La mayoría de estos niños al igual que los adultos requieren antibióticos, transfusión sanguínea y sustituir la función que realiza el riñón mediante técnicas de diálisis para depurar la sangre. Por lo tanto, este estudio presenta

resultados comparables con otros estudios realizados, de los cuales coincide la edad y las complicaciones que puede presentar esta bacteria, y en cuanto al género, el masculino fue el que representó mayor porcentaje entre la población incluida en el estudio que fueron 77 pacientes de la muestra para este grupo de edad.

Con respecto a la lactancia materna, en el estudio se interrogó a las madres, el grupo con mayor porcentaje fue el que sí recibió lactancia materna exclusiva durante los primeros 6 meses, con un total de 105 (81%) pacientes. Según García en 2016 indica que la leche materna es un líquido vivo, que protege al lactante contra las infecciones por su contenido en células, factores antiinflamatorios, factores específicos, antibacterianos, antivíricos, y anti protozoarios y por la naturaleza interactiva de las inmunoglobulinas IgA, la leche materna es potenciadora de la inmunidad. Es vital durante el primer año del lactante, que su madre le brinde la lactancia para luchar contra las infecciones, porque su propio sistema inmunitario no está completamente desarrollado.

La OMS recomienda dar pecho dos años o más, y los primeros 6 meses de forma exclusiva. Los efectos de la lactancia materna para la salud se prolongan años después del destete; sin embargo, a pesar de que los niños recibieron lactancia materna, la cual previene de infecciones por microorganismos, tales como virus o bacterias causantes de gastroenteritis, los cuales no se transmiten por la leche. A pesar de ésto se puede justificar que ellos están propensos a desarrollar gastroenteritis debido a que las madres no cumplen con medidas preventivas estándar (lavado de manos, uso de guantes, higiene meticulosa) y de contacto (uso de ropa para evitar contacto directo con zonas cutáneas, que puedan estar contaminadas) para prevenir la transmisión de microorganismos de madre a lactante (Lawrence 2016 p. 408-409).

La leche materna contiene IgA y otros elementos inmunológicos (Coppa 2016) frente a diversas enfermedades infecciosas, por lo que el riesgo aumenta si la madre interrumpe la lactancia. Numerosos estudios han demostrado los beneficios de la lactancia materna para prevenir la morbilidad y mortalidad por gastroenteritis y otras infecciones tanto en comunidades de países pobres y en desarrollo, como en países industrializados (Paricio 2006).

De acuerdo al perfil biofísico es importante conocer si los padres cuentan con los servicios básicos en su hogar como agua potable, luz; en el estudio se determinó que el 100% de los pacientes cuentan con agua potable, sin embargo solo el 80% cuentan con energía eléctrica, indicaron que esto es debido a que no se encuentran en el centro de su municipio, se encuentran en aldeas dentro de las montañas y que se les dificulta la instalación de energía eléctrica.

Con respecto a la fecha de inicio de síntomas, el grupo con mayor porcentaje se encuentra al tercer día, con 77 (57%) pacientes, quienes su síntoma principal fue vómitos con un total de 127 pacientes; sin embargo, 114 pacientes consultaron por fiebre, y solo 59 pacientes consultaron por dolor abdominal. En el estudio realizado por García, 2016, indicó que su síntoma principal fue por deposiciones diarreicas y vómitos, realizando el estudio comparativo donde pacientes consultaban al 1er o 2do día del inicio de síntomas. Se distinguen grupos de *E. coli* patógenas, según el tipo de infección que producen, los cuales están constituidos por cepas patógenas intestinales, responsables de un elevado número de infecciones gastrointestinales. Según esta clasificación, se distinguen seis grupos diferentes: *E. coli* enterotoxigénicas (ETEC), *E. coli* enteroinvasivas (EIEC), *E. coli* enteroagregativas (EAEC), *E. coli* enteropatógenas (EPEC) y *E. coli* enterohemorrágicas (EHEC) (Anexo 1) (Alvarez, 2012).

Las cepas de *Escherichia coli* O157:H7 tienen la capacidad para fermentar D-sorbitol rápidamente y su falta de actividad beta-glucuronidasa se puede observar en el aislamiento

e identificación. El agar MacConkey contiene 1% de D-sorbitol (SMAC) en lugar de lactosa, es un medio útil y barato sobre el que se desarrolla *E. coli* que no fermenta el sorbitol y se observa como pequeñas colonias redondas blanco-grisáceas.

De acuerdo a los estudios que se pueden llevar a cabo para detectar *E. coli* O157:H7, en el laboratorio del Hospital se realizó el cultivo en MacConkey sorbitol a todos los pacientes que presentaban la clínica de infección por el microorganismo mencionado; sin embargo, de las 150 muestras, en 143 pacientes no hubo crecimiento en el cultivo, y en 7 pacientes que si hubo, se les realizó la prueba por anti-sueros y los resultados fueron negativos; por lo tanto, la prueba de PCR no fue realizada al no contar con ningún cultivo positivo y ello determina que en San Marcos no se considera área endémica para dicha bacteria a menos que haya que realizar otro tipo de pruebas diagnósticas o de buscar métodos para evaluar a la población.

VIII. CONCLUSIONES

- De los 150 pacientes, no se identificó ningún resultado positivo para cultivo de *Escherichia Coli* O157:H7.
- La edad más frecuente de pacientes que se les realizó el cultivo, estuvo conformada por menores de 12 meses, con un total de 53% de pacientes estudiados.
- El 80.54% de los pacientes recibieron lactancia materna exclusiva, durante los primeros 6 meses, en su periodo de lactancia; sin embargo, su producción de IgA no pudo prevenir gastroenteritis en los casos atendidos, ello se debió a que las progenitoras no cumplían con medidas higiénicas adecuadas.
- El 56.67% de los pacientes presentaron síntomas de gastroenteritis al tercer día.
- Se llevaron a cabo 150 cultivos para descartar *Escherichia coli* O157:H7, de los cuales en 143 casos no creció el microorganismo, solo fueron 7 los casos donde creció el microorganismo; aunque, al realizar la prueba con anti-suero el resultado fue negativo.

IX. RECOMENDACIONES

Al Gremio de Químicos Biólogos de Guatemala

- Realizar estudios como este en otros departamentos donde no existan las medidas higiénicas en la población o donde acudan muchos pacientes por cuadros de gastroenteritis, y así descartar un área endémica.
- Realizar pruebas de PCR a todos los pacientes que consulten por cuadros de gastroenteritis de varios días de evolución, debido a que esta prueba aumenta la sensibilidad en comparación al coprocultivo.

Al Gremio de Pediatría del Hospital Nacional de San Marcos

- Brindar a las madres de familia orientación sobre medidas higiénicas al momento de brindar lactancia materna a los recién nacidos, ya que es un factor predisponente a adquirir gastroenteritis.
- Proporcionar un adecuado plan educacional a las madres acerca de la alimentación de sus niños a partir de los seis meses de edad o remitirlos al área de Nutrición.
- Al departamento de pediatría, al evaluar a los niños y si presentan un cuadro de síndrome urémico, realizarles las pruebas necesarias según protocolos, y descartar así esta patología, previamente reportar al área de laboratorio del Hospital.

X. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Akashi J, (1994). A severe outbreak of hemorrhagic colitis and haemolytic uremic syndrome associated with *E. coli* O157:H7 in Japan. *Europe Journal Pediatric*, 153(No.32), 650-655.
- Blanco J, (1993). Patogénesis, epidemiología y diagnóstico microbiológico de las infecciones producidas por el *E. coli* enterohemorrágica productores de verotoxinas. *Enfermedades en Microbiología Clínica*, 24(No.11), 325-334.
- Boer, E. (2001). Evaluation of methods for the detection and isolation of *Escherichia coli* O157 from foods and faeces. *Proceedings of European Union Concerted*, 3930-3935. Reino Unido. ASM.
- Boyce, T., Swerdlow, D., & Griffin, P. (1995). *Escherichia coli* O157:H7 and The Hemolytic-Uremic Syndrome. *The New England Journal of Medicine*, 333(No.6), 364-368.
- Chapmann P, Siddon C. (1991). An improved selective medium for the isolation of *E. coli* O157:H7 *Journal Medical Microbiology*, 35(No.9), 107-108.
- Coia, J. (1997). Clinical, microbiological and epidemiological aspects of *Escherichia coli* O157 infection. *Immunology and Medical Microbiology*, 20(No.7), 1-9.
- Gianantonio C, (1994) The Hemolytic uremic syndrome. *Journal Pediatric*, 64(No.18), 478-90.

- Karch, H., & Bielaszewska, M. (2001). Sorbitol-Fermenting Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* O157:H7 Strains: Epidemiology, Phenotypic and Molecular Characteristics, and Microbiological Diagnosis. *Journal of Clinical Microbiology*, 39(No.6), 2043-2049.
- Konowalchuck, J. (1977). Vero response to a cytotoxin of *Escherichia coli* Infections *Journal Medical Microbiology*, 18(No.3), 239-245.
- Law D. (2000). Virulence factors of *Escherichia coli* O157 and other Shiga toxin-producing *E. coli*. *Journal Microbiology*, 88(No.10), 729–745.
- March, S., & Ratman, S. (1986). Sorbitol-MacConkey Medium for Detection of *Escherichia coli* O157:H7 Associated with Hemorrhagic Colitis. *Journal of Clinical Microbiology*, 23(No.5), 869-872.
- Margall, D. (1997). *Escherichia coli* enterohemorrhagica. *Revista Española de Salud Publica*, 71(No.5), 437-443.
- Mark E. Beatty, P. (2004). Epidemic diarrhea due to Enterotoxigenic *Escherichia coli*. *Oxford Journal*, 2(No.8), 329-334.
- Meyer-broseta S., Bastian S., Arne P., Cerf O. & Sanaa M. (2001). Review of epidemiological surveys on the prevalence of contamination of healthy cattle with *Escherichia coli* serogroup O157:H7. *International Journal Environ Health*, 203(No.15), 347–361.

- Muñoz, M. (2010). *Etiología de diarrea Sanguinolienta en la población Guatemalteca que asiste a los seervicios de salud atendidos por estudiantes de EPS de la carrera de Quimica Biologica*. Guatemala: CONCYT., LABOCLIP., INCAP.
- Rodríguez-Angeles G. (2002). Principales características y diagnóstico de los grupos patógenos de *Escherichia coli*. *Revista Salud Pública de México*. 2002, 44(No.5), 464-475.
- Rowe P, (1994). Epidemic *E. coli* O157:H7. *Journal Pediatric* 21(No.6), 124-125.
- Nataro J. & Kaper J. (1998). Diarrheagenic *Escherichia coli*. *Clinical Microbiology Review*, 11(No.5), 142–201.
- Urizar E, (1991) Nuevos conceptos acerca del síndrome hemolítico urémico. *Revista Chilena Pediatrica*, 8(No.2), 61-62.
- Vernozy–Rozand C. (1997). Detection of *Escherichia coli* O157:H7 and otherverocytotoxin–producing *E. coli* (VTEC) in food. *Journal Application Microbiology*, 58(No.12), 537–551.
- Zadik P., Chapman P. & Sidonss, C. (1993). Use of tellurite for the selection of verocytotoxigenic *Escherichia coli* O157. *Journal Medical Microbiology*, 39(No.23), 155–158.
- Wong, C., Srdian, J., Habeeb, R., Watkins, S., & Tarp, P. (2000). The Risk of the Hemolytic-Uremic Syndrome After Antibiotic Treatment of *Escherichia coli* O157:H7 Infections. *The New England Journal of Medicine*, 342(No.26), 1930-1936.

XI. ANEXOS

ANEXO I

Tabla No. 1 Características sobre *Escherichia coli* patógenas y factores de virulencia

Tipo de <i>Escherichia coli</i> / Modo de acción	Principales factores de virulencia
<p>EPEC <i>Escherichia coli</i> enteropatogénica</p> <p>Se adhiere a los enterocitos del intestino delgado, destruye las microvellosidades, produce lesiones de “adherencia y borramiento”, respuesta inflamatoria, se incrementa la permeabilidad intestinal, secreción activa de iones.</p> <p>Produce:</p> <p>Diarrea acuosa sanguinolenta</p>	<p><u>Isla de patogenicidad Locus de eliminación del enterocito (LEE)</u></p> <p>-Sistema de secreción tipo III, intimina (adhesina bacteriana), Tir (Receptor de la intimina), EspA, EspB, EspD, EspF (proteínas translocadoras y efectoras).</p> <p><u>Plásmido Factor de adherencia de EPEC (EAF) de 50-70 MDa</u></p> <p>-Pili formadores de penachos ó Bundle-forming pili (BFP, de sus siglas en inglés)</p> <p>No produce toxinas</p> <p>Adherencia localizada (células HEp-2)</p> <p>Las cepas EPEC atípicas carecen del plásmido EAF</p>
<p>ETEC <i>Escherichia coli</i> enterotoxigénica</p> <p>Se adhiere a los enterocitos del intestino delgado, secreta enterotoxinas, AMPc, GMPc, estimulación de la secreción de cloro e inhibición de la absorción de sodio.</p> <p>Produce:</p> <p>Diarrea acuosa</p>	<p>Factores de colonización (CFA)</p> <p>Enterotoxinas</p> <p>-Toxina termolábil (LT, de sus siglas en inglés)</p> <p>-Toxina termoestable (ST, de sus siglas en inglés)</p>
<p>EHEC <i>Escherichia coli</i> enterohemorrágica</p> <p>Se adhiere a los enterocitos del intestino grueso,</p>	<p><u>Isla de patogenicidad Locus de eliminación del enterocito (LEE)</u></p>

destruye las microvellosidades, produce lesiones de “adherencia y borramiento”, causa apoptosis, muerte celular y respuesta inflamatoria.	- Sistema de secreción tipo III, intimina, Tir, EspA, EspB, EspD, EspF.
Produce:	<u>Plásmido pO157</u>
Diarrea acuosa sanguinolenta	-Enterohemolisina (Hly-EHEC)
La absorción sistémica de las verotoxinas puede provocar Síndrome Urémico Hemolítico, falla renal aguda, y desórdenes neurológicos.	-Serin proteasa (EspP)
	<u>Citotoxinas STX1 y STX2</u>
EIEC <i>Escherichia coli</i> enteroinvasiva	Invasividad
Invade las células epiteliales del colon, lisa los fagosomas, se multiplica, se mueve a través de las células, migra a las células adyacentes, y causa colitis invasiva inflamatoria.	Plásmido de invasión (pINV) del cual es parte el gen <i>ial</i>
Produce:	-IpA, IpB, IpC, IpD (Proteínas que participan en la invasividad)
Diarrea acuosa sanguinolenta	-IscA
EAEC/EaggEC <i>Escherichia coli</i> enteroagregativa.	Adherencia agregativa (células HEp-2)
Se adhiere al epitelio del intestino delgado y grueso en un biofilm “denso“, causa incremento en la producción de mucus, produce enterotoxinas secretorias y citotoxinas.	Fimbrias de adherencia agregativa (AAFs I y II)
Produce:	Flagelina EAEC
Diarrea acuosa mucoide (puede ser persistente)	Toxinas (Pic, ShET1, EAST, Pet)
	Proteína de membrana externa (OMP)

(Rodriguez-Angeles, 2002)

ANEXO II

Ficha de recolección de datos

Consentimiento Informado



Universidad de San Carlos de Guatemala
Facultad e Ciencias Químicas y Farmacia
Escuela de Estudios de Postgrado
Ficha Epidemiológica

Código: _____

Frecuencia de *Escherichia coli* O157:H7 en muestras diarreicas en niños de 0 a 5 años que asisten al Hospital Nacional de San Marcos

1. Datos Generales

Nombre: _____ Apellido: _____

Edad: _____ Género: F M

Lugar de residencia: _____

2. Datos epidemiológicos

¿Tuvo lactancia materna exclusiva los primeros 6 meses? SI NO

¿Con que servicios básicos cuenta?

Agua potable: _____

Luz eléctrica: _____

Fecha de inicio de síntomas: _____

¿Qué síntomas presentó?

Fiebre: _____

Vómitos: _____

Dolor Abdominal: _____

3. Datos de laboratorio

Resultados de cultivo con McConkey-Sorbitol: _____

Resultados de antisueros: _____

Resultado confirmatorio por PCR: _____



ANEXO III

Universidad San Carlos de Guatemala
Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia
Escuela de Estudios de Postgrado

Consentimiento Verbal

Este es un consentimiento de manera verbal, en el cual se procederá a explicar en qué consiste en estudio realizado en el Hospital Nacional de San Marcos “Dr. Moisés Villagrán” en niños de 0 a 5 años de edad.

El objetivo de este estudio es poder determinar la frecuencia de *Escherichia coli* 0157:h7 en muestras diarreicas en niños de 0 a 5 años que asisten al Hospital Nacional de San Marcos, donde únicamente a la muestra proporcionada por su hijo se le realizará además de un coproanálisis (un cultivo el cual pretende identificar las principales bacterias causantes de diarreas agudas). Este estudio no es invasivo, simplemente se realizará un estudio más a su hijo donde no representa ningún riesgo o peligro.

En el caso de encontrarse resultados positivos en las muestras será comunicado el resultado al médico para que pueda darle el tratamiento correcto a su hijo, para lo que se le solicita su autorización para poder realizarlo; de caso contrario no se trabajara para la identificación de la bacteria únicamente lo que el medico solicita.

Sí

No

Si su respuesta fue si usted puede retirarse del estudio cuando usted desee, sobre cualquier duda o información acerca del estudio puede comunicarse a **Beatriz Bautista 50570849**