



UNIVERSIDAD PERUANA
CAYETANO HEREDIA
FACULTAD DE MEDICINA

**TESIS PARA OPTAR POR EL TÍTULO
PROFESIONAL DE LICENCIADO EN TECNOLOGÍA
MÉDICA EN LA ESPECIALIDAD DE
LABORATORIO CLÍNICO**

TÍTULO:

SUSCEPTIBILIDAD ANTIMICROBIANA DE CEPAS *ESCHERICHIA COLI* O157:H7 Y *ESCHERICHIA COLI* ENTEROPATÓGENA AISLADAS EN NIÑOS MENORES DE CINCO AÑOS CON DIARRREA
ANTIMICROBIAL SUSCEPTIBILITY OF ESCHERICHIA COLI O157: H7 AND ENTEROPATHOGENIC ESCHERICHIA COLI STRAINS ISOLATED IN CHILDREN UNDER FIVE WITH DIARRHEA

ALUMNO(S):

GIANINA NORKA HILARIÓN ÑAUPARI

ASESOR(ES):

DELIA MARGOT FAUSTINO ARIAS

JOSÉ LUIS ROJAS VILCA

MARITZA MERCEDES CALDERÓN SANCHEZ

LIMA - PERU

2020

JURADOS.

Coordinador: Dr. Jesús Tamariz Ortiz

Profesor calificador: Mg. Steev Loyola Sosa

Profesor calificador: Msc. Fulton Rivera Albinagorta

ASESORES DE TESIS.

Lic. Delia Margot Faustino Arias

Dr. José Luis Rojas Vilca

Dra. Maritza Mercedes Calderón Sánchez

DEDICATORIA

A mis padres, por su motivación constante y porque siempre me apoyaron incondicionalmente en el transcurso de mi carrera; muchos de mis logros, como este, se los debo a ustedes.

AGRADECIMIENTOS

A Dios por haberme acompañado y guiado a lo largo de mi carrera.

A mis maestros de la Universidad Peruana Cayetano Heredia por sus enseñanzas y consejos para desarrollarme profesionalmente.

A cada una de las personas que me apoyaron e hicieron posible que este trabajo se realice.

FUENTE DE FINANCIAMIENTO

La presente investigación fue financiada por el fondo de la Universidad Peruana Cayetano Heredia otorgado por la beca de estímulo Fernando Porturas.

DECLARACIÓN DEL AUTOR

El autor de esta investigación declara no tener ningún conflicto de interés con respecto a los resultados obtenidos.

TABLA DE CONTENIDO

	Página
Resumen	
1. Introducción	1
2. Materiales y métodos	6
3. Resultados	9
4. Discusión	10
5. Conclusiones y recomendaciones	14
6. Referencia Bibliográficas	16
7. Tablas, gráficos y figuras	23
8. Anexos	25

RESUMEN

La identificación y determinación de la susceptibilidad antimicrobiana de un patógeno son útiles para un buen tratamiento clínico, evitando la resistencia a los antimicrobianos que es un problema de interés en salud pública. El objetivo del estudio fue determinar la susceptibilidad antimicrobiana de cepas *E. coli* enteropatógena y *E. coli* O157:H7, en niños menores de cinco años con diarrea del Instituto Nacional de Salud del Niño de Breña. **Material y métodos:** Estudio descriptivo, observacional y transversal. Se estudiaron 144 cepas de bacterias fermentadoras de lactosa aisladas en el periodo entre enero y abril del 2016. La susceptibilidad antimicrobiana se realizó por método de disco de difusión y se consideró 13 antibióticos. **Resultados:** Se identificó 81% (116/144) *Escherichia coli* y según las variables del estudio se identificó 14% (16/116) *E. coli* enteropatógena (EPEC) y ninguna *E. coli* O157:H7. En el análisis de la susceptibilidad antimicrobiana de las cepas EPEC, resaltó la resistencia del 88% (14/16) a ampicilina, 50% (8/16) a sulfametoxazol/trimetoprim y 50% (8/16) a ácido nalidíxico; la sensibilidad del 100% (16/16) a imipenem y 94% (15/16) a ceftazidima, ciprofloxacina, aztreonam, gentamicina y amikacina. **Conclusiones:** Las cepas EPEC fueron en mayor porcentaje resistentes a la ampicilina y sulfametoxazol/ trimetoprim, antimicrobianos de automedicación en poblaciones marginales. El 94% (15/16) de cepas EPEC mostraron sensibilidad a la ciprofloxacina; antimicrobiano que se usa en el tratamiento de la enfermedad diarreica aguda causada por bacterias. **Palabras claves:** *Escherichia coli* enteropatógena, *E. coli* O157, antimicrobianos, diarrea aguda, niño (DeCS).

SUMMARY

The identification and determination of the antimicrobial susceptibility of a pathogen are useful for a good clinical treatment, avoiding resistance to antimicrobials which is a problem of interest in public health. The objective of the study was to determine the antimicrobial susceptibility of *E. coli* enteropathogenic and *E. coli* O157: H7 strains, in children under five with diarrhea from the National Institute of Child Health of Breña. **Material and methods:** Descriptive, observational and cross-sectional study. 144 strains of lactose fermenting bacteria isolated in the period between January and April 2016 were studied. Antimicrobial susceptibility was performed by diffusion disk method and 13 antibiotics were considered. **Results:** 81% (116/144) *Escherichia coli* was identified and according to the study variables, 14% (16/116) enteropathogenic *E. coli* (EPEC) and none *E. coli* O157: H7 were identified. In the analysis of the antimicrobial susceptibility of the EPEC strains, the resistance of 88% (14/16) to ampicillin, 50% (8/16) to sulfamethoxazole / trimethoprim and 50% (8/16) to nalidixic acid was highlighted; 100% (16/16) sensitivity to imipenem and 94% (15/16) to ceftazidime, ciprofloxacin, aztreonam, gentamicin, and amikacin. **Conclusions:** EPEC strains were more resistant to ampicillin and sulfamethoxazole / trimethoprim, self-medication antimicrobials in marginal populations. 94% (15/16) of EPEC strains showed sensitivity to ciprofloxacin; antimicrobial that is used in the treatment of acute diarrheal disease caused by bacteria.

Key words: Enteropathogenic *Escherichia coli*, *E. coli* O157, antimicrobials, acute diarrhea and child (DeCS).

INTRODUCCION

La identificación del agente patógeno y la susceptibilidad antimicrobiana de este, son útiles para un buen tratamiento clínico, evitando de esta manera la resistencia a los antimicrobianos que es un problema actual en salud pública.

La Enfermedad Diarreica Aguda (EDA) debe ser tratada de manera urgente y por tal motivo se maneja mediante un protocolo, donde el tratamiento de primera opción es la rehidratación oral y solo en caso de complicaciones por un patógeno bacteriano, se recomienda una terapia antimicrobiana. La EDA es la segunda causa de muerte en niños menores de cinco años y se reporta generalmente en países en vías de desarrollo, siendo *Escherichia coli* diarrogénica (ECD) el segundo patógeno más frecuente después del rotavirus (1,2). El Ministerio de Salud del Perú informó que la incidencia acumulada de las enfermedades diarreicas fue del 12% en el 2019 (3). En niños la EDA se debe tratar inmediatamente de lo contrario podría ocasionar deshidratación severa privándolos de nutrientes importantes para su crecimiento y el riesgo de infecciones posteriores (1,4).

La *Escherichia coli* (*E.coli*) es parte de la biota intestinal pero hay un grupo que causa enfermedad diarreica aguda y son denominadas *E. coli* diarreogénicas, estas son: *E. coli* enterotoxigénica (ETEC), *E. coli* enteroinvasiva (EIEC), *E. coli* productora de shiga toxina (STEC), *E. coli* enteroagregativa (EAEC), *E. coli* enteropatogénica (EPEC) y *E coli* difusamente adherente (DAEC); clasificados de acuerdo al mecanismo de virulencia, los síndromes clínicos, epidemiología y antígenos O, H (5). Las STEC tienen un amplio rango de serotipos pero la *E.coli*

O157:H7 es el serotipo con alta virulencia, causante del Síndrome Urémico Hemolítico, anemia hemolítica y la insuficiencia renal (6).

Sobre la patogenicidad de la *E. coli* O157:H7 está relacionada con la producción de potentes toxinas capaces de causar daño a las células endoteliales del tejido intestinal humano, este patógeno se presenta en todas las edades, aunque los cuadros más graves se presentan en niños porque pueden causar diarreas sanguinolentas y su baja dosis infectante le permite ocasionar daño sin necesidad de multiplicarse.

La patogenicidad de las EPEC se caracteriza por una acción invasora en dos fases; inicia con la acción de sus adhesinas hacia sus receptores celulares y la fase de adherencia en el enterocito que produce la destrucción de sus microvellosidades, pérdida de la capacidad de absorción y acumulación de solutos a nivel del lumen intestinal, mecanismo denominado fenotipo de adherencia y borramiento (7,8).

Los métodos usados para la identificación de las *E. coli* diarrogénicas son; serología (serotipos), cultivo celular (patrones de adherencia), ensayo por Inmunoabsorción Ligado a Enzimas (toxinas) y métodos moleculares (genes de virulencia), este último permite cuantificar regiones específicas de ADN; diversos autores como Zhou *et al.* (9), Ochoa *et al.* (10) y Guión *et al.* (11) emplean este método de identificación para sus investigaciones. La prueba serológica para identificar los patotipos de *E. coli* usa la técnica de aglutinación y sirve para diferenciar los tipos de *E. coli* diarrogénicas según los antígenos que presenta; esta prueba detecta antígenos de virulencia de *E. coli* pero la desventaja es que no todos son específicos para un determinado patotipo. Es usada solamente como prueba presuntiva y en

caso de diagnóstico se debe acompañar de pruebas confirmatorias (12).

Los mecanismos de resistencia de las *E. coli* son por mutaciones cromosómicas o transferencia horizontal de material genético, este último a través de plásmidos, integrones y transposones; dentro de las bacterias con enzimas betalactamasas de espectro extendido, las *E. coli* son de mayor frecuencia y han ido en aumento en los últimos años (13-15). La resistencia antimicrobiana en las *E. coli* es principalmente controlada por la expresión de la proteína Mar A que incluye resistencia a fluoroquinolonas, betalactámicos, cloranfenicol, tetraciclina y ácido nalidíxico (16).

La prueba de susceptibilidad antimicrobiana se puede aplicar por métodos fenotípicos y genotípicos; entre los métodos fenotípicos se usa la Técnica de Difusión en Disco, técnica que se basa en interpretar la actividad de antimicrobianos, que son presentados a cierta concentración en disco de papel, frente a un agente microbiano que es diseminado en la superficie de un medio de cultivo, previo tiempo de incubación, se medirá los halos de inhibición formados y se reportará como Sensible (S), Intermedio (I) y Resistente (R) en cada antibiótico, según normas internacionales vigentes por entidades certificadas, Es un método que encuentra su validez al realizarlo por un proceso estandarizado (17).

Los estudios sobre prevalencia de EPEC en países en vías de desarrollo realizados en Asia y África, reportaron porcentajes desde 7% hasta 70% (9, 18, 19). Estudios en países latinos como México, Venezuela, Argentina y Perú reportaron entre 5% hasta 40% EPEC (10, 12, 20-24). Con respecto al serotipo *E. coli* O157:H7, este es

frecuente en climas cálidos y también por exposición a animales infectados (7); un estudio en Etiopia (2012) reportaron un 29% (59/204) de *E. coli* O157:H7 en niños menores de cinco años con diarrea (19). Un estudio sobre prevalencia de patotipos realizado en Perú entre 1986 a 2008, con muestras diarreicas de niños, reportaron una prevalencia de 0,8% STEC y 8,5% EPEC (10).

Sobre la susceptibilidad antimicrobiana, diversos estudios abordan el problema de la resistencia bacteriana, pero en pacientes con EDA hay pocos estudios sobre la terapia con antimicrobianos, porque este no es usado como primera opción (13,25); en el Perú se aplica antimicrobianos como segunda opción en este tipo de pacientes y se usa la ciprofloxacina. Sobre EPEC; estudios en China (2018), Etiopia (2015) y en la India (2014) reportaron alta resistencia a ampicilina, sulfametoxazol /trimetoprim, ácido nalidíxico y tetraciclina (18,19,26); en Perú y otros países latinoamericanos también encontraron alta frecuencia de EPEC resistentes a ampicilina, sulfametoxazol/ trimetoprim, ácido nalidíxico y tetraciclina (10, 20, 21,24). En un estudio de vigilancia de la diarrea en lactantes comparado con un grupo control sin diarrea, realizado en Perú; reportaron que la resistencia de las *E. coli* diarrogénicas a la ampicilina y el cotrimoxazol (sulfametoxazol/ trimetoprim) fue más frecuente en pacientes con diarrea comparado con el grupo control (24).

Actualmente uno de los principales problemas en microbiología clínica es el auge de la resistencia a los antimicrobianos, siendo una de sus causas de esta resistencia el tratamiento no específico. Teniendo en cuenta que en casos de Enfermedad Diarreica Aguda causada por bacterias, se aplica un tratamiento antimicrobiano empírico como segunda opción y que los niños son la población vulnerable expuesta

a generar una resistencia antimicrobiana precoz; por tales motivos nos interesó determinar la susceptibilidad a los antimicrobianos en dos cepas de *E.coli* diarrogénicas, aisladas de una población infantil que asiste a un hospital de Salud de Lima, Perú. Los resultados del estudio aportarán en la vigilancia de la susceptibilidad antimicrobiana de la *E. coli* enteropatogénica, en niños menores de cinco años de nuestro país. El objetivo del estudio fue determinar la susceptibilidad antimicrobiana de *E. coli* enteropatogénica y *E. coli* O157:H7 en niños menores de cinco años con diarrea.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

2.1 Tipo de Estudio.

Estudio observacional, descriptivo y de corte transversal.

2.2 Población y tamaño muestral.

Las cepas utilizadas para este trabajo fueron tomadas de un estudio previo titulado “Determinación de las variantes genéticas de norovirus en niños menores de 5 años con y sin diarrea del Instituto Nacional de Salud del Niño (INSN) de Breña”. Dichas cepas fueron recuperadas a partir de heces de pacientes con cuadro diarreico que acudieron al centro de salud. El tamaño muestral fue de 144 cepas de bacterias fermentadoras de lactosa (BFL) aisladas en el periodo de enero a abril del 2016.

2.3 Procedimiento.

Para determinar la susceptibilidad antimicrobiana se realizó mediante la técnica Difusión en Disco según Kirby-Bauer luego de identificar a los patotipos en estudio (Anexo 1).

2.3.1 Identificación de *Escherichia coli*.

Primero, se reactivaron las cepas en caldo enriquecido tripticasa de soya e incubadas por 24 horas a 37°C, al día siguiente se sembró en agar selectivo Mac Conkey por técnica de agotamiento para verificar la pureza de las cepas. Luego se identificaron género y especie mediante el uso de sustratos lisina, citrato, glucosa, lactosa, sacarosa, ácido sulfúrico y triptófano, usando medios de cultivo diferenciales de la marca OXOID ®. Se interpretó según el fundamento de pruebas bioquímicas para

Enterobacteriaceae (27) y se conservó en agar tripticasa soya para las pruebas posteriores.

2.3.2 Detección de *Escherichia coli* O157:H7 y EPEC.

Estos patotipos fueron identificados mediante método serológico por técnica de aglutinación en lámina; según los procedimientos establecidos por el fabricante de la marca PROBAC ®.

Para la identificación de EPEC se utilizó anticuerpos contra antígenos O polivalentes: A (O26, O55, O111, O119), B (O114, O125, O142, O158) y C (O86, O126, O127, O128) (PROBAC ®); Se procedió según indicaciones del inserto; inicialmente a cada *E. coli* se probó con los dos sueros A y B, si no produjo aglutinación con estos dos primeros, se probó con el polivalente C. Para la identificación de *E. coli* O157: H7 se utilizó antisueros monovalentes O157 y H7 (PROBAC ®) (20,28); se trabajó con una suspensión de *E. coli* a escala 2 Mc Farland. Para la interpretación de los resultados se consideró positivo cuando se observó grumos macroscópicos dentro de los dos minutos. Se usaron como controles positivos, una cepa de *E.coli* O157:H7 y una cepa EPEC, ambos identificados por método Reacción en Cadena de la Polimerasa y como control negativo una cepa de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

2.3.4 Determinación de la susceptibilidad antimicrobiana.

La prueba de susceptibilidad se realizó mediante la técnica Difusión en Disco según Kirby-Bauer, siguiendo los lineamientos y procedimientos estándares del *Clinical Laboratory Standar Institute* (CLSI).

A partir de un cultivo fresco de la bacteria, se realizó una suspensión a escala 0,5

Mc Farland, que fue sembrada por técnica de diseminación en agar Mueller Hinton para luego colocar los antimicrobianos de interés e incubar por 24 horas a 37°C. Al día siguiente se realizó la lectura de los halos de inhibición formados, usando una regla y una iluminación en la parte posterior de la placa sobre un fondo negro. Para el reporte de las lecturas se consideró como Sensible (S), Intermedio (I) y Resistente (R); interpretados de acuerdo a las normas del CLSI-M100.2016 (29). Los antibióticos en estudio fueron: Penicilinas (ampicilina 10 ug, amoxicilina /ácido clavulánico 20/10 ug), Cefalosporinas (cefotaxima 30 ug., ceftazidima 10 ug., cefepime 30 ug.), Monobactámico (aztreonam 30 ug), Carbapenem (imipenem 10 ug), Quinolonas (ácido nalidíxico 30 ug., ciprofloxacina 5 ug), Aminoglucósidos (gentamicina 10 ug., amikacina 10 ug), cloranfenicol 30 ug y trimetoprim-sulfametoxazol 1.25/23.75 ug; (OXOID ®). Para el control de calidad del antibiograma se utilizó la *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 y *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 (29). Se consideró como cepa multirresistente a aquella que mostró resistencia al menos a tres o más familias o grupo de antimicrobianos, no relacionados entre ellos.

2.4 Consideraciones éticas.

El estudio tuvo la aprobación del Comité de ética de la Universidad Peruana Cayetano Heredia. Las muestras que fueron recolectadas por el estudio previo, fue aprobada por el comité de ética del Instituto Nacional de Salud del Niño - Breña.

2.5 Análisis de datos.

Se usó estadística descriptiva, los resultados de las variables cualitativas se expresaron en frecuencia y porcentaje, procesados en una hoja de cálculo en Excel 2010.

3. RESULTADOS

Se evaluaron 144 cepas de bacterias fermentadoras de lactosa, identificándose como *Escherichia coli* 81% (116/144), *Klebsiella spp.* 6% (9/144), *Citrobacter spp.* 8%(11/144) y *Enterobacter spp.* 5% (8/144).

El mayor porcentaje de cepas pertenecían a pacientes de 12 a 23 meses de edad. En la identificación serológica de los patotipos en estudio; de las *E. coli* identificadas, el 14%(16/116) fueron *E. coli* enteropatogénica (EPEC) y ninguna se identificó como *E. coli* O157:H7 (Tabla 1).

La susceptibilidad antimicrobiana de las EPEC se describe en la Tabla 2. Resalta la frecuencia de cepas EPEC resistentes a ampicilina 88% (14/16), ácido nalidíxico 50% (8/16), sulfametoxazol/ trimetoprim 50% (8/16); los porcentajes de valor Intermedio a ácido nalidíxico 19% (3/16) y cefotaxima 13% (2/16). La sensibilidad a Imipenem 100% (16/16), ceftazidima, cefepime, aztreonam, gentamicina, amikacina y ciprofloxacina con 94% (15/16) en cada uno. Se encontró 13% (2/16) de EPEC multirresistentes; a ampicilina, sulfametoxazol/ trimetoprim y ácido nalidíxico.

4. DISCUSION

La susceptibilidad antimicrobiana es una prueba *in vitro* importante en el laboratorio clínico porque es útil para manejar los procesos infecciosos de los pacientes y detectar alguna resistencia antimicrobiana; adquiere una mayor importancia en los grupos bacterianos que no tienen una sensibilidad predecible como son los miembros de la familia *Enterobacteriaceae*; teniendo a la *Escherichia coli* como un representante.

Sobre los valores intermedios, según estudios anteriores, no tiene en cuenta este valor en la prueba de susceptibilidad antimicrobiana, porque los clínicos de manera general consideran al valor intermedio como resistente; solo lo usan en caso de no existir otras opciones empleando la dosis máxima permisible, aunque hay excepciones como las infecciones urinarias donde los valores intermedios pueden considerarse como sensibles (30); por tal motivo los resultados de valores intermedios en nuestro estudio no son discutidos.

El 14% (16/116) de EPEC reportados, se compara con estudios de similar población en países en vías de desarrollo de las diferentes regiones del mundo como los estudios en Asia Oriental; estudio de Shimu *et al.* (India 2014) que reportaron 7%(20/272) EPEC (26), Bouzari *et al.* (Irán 2018) que reportaron 25% (13/52) EPEC (31). En África; un estudio de Adugna *et al.* (Etiopia 2015) reportaron 71% (145/204) EPEC (19). En el estudio de Etiopia, la alta frecuencia de EPEC lo adujeron a las características de la población, lo relacionaron con la falta de higiene en los alimentos y la deficiencia de servicios sanitarios; considerándose de alto

riesgo para contraer enfermedades infecciosas. Estudios en América; Chávez B *et al.* en México (2012) reportaron 32% (19/58) EPEC (20), Michelli E *et al.* en Venezuela (2016) reportaron 28% (54/192) EPEC (21), Canata *et al.* en Argentina (2016) reportaron 2% (2/94) EPEC (22); estos estudios en comparación con el nuestro, usaron pruebas moleculares. En Perú; Lluque *et al.* (2010) reportaron 13% (15/113) EPEC (12) y Roque M. (2017) reportó 51% (36/70) EPEC (32). En estos estudios hubo mayor frecuencia de EPEC en niños menores de dos años, este es el rango de edad conocido como el periodo de gateo y con mayor exposición al suelo, también tener en cuenta el desarrollo inmaduro de su sistema inmunológico de esta población vulnerable (19, 24).

En el estudio no encontramos *E. coli* O157: H7, este resultado negativo difiere con otras investigaciones de poblaciones similares; en Argentina, Canata *et al.* (2016) reportaron 4% (4/94) (22), en Etiopia, Adugna *et al.* (2015) reportaron 29% (59/204) (19) y Sebastián *et al.* (2018) reportaron 71% (55/77) (33), dichos estudios; emplearon método de reacción en cadena de la polimerasa, prueba serológica y electroforesis de campo pulsado respectivamente para la identificación. En el estudio de Adugna *et al.*, el 29% lo atribuyeron al consumo de agua y alimentos contaminados con *E. coli* O157:H7 y el estudio de Sebastián *et al.*, lo asumieron a la población, que eran niños con Síndrome urémico hemolítico.

Sobre la susceptibilidad antimicrobiana; nuestros resultados de EPEC resistentes a ampicilina y sulfametoxazol/trimetoprim (cotrimoxazol) (88% y 50% respectivamente) se compara con estudios de poblaciones similares; el estudio en India reportó 100% y 95% (26), el estudio en Etiopia 87% y 76% EPEC resistentes

a ampicilina y cotrimoxazol respectivamente; estos altos porcentajes lo atribuyeron a la automedicación porque estos antibióticos son más económicos y están más accesibles en estas poblaciones de zonas marginales (18,19). La ampicilina que actúa como inhibidor de la síntesis de la pared celular bacteriana y el cotrimoxazol que inhibe las enzimas de la síntesis del ácido fólico bacteriano en las *Enterobacteriaceae*, actualmente están siendo capaces de desarrollar mecanismos de resistencia a estos antibióticos, especialmente en la *E. coli* (13,34). El estudio de Ochoa T, *et al* sobre susceptibilidad antimicrobiana en niños lactantes con diarrea y sin diarrea realizado en comunidades de bajo nivel socioeconómico, también reportaron alta resistencia a ampicilina y cotrimoxazol en ambos grupos afirmando que existía una tendencia a la automedicación frente a infecciones como resfrío común, broncoespasmo, faringitis y diarrea acuosa; esto por falta de conocimiento de la resistencia a los antimicrobianos y por ser medicamentos económicos (24,35-37). Y como es de conocimiento en casos de pacientes hospitalizados por largo tiempo hay mayor tendencia a la resistencia bacteriana ya que están expuestos a antimicrobianos de amplio espectro y con alta toxicidad (9).

En la actualidad la ciprofloxacina por su amplio espectro de actividad, es la terapia alternativa en los protocolos para pacientes con enfermedad diarreica aguda en varios países (34). El 6% (1/16) de cepas resistentes hallado en el estudio se compara con el estudio de Etiopia que reportó 16% (23/145) (19), el de Irán que reportó 30% (4/13) (31) y el de China que reportó 42% (9/21) (9). En este último estudio, Zhou Y, *et al* reportaron que hubo resistencia a múltiples antibióticos incluyendo la ciprofloxacina y consideraron que no era adecuado para el tratamiento empírico en enfermedades diarreicas y lo atribuyeron a la detección de

nuevos genes de resistencia *gyr A* y *gyr B*, la sobreexpresión de la bomba de eflujo y la disminución de la expresión externa de porinas de membrana (9). Un estudio de Pons M, *et al* (2012) en Perú, sobre patrones de resistencia de *E.coli* comensales, reportaron una resistencia a ciprofloxacina 12% (27/222) (40); esto confirma que hay genes de resistencia que se están originando en *E. coli* no patógenas.

La resistencia de EPEC a ácido nalidíxico 50% (8/16), se compara con el estudio en la India 95% (19/20) (26) e Irán 47% (6/13) (31), observándose alta resistencia a este antimicrobiano; no es recomendado como primera opción de quinolonas en enfermedad diarreica aguda, porque produce resistencia rápida y cruzada con las fluoroquinolonas ocasionando reacciones adversas más severas (34).

El 94% de EPEC sensibles a ceftazidima y cefepime, está acorde con la literatura donde refieren que las cefalosporinas han demostrado ser efectivas en casos de *E. coli* diarrogenicas (25).

Entre las limitaciones del estudio fue el prescindir de datos clínicos y la no confirmación de los patotipos en estudio por métodos confirmatorios.

El estudio aportará con datos sobre susceptibilidad antimicrobiana de EPEC en niños menores de cinco años con diarrea para los futuros estudios epidemiológicos.

5. CONCLUSIONES

- En la población de estudio se identificó 14% (16/116) *E. coli* enteropatógena y no se encontró *E. coli* O157:H7.
- Las cepas de EPEC mostraron 88% de resistencia a la ampicilina y 50% al sulfametoxazol/ trimetoprim; antimicrobianos de uso habitual en poblaciones pediátricas marginales.
- El 94% (15/16) de cepas *E. coli* enteropatógena fueron sensibles a la ciprofloxacina, antimicrobiano de uso empírico en la enfermedad diarreica aguda causada por bacterias.

RECOMENDACIONES

Se hace necesario implementar técnicas diagnósticas rutinarias económicas pero de resultados rápidos y certeros para realizar tratamientos antimicrobianos específicos en pacientes con enfermedad diarreica aguda y concientizar a la población sobre el buen uso de antimicrobianos con el propósito de evitar la resistencia bacteriana, primordialmente en poblaciones vulnerables como son los niños; porque en una posterior infección la alternativa terapéutica puede ser con un antimicrobiano más fuerte y tóxico, tener presente que una vez diseminada la resistencia es difícil revertirlo.

6. BIBLIOGRAFIA

1. Organización Mundial de Salud. Enfermedades Diarreicas [Internet]. OMS; 2017 [citado el 02 de febrero del 2020]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/diarrhoeal-disease>
2. Karen L., William C, Yukun W, *et al.* The incidence, etiology and adverse clinical consequences of less severe diarrheal episodes among infants and children residing in low-income and middle-income countries: a 12-month case-control study as a follow-on to the Global Enteric Multicenter Study (GEMS). The Lancet [Internet]. 2019 [citado el 15 de enero del 2020]; 7(5): 568-584. Disponible en: <https://www.thelancet.com/>
3. Ordoñez L. Situación epidemiológica de las enfermedades diarreicas agudas (EDA) en el Perú. Boletín Epidemiológico del Perú [Internet]. 2019 [citado el 12 de enero del 2020]; 28 (6): 144-145. Disponible en: <http://www.dge.gob.pe/portal/docs/vigilancia/boletines/2018/52.pdf>.
4. Organización Mundial de Salud. La Organización Mundial de Salud pública las actualizaciones sobre la atención de la desnutrición aguda severa en lactantes y niños [Internet]. OMS; 2016 [citado el 01 de enero del 2020]. Disponible en: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/249206>.
5. Gomes T, Elias W, Scaletsky I, *et al.* Diarrheagenic *Escherichia coli*. Braz J Microbiol [Internet]. 2016 [citado el 30 de diciembre del 2019]; 47 (1): 3-30. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5156508/>
6. Nguyen Y, Sperandio V. *E. coli* Enterohemorrhagic (EHEC) pathogenesis. Front Cell Infect Microbiol [Internet]. 2012 [citado el 30 de diciembre del 2019]; 12(1): 2-90. Disponible en: <https://www.frontiersin.org>.

7. Hartland E, Leong J. Enteropathogenic and enterohemorrhagic *E. coli*: ecology, pathogenesis, and evolution. *Front Cell Infect Microbiol* [Internet]. 2013 [citado el 29 de diciembre del 2019]; 3 (1):15. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>
8. Farfán A, Ariza S, Vargas F, *et al.* Mecanismos de virulencia de *Escherichia coli* enteropatógena. *Chilena Infectol* [Internet]. 2016 [citado el 29 de diciembre del 2019]; 33(4): 438-450. Disponible en: <https://scielo.conicyt.cl/pdf/rci/v33n4/art09.pdf>
9. Zhou Y, Zhu X, Hou H *et al.* Characteristics of diarrheagenic *Escherichia coli* among children under five years of age with acute diarrhea: a hospital based study. *BMC infectious diseases* [Internet]. 2018 [citado el 29 de diciembre del 2019]; 18(1): 63. Disponible en: <https://doi.org/10.1186/s12879-017-2936-1>
10. Ochoa T, Mercado E, Durand D, *et al.* Frecuencia y patotipos de *Escherichia coli* diarrogénicas en niños peruanos con y sin diarrea. *Rev Medica Salud Pública* [Internet]. 2011 [citado el 30 de noviembre del 2019]; 28(1): 13-20. Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/scielo>.
11. Guion C, Ochoa T, Walker C, *et al.* Detection of diarrheagenic *Escherichia coli* by use of melting-curve analysis and real-time multiplex PCR. *J Clin Microbiol* [Internet]. 2008 [citado el 29 de octubre del 2019]; 46 (5): 1752-7. Disponible en: <https://doi.org/10.1128/JCM.02341-07>
12. Lluque A, Mercado E, Riveros M, *et al.* Comparison of enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC) diagnosis by serology and by polymerase chain reaction (PCR). *Gastroenterol Perú.* 2010; 30 (2):121-5.
13. Zaman S, Hussain M, Nye R *et al.* Review on Antibiotic Resistance: Alarm

- Bells are Ringing. *Cureus* [Internet]. 2017 [citado el 29 de octubre del 2019]; 9(6): 403. Disponible en: <https://doi.org/10.7759/cureus.1403>
14. Miranda C. *Escherichia coli* portador de betalactamasas de espectro extendido: resistencia. *Sanid Mil* [Internet]. 2013[citado el 29 de octubre del 2019]; 69(4): 244-248. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.4321/S1887-85712013000400003>.
 15. Galván F, Agapito J, Bravo N, *et al.* Caracterización fenotípica y molecular de *Escherichia coli* productoras de β -Lactamasas de espectro extendido en pacientes ambulatorios de Lima, Perú. *Med Hered.* 2016; 27(1): 22-29.
 16. Barbosa TM, Levy SB. Differential expression of over 60 chromosomal genes in *Escherichia coli* by constitutive expression of MarA. *J Bacteriol.* 2000; 182(12): 3467-3474.
 17. Sacaquispe C, Velásquez P, *et al.* Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de Disco Difusión. Serie de Normas Técnicas N.º 30. Lima: Ministerio de Salud, Instituto Nacional de Salud, 2002.
 18. Danielle J, Myron M, Karen L *et al.* Dynamics of antimicrobial resistance in intestinal *Escherichia coli* from children in community settings in South Asia and sub-Saharan Africa. *Nature Microbiology* [Internet]. 2018 [citado el 17 de septiembre del 2019]; 3(1): 1063-1073. Disponible en: <https://www.nature.com/>
 19. Adugna A, Kibret M, Abera B, *et al.* Antibigram of *E. coli* Serotypes isolated from children aged under five with acute diarrhea in Bahir Dar Town. *África Health SCI* [Internet]. 2015[citado el 17 de septiembre del 2019]; 15(2):656-64. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov>

20. Chávez B, Rivera T, Castañeda R, *et al.* Multirresistencia antimicrobiana de la *Escherichia coli* Enteropatógena y *Escherichia coli* Enterotoxigénica, detectadas en muestras clínicas mediante reacción en cadena de la polimerasa. Rev Ciencia Biomédica [Internet]. 2012[citado el 17 de setiembre del 2019]; 3 (1): 2215-7840. Disponible en: <https://www.researchgate.net/publication/>
21. Michelli E, Millán A, Rodulfo H, *et al.* Identificación de *Escherichia coli* enteropatógena en niños con síndrome diarreico agudo del Estado Sucre, Venezuela. Biomédica [Internet]. 2016 [citado el 30 de agosto del 2019]; 36:118-27. Disponible en: <https://revistabiomedica.org/index.php/biomedica/a>
22. Canata M., Navarro R, Velázquez G, *et al.* Caracterización molecular de factores de virulencia de aislados *Escherichia coli* obtenidas de heces de niños con gastroenteritis del Hospital Central de Instituto de Previsión Social en el 2012. Pediatr. (Asunción) [Internet]. 2016 [citado el 30 de agosto del 2019]; 43(1): 13-17. Disponible en: <http://scielo.iics.una.py/scielo>.
23. Acosta G, Vigo N, Durand D, *et al.* Diarrheagenic *Escherichia coli*: Prevalence and Pathotype Distribution in Children from Peruvian Rural Communities. Am J Trop Med Hyg. 2016; 95(3):574-9.
24. Ochoa T, Ruiz J, Molina M, *et al.* High frequency of antimicrobial drug resistance of diarrheagenic *Escherichia coli* in infants in Peru. Am J Trop Med Hyg. 2009; 81(2):296-301.
25. Leibovitz E, Janco J, Piglansky L, *et al.* Oral ciprofloxacin vs. intramuscular ceftriaxone as empiric treatment of acute invasive diarrhea in children.

- Pediatr Infect Dis J. 2000;19(11):1060-1067.
26. Shimu S, Sanya T, Tanjila R. Antimicrobial susceptibility pattern of enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC) in paediatric diarrhoeal patients. Ibrahim Med. Coll. J [Internet]. 2014 [citado el 30 de agosto del 2019]; 8(1): 12-16. Disponible en: <https://doi.org/10.3329/imcj.v8i1.22983>
 27. Tomás A. Microbiología: Bioquímica bacteriana, Enterobacteriaceae. Perú: Universidad Peruana Unión; 2009.
 28. Manual de Procedimientos. Diagnóstico de *Escherichia coli* productor de Toxina Shiga. Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas. ANLIS. “Dr. Carlos Malbrán”. Buenos Aires. Argentina; 2003:1-9.
 29. Clinical and Laboratory Standard Institute. Performance Standards for antimicrobial Susceptibility Testing, 28th edition - Informational Supplement M100 [Internet]. Pennsylvania: CLSI; 2016 [citado el 01 de mayo del 2019]. Disponible en: https://clsi.org/media/1930/m100ed28_sample.pdf
 30. Herrera L. Interpretación de las pruebas de sensibilidad antimicrobiana. Rev. Méd. Hosp. Nac. Niños (Costa Rica) [Internet]. 1995 [citado el 01 de junio del 2019]; 39(1): 61-65. Available from: http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1017-85462004000100007&lng=en.
 31. Bouzari S, Farhang E, Hosseini S, Alikhani M. Prevalence and antimicrobial resistance of shiga toxin-producing *Escherichia coli* and enteropathogenic *Escherichia coli* isolated from patients with acute diarrhea. Iran J Microbiol [Internet]. 2018 [citado el 30 de diciembre del 2019]; 10 (3):151-157. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6087697/>

32. Roque M. Frecuencia de *Escherichia coli* diarreogénicas aisladas de niños en un hospital pediátrico en Lima-Perú. *Ciencia e Investigación*. 2017, 20(2):23-28.
33. Sebastián O, Gerardo A, Lucía G. Detección y caracterización de *Escherichia coli* productor de toxina Shiga en niños atendidos en un hospital pediátrico interzonal de la ciudad de La Plata. *Argentina de Microbiología* [Internet]. 2018 [citado el 30 de diciembre del 2019]; 50(4): 341-350. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.ram.2017.08.008>
34. Bruzzese E, Giannattasio A, Guarino A. Antibiotic treatment of acute gastroenteritis in children. [Internet]. 2018[citado el 30 de diciembre del 2019]; 15(1): 7-193. Disponible en: <https://doi.org/10.12688/f1000research.12328.1>
35. Ecker L, Ochoa T., Vargas M, *et al.* Preferencias de uso de antibióticos en niños menores de cinco años por médicos de centros de salud de primer nivel en zonas periurbanas de Lima, Perú. *Salud Pública*. 2013; 30(2): 181-189.
36. Abera B, Kibret M, Mulu W, *et al.* Knowledge and beliefs on antimicrobial resistance among physicians and nurses in hospitals in Amhara Region, Ethiopia. *BMC Pharmacol Toxicol* [Internet]. 2014 [citado el 15 de abril del 2019]; 15: 26. Disponible en: <https://doi.org/10.1186/2050-6511-15-26>
37. González J, Maguiña V, González P. La resistencia a los antibióticos: un problema muy serio. *Acta Méd. Perú* [Internet]. 2019 [citado 2019 Jun 26]; 36(2): 145-151. Disponible en: [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1728-59172019000200011&lng=es.](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1728-59172019000200011&lng=es)

38. Adisa R, Orherhe O, Fakeye T. Evaluation of antibiotic prescriptions and use in under-five children in Ibadan, SouthWestern Nigeria. *Afr Health Sci* [Internet]. 2018 [citado el 30 de diciembre del 2019]; 18(4):1189-201.19. Disponible en: <https://doi.org/10.4314/ahs.v18i4.40>
39. Pons M, Mosquito S, Ochoa T, *et al.* Niveles de resistencia a quinolonas y otros antimicrobianos en cepas de *Escherichia coli* comensales en niños de la zona periurbana de Lima, Perú. *Salud Pública*. 2012; 29(1): 82-86.

7. TABLAS Y GRÁFICOS

Tabla 1: Frecuencia de EPEC según edad y sexo en colonias de bacterias fermentadoras de lactosa (n=144)

Parámetros	BFL.	<i>E. coli</i>	EPEC
	n° (%)	n° (%/)	n°(%/)
Sexo			
Masculino	76 (53)	64 (55)	12(75)
Femenino	68(47)	52 (45)	4 (25)
Edad (meses)			
3-11	28(19)	23 (20)	4 (25)
12-23	74(52)	62(54)	10(62)
24-59	42(29)	31(26)	2(13)
Total	144	116	16

BFL: Bacterias Fermentadoras de Lactosas

EPEC: *Escherichia coli* enteropatogénica

Tabla 2: Susceptibilidad antimicrobiana de cepas EPEC aislados de niños menores de cinco años del Instituto Nacional de Salud del Niño. Enero a abril del 2016 (n=16).

Antibióticos	Sensible n° (%)	Intermedio n° (%)	Resistente n° (%)
Penicilina			
Ampicilina	1 (6)	1 (6)	14 (88)
Amoxicilina/Ácido Clavulánico	13 (81)	0 (0)	3 (19)
Cefalosporinas			
Cefotaxima	12 (74)	2 (13)	2 (13)
Ceftazidima	15 (94)	1 (6)	0 (0)
Cefepime	15 (94)	1 (6)	0 (0)
Monobactámicos			
Aztreonam	15 (94)	1(6)	0 (0)
Carbapenémicos			
Imipemen	16 (100)	0 (0)	0 (0)
Aminoglucósidos			
Gentamicina	15 (94)	0 (0)	1 (6)
Amikacina	15 (94)	1(6)	0 (0)
Quinolonas			
Ácido Nalidíxico	5 (31)	3 (19)	8 (50)
Ciprofloxacina	15 (94)	0 (0)	1 (6)
Otros			
Sulfametoxazol/Trimetoprim	7 (44)	1 (6)	8 (50)
Cloranfenicol	14 (86)	0 (0)	2 (13)

8. ANEXO

1. Flujograma de Procedimientos.

