



Sede Cochabamba
Carrera De Bioquímica Y Farmacia

INFECCIONES INTESTINALES CAUSADAS POR ES- CHERICHIA COLI

Examen de Grado En Licenciatura De Bioquímica Y
Farmacia

Alejandra Karen Abasto Velasco

Tutor(a):

Cochabamba – Bolivia
Julio de 2020

Agradecimientos

Primeramente agradezco a Dios por bendecirme día a día y encaminar mi vida tan a su manera que hasta aquello que en su momento pareció un fracaso hoy en día se volvió un gran logro.

Agradezco a mis padres, Angel Abasto Gutiérrez y Mabel Velasco Jiménez por el inmenso apoyo que me brindaron tanto en los buenos y malos momentos para concluir mis estudios, gracias por amarme tan incondicionalmente.

A mis abuelos Nicolás Velasco y Barbará Jiménez, que además de aportarme un cariño inmenso en estos años de estudios, me impulsaron a llegar hasta este punto.

Agradezco a mis tíos Lincoln Velasco y Lenny Fernández por la motivación y el apoyo desinteresado que me dieron en todo este tiempo.

Dedicatoria

Dedico este proyecto a mis padres que son lo principal en mi vida, a mis Abuelos que sin importar el tamaño de mis logros, siempre están inmensamente orgullosos de mi, a mi hermano Roberto Abasto que es mi más grande motivación a largo plazo y finalmente se lo dedico a Dios porque estuvo en todo momento guiándome para tomar decisiones correctas y no darme por vencida.

RESUMEN

Escherichia coli es parte de la flora normal de intestino, en la cual tiene múltiples funciones, tomando en cuenta que el intestino es sin duda el mayor y más complejo ecosistema microbiano del organismo es por eso que hoy en día la bacteria del género *Escherichia coli* es la mayor estudiada ya que suele ser inofensiva en esta zona del cuerpo, sin embargo diferentes estudios demostraron que existen cepas de *E. coli* que son patógenas, los grupos de *Escherichia coli* patógenos son los siguientes: *Escherichia coli* Enterotoxigenica (ECET), *Escherichia coli* enteropatógena (ECEP), *Escherichia coli* Enteroagregativa, *Escherichia coli* Enteroinvasiva (ECEI) y *Escherichia coli* Shiga - toxigenica (ECStx). El tipo de diarreas causadas por estas cepas pueden expresarse en manifestaciones clínicas severas, por otro lado pueden causar un cuadro benigno por tener un agente causal de vida autolimitada, aunque la epidemiología ha demostrado que dicha infección principalmente es dada por contaminación alimentaria.

El tratamiento generalizado con antimicrobianos no es una buena opción ya que predispone a un síndrome hemolítico urémico en caso de que sea la bacteria infectante *Escherichia coli* enterohemorrágica, además que la terapia va dirigida fundamentalmente a tratar los síntomas. Diversos estudios demostraron que estas cepas tienen una alta y gran resistencia a los antibióticos y por ello un diagnóstico preciso es de suma importancia pero lamentablemente por el hecho de que esta bacteria forma parte de la biota normal su diagnóstico común se torna complicado ya que para ello una herramienta de oro son las pruebas especiales (PCR y métodos de biología molecular.) para completar la identificación bioquímica.

Palabras claves: Enterohemorrágica, patógena, toxigénica, microbiota.

ABSTRACT

Escherichia coli is part of the normal flora, in which it has multiple functions, taking into account that the intestine is undoubtedly the largest and most complex microbial ecosystem in the body, which is why today the bacterium of the genus Escherichia coli is the largest studied since it is usually harmless in this area of the body, however different studies showed that there are strains of E. coli that are pathogenic, due to their wide variety the pathotypes are: Escherichia coli enteropathogenic (ECEP), Escherichia coli Enterotoxigenica (ECET), Escherichia coli Enteroinvasiva (ECEI), Escherichia coli Enterohemorrágica (ECEH), Escherichia coli Enteroagregativa and (ECEA), Escherichia coli diffuse adherence (ECAD). The type of diarrhea caused by these strains can be expressed in severe clinical manifestations, on the other hand they can cause a benign condition due to having a self-limiting agent of life, although epidemiology has shown that said infection is mainly caused by food contamination.

The generalized treatment with antimicrobials is not a good option since it predisposes to a hemolytic uremic syndrome in case it is the infecting bacterium Escherichia coli enterohemorrhagic, in addition that the therapy is mainly aimed at treating the symptoms. Various studies have shown that these strains are highly and highly resistant to antibiotics and therefore an accurate diagnosis is of utmost importance, but unfortunately due to the fact that this bacterium is part of normal biota, their common diagnosis becomes complicated since it does so. A gold tool is special tests (serotyping, PCR, HEp-2 cell adhesion assay, and the FAS test) to complete biochemical identification.

Key words: Enterohemorrhagic, pathogenic, toxigenic, microbiota.

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE TABLAS	10
ÍNDICE DE FIGURAS	10
INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO 1.....	2
PATOLOGÍAS INTESTINALES POR ESCHERICHIA COLI.....	2
1. CARACTERÍSTICAS DE LA BACTERIA ESCHERICHIA COLI	2
1.2. Microbiota Específica.....	3
1.3. Flora Patógena	4
1.4. Características Microbiológicas de la Bacteria Escherichia Coli	12
1.5. Factores de Virulencia de la Bacteria Escherichia coli	13
1.6. Regulación de los Factores de Virulencia de Escherichia coli.....	19
1.7. Cuadro Clínico de Infección Intestinal Causada por Escherichia coli	19
CAPÍTULO 2.....	24
EPIDEMIOLOGIA	24
2.1. Epidemiología en el mundo.....	24
2.2. Epidemiología en America.....	26
2.3. Epidemiología en Bolivia	27
CAPITULO 3.....	28
TRATAMIENTO DE INFECCIONES INTESTINALES CAUSADAS POR ESCHERICHIA COLI.....	28
3.1. Tratamiento Farmacológico recomendado para infecciones causadas por Escherichia coli patógena.....	28

3.1.1. Ciprofloxacina.....	29
3.1.2. Cotrimoxazol.....	34
3.1.4. Tratamiento Preventivo	38
3.2. Tratamiento No Farmacológico	41
3.2.1. Prevenir La Deshidratación.....	41
3.2.2. Probióticos.....	41
3.2.3. Alimentación Astringente	42
4.1. Aislamiento, Identificación y Caracterización de Escherichia coli Patógena	43
4.2. Importancia y Justificación De La Solicitud De Exámenes De Laboratorio.	47
4.3. Fundamento Bioquímico de las Pruebas Necesarias para el Hallazgo de la Bacteria Escherichia coli .	47
-Simmons citrato agar.....	53
4.4. Recomendación Para La Obtención De La Muestra	55
4.4.1. Material Necesario.....	55
4.4.2. Obtención De La Muestra.....	55
4.4.3. Volumen Mínimo	56
4.4.4. Transporte.....	56
4.4.5. Observaciones.	56
4.4.6. Criterios De Aceptación De Muestras	57
4.4.7. Criterios De Rechazo De Muestras.	57
4.5. Significación Clínica De Los Hallazgos En Las Pruebas De Laboratorio.	58
4.5.1. Coprocultivo	58
4.5.3. Pruebas Bioquímicas.....	59
5. Caso Clínico.....	60

5.1. Conclusiones	61
5.3. Bibliografía	63

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA N°1. Características de los síndromes gastrointestinales de los grupos patógenos de Escherichia coli.	4
TABL N° 2. Factores de virulencia especializados y asociados a Escherichia coli.....	21
TABLA N° 3. Islotes de patogenicidad de las especies Escherichia coli.....	25
TABLA N°4 Recomendaciones de tratamientos según etiología de gastroenteritis.....	31
TABLA N°5. Sensibilidad y resistencia a antibioticos utilizados para la detección de Escherichia coli productora de Beta - lactamasas de espectro extendido BLEE.....	60
TABLA N°6 Identificación bioquímica de Escherichia coli.....	76

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA N° 1. Theodor Von Escherich	3
FIGURA N° 2. Mecanismo de la diarrea osmótica.....	23
FIGURA N° 3. Introducción del plasmido a la bacteria Escherichia coli	24
FIGURA N° 4. Escherichia coli sembrada en agar MacConkey	56
FIGURA N° 5. Bacteria Escherichia coli sembrada en agar EMB.....	57
FIGURA N° 6. Prueba de Indol en reactivo Kovac	61
FIGURA N° 7. Prueba de actoina en reactivo Voges - Proskaunes.....	62
FIGURA N° 8 Tubos con reactivo TSI sembrados.....	63

FIGURA N° 9. Reactivo MIO (motilidad - indol - ornitina).....	64
FIGURA N° 10. Lisina - Hierro - Agar	66
FIGURA N° 11 Bacilos de Escherichia coli en tinción Gram	72

INTRODUCCIÓN

Las infecciones intestinales causadas por la bacteria *Escherichia coli* son de relevancia debido a que existen varias cepas que se pueden volverse patógenas para el ser humano y manifestarse con un cuadro clínico diarreico , por lo que es importante su diagnóstico y tratamiento.

Para realizar un diagnóstico de laboratorio sobre estas bacterias es importante el conocimiento en cuanto a sus características, formas de acción, presentación y así como las diferentes pruebas de laboratorio que existen.

En este trabajo se realiza una recopilación teórica sobre las manifestaciones clínicas dadas por una infección intestinal por *Escherichia coli*.

En el capítulo uno se describe sobre las características patológicas provocadas por *Escherichia coli*; así como los tipos de sintomatología que causa, su mecanismo de acción, factores de virulencia y el comportamiento microbiológico de esta bacteria patógena . En el capítulo dos se describió la epidemiología de la bacteria *Escherichia coli*; así como los brotes que hubo a nivel mundial, nacional y el impacto que tuvieron estas enfermedades diarreicas causadas por cepas patógenas de *Escherichia coli* en diferentes lugares. El capítulo tres explica el tipo de tratamiento según cada cepa patógena y la resistencia de esta a varios antimicrobianos, recalándose también el tratamiento no farmacológico y preventivo. Se detalla las pruebas de laboratorio más específicas en el capítulo número 4, al igual que se describe cada uno de sus fundamentos que justifican la importancia de cada prueba. El quinto capítulo hace hincapié a un caso clínico que muestra un cuadro sintomatológico propio de *Escherichia coli* Shigatoxigénica dando con un diagnóstico adecuado gracias a las pruebas de **serotipificación** que se realiza y por ende el tratamiento oportuno.

CAPÍTULO 1

PATOLOGÍAS INTESTINALES POR ESCHERICHIA COLI

1. CARACTERÍSTICAS DE LA BACTERIA ESCHERICHIA COLI

Escherichia coli es una bacteria Gramnegativa, no esporulada, anaerobia facultativa que habita el intestino y las heces. Es un microorganismo importante ya que junto a más de 500 especies bacterianas convive en simbiosis con el hospedero y constituye la microbiota intestinal del tracto digestivo. Escherichia coli se encuentra en el intestino grueso, especialmente en el ciego y el colon y reside en la capa de moco que cubre las células epiteliales del tracto intestinal, lo que representa un nicho ecológico nutricional al que la bacteria se adaptó por su alto contenido de carbohidratos, metabolito requerido para la adquisición de energía. (Eslava C., et.al 2020?: en línea)

Escherichia coli, originalmente llamado " Bacillus coli communis ", fue aislado por primera vez de las heces de un niño en 1885 por el Alemán, Pediatra y Bacteriólogo Theodor Von Escherich, fue nombrado Escherichia coli después de su muerte. Hoy en día es la bacteria mejor estudiada, es un común habitante del tracto gastrointestinal de los seres humanos y animales. Hay cepas de Escherichia coli que son comensales inofensivos del tracto intestinal y otros que son patógenos importantes de los seres humanos y animales. Escherichia coli patógena se divide en las cepas que causa la enfermedad en el tracto gastrointestinal y otros capaces de infectar a otros sitios anatómicos del cuerpo humano. El microorganismo se puede encontrar secundariamente en el suelo y agua como resultado de contaminación fecal. (Fernández, et.al, 2003: En línea)

FIGURA N°1. THEODOR VON ESCHERICH.



(Fuente: Betelguex - Christeys, 2016: en línea)

Las infecciones gastrointestinales son una de las más frecuentes, aunque muchas veces no es de mayor importancia en adultos sanos, un desequilibrio electrolítico puede provocar una deshidratación en personas inmunodeprimidas, en niños y ancianos. Siendo sus manifestaciones clínicas más destacadas, diarrea moderada o intensa, que en el caso de *Escherichia coli* enterohemorrágica suele presentar una diarrea sanguinolenta, así como vómitos y dolor abdominal. (Vila, et.al, 2007: en línea)

1.2. Microbiota Específica

El intestino humano es colonizado por *Escherichia coli* en las primeras 40 horas tras el nacimiento, siendo la bacteria ingerida en agua y alimentos u obtenida directamente de

otros individuos en contacto con el recién nacido. La bacteria se adhiere al moco que recubre el intestino grueso y una vez establecida una misma cepa puede persistir indefinidamente, aunque constituya solo aproximadamente el 0,1% de la población total.

Escherichia coli es una de las primeras especies bacterianas que colonizan el intestino, estas cepas iniciales pueden originarse de la biota fecal materna; Existe una gran diversidad de clonas de *Escherichia coli* y esto va a depender del hospedero, debido a factores como el tamaño del cuerpo, la morfología del intestino, los hábitos alimenticios, tiempo de retención digestiva y el resto de microorganismos integrantes de la microbiota. (Eslava, 2020: en línea)

1.3. Flora Patógena

Las distintas cepas patógenas de *Escherichia coli* se clasifican en categorías basados en los mecanismos mediante los cuales causan enfermedad y de acuerdo con sus signos clínicos. Estas categorías incluyen *Escherichia coli* enterotoxigénica (ECET), *Escherichia coli* enteropatogénica (ECEP), *Escherichia coli* enteroagregativa (ECEA), *Escherichia coli* enteroinvasiva (ECEI), *Escherichia coli* de adherencia difusa (ECAD) y *Escherichia coli* productora de Shiga toxina (STEC). Hay tres siglas que son de uso común para referirse a este último grupo de organismos. Los dos de uso más común son VTEC (*E. coli* verocytotoxigénica) y STEC (*Escherichia coli* shiga-toxigénica). Las dos siglas se han convertido en sinónimos. La sigla más antigua, EHEC (*Escherichia coli* enterohemorrágica), que usualmente también es utilizada como sinónimo (Lake et al., 2002).

1.3.1. Escherichia coli Enterotoxigénica.

Las *Escherichia coli* enterotoxigénica son importantes en lactantes, principalmente en niños menores de dos años, y en particular durante los primeros seis meses de vida. En los niños en edad escolar y en adultos puede ser asintomática y poco frecuente o producir la diarrea del viajero. La enfermedad tiene un periodo de incubación de 14 a 50 h. El cuadro clínico se caracteriza por diarrea aguda, generalmente sin sangre, sin moco, sin

pus y en pocos casos se presentan fiebre y vómito. La diarrea producida por *Escherichia coli* enterotoxigenica puede ser leve, breve y autolimitada pero también puede ser grave.

La contaminación fecal de agua y alimentos es la principal fuente de infección, siendo la dosis infectiva de 10^8 UFC (unidades formadoras de colonias)(Rodríguez, 2002: 464)

El principal factor de virulencia de *Escherichia coli* enterotoxigenica es la secreción de enterotoxinas termoestables y enterotoxinas termolábiles. Existen dos tipos de enterotoxinas termolábiles (I y II); las enterotoxinas termolábiles I están directamente asociadas a cepas humanas. Cada toxina se divide en dos subunidades A y B (Clements A. , et al , 2012: 71 - 78). *Escherichia coli* enterotoxigenica secreta, mediante el sistema de secreción tipo 2, la enterotoxina termolábil dentro de las vesículas de la membrana externa y posteriormente con ayuda de la subunidad B de enterotoxinas termolabiles se une al gangliósido GM1, que por endocitosis permite que las vesículas de la membrana externa ingresen al citoplasma. Una vez allí, se dirige al aparato de Golgi y al retículo endoplasmático. La subunidad de enterotoxinas termolábiles -A1 presente en el citosol se une, mediante ribosilación del ADP, a los nucleótidos de guanina (Gs), inhibe la actividad de GTPasa y activa la adenilatociclasa. Estas reacciones producen un aumento del AMP cíclico, lo que estimula la secreción de cloruro y demás electrolitos a través del canal regulador transmembranal de la fibrosis quística e impide la absorción del intestino y de esta forma ocasiona diarrea secretora de amplia intensidad B (Clements A. , et al , 2012: 71 - 78). En las enterotoxinas termoestables, la unión está mediada por la guanilato-ciclasa-C (GC-C) y existe un aumento del GMP cíclico dependiente de la proteína quinasa II donde se produce el mismo efecto de la enterotoxina termolábil al aumentar la secreción por el canal regulador transmembranal de la fibrosis quística (Sato T. , Shimonoshi , 2008:63). Además, las enterotoxinas termoestables tienen la capacidad de controlar la proliferación celular. Según estudios, inhibe la síntesis de ADN en células de cáncer de colon, que depende de los niveles de calcio intracelulares. La citolisina A expresada del gen *clyA* también ha sido descrita como citotoxina de *Escherichia coli* enterotoxigenica cuyas funciones son la formación de poros, inducción de apoptosis en los macrófagos y actividad hemolítica (Soderblom T. , et.al , 2005:7) .

1.3.2. Escherichia coli Enteropatógena.

Escherichia coli enteropatógeno puede ocasionar brotes o casos aislados de diarrea. Este grupo afecta principalmente a niños menores de seis meses y a los de dos años. También puede aislarse en adultos enfermos y sanos, principalmente cuando hay un factor predisponente como diabetes. La forma de transmisión de la enfermedad es fecal-oral por manos contaminadas de manipuladores de alimentos. Los reservorios de *Escherichia coli* enteropatógena pueden ser niños y adultos con o sin síntomas. El cuadro clínico que produce *Escherichia coli* enteropatógena se manifiesta con diarrea aguda, la cual puede ser leve o grave, con vómito, fiebre baja y mala absorción. (Rodríguez, 2002: 464)

Para el primer mecanismo, ocurren tres eventos de forma prácticamente simultánea:

- Adherencia inicial al enterocito. La bacteria entra en contacto con la célula mediante un flagelo y el pili tipo IV que tienen como función la auto-agregación bacteriana y la adherencia a la célula mediante la formación de microcolonias. (Farfán , et.al ., 2016: 439 - 440)

- Translocación de señales intracelulares. Ésta es facilitada por el sistema de secreción tipo 3 mediante el cual diversas proteínas efectoras ingresan al enterocito. Este sistema macromolecular es codificado en la isla de patogenicidad locus de esfacelamiento del enterocito , el cual se divide en cinco operones policistrónicos (LEE1-LEE5). LEE1-LEE3 codifican los genes de las proteínas *E. coli* secretion que conforman el sistema de secreción tipo 3, LEE4 codifica los genes de las proteínas secretoras Esp (en inglés Esp: EPEC-secreted proteins) (EspA, EspB y EspD) y para algunas efectoras . Finalmente, LEE5 codifica los genes *eae* para la adhesina bacteriana intimina y *tir* para el correspondiente Tir .La expresión génica de LEE, está regulada por *per*, *Ler*), *GrlA* y *GrlR* . Estas proteínas efectoras contribuyen al daño celular mediante la formación de conductos o filamentos y poros para la translocación de proteínas en la membrana del enterocito (EspB, EspD), cambios del potencial de membrana de la mitocondria, formación transitoria de filopodios mediante la activación de GTPasas, reorganización y pérdida de la nucleolina para bloquear el proceso del ARNr (EspF) y la alteración de los microtúbulos

en algunas células epiteliales (EspG) . Otra proteína efectora muy importante es EspC, secretada por el sistema de secreción tipo V, que está involucrada en la citotoxicidad celular durante la adhesión bacteriana, la formación de pedestales . (Farfán , et.al ., 2016: 439 - 440)

- Adherencia íntima bacteriana. De forma simultánea a la unión de sistema de secreción tipo 3 al enterocito y a la entrada de las proteínas efectoras a través de los poros, la bacteria ingresa la proteína Tir (receptor) que facilita la adherencia a la intimina bacteriana y es indispensable para la formación del pedestal y la lesión intestinal. Una vez dentro de la célula hospedera, la cabeza de Tir se proyecta a la superficie de la membrana del enterocito, donde actúa como receptor para la intimina y para la transmisión de señales después de la interacción. Esto contribuye al segundo mecanismo de polimerización de la actina y a la formación de pedestales. En el segundo mecanismo, la polimerización, se forman largas cadenas de actina que alteran la morfología del citoesqueleto, se dañan las microvellosidades y éstas pierden su función. Para la formación del pedestal, Tir es fosforilada en tirosina. Posteriormente, la tirosina se une a las proteínas adaptadoras de la célula hospedera que a su vez activa el complejo Arp 2/3 mediador de la polimerización de actina. Otra proteína adaptadora es el regulador de quinasa que compete con Nck por la unión a la tirosina , con la diferencia que el regulador de quinasa inhibe la polimerización de actina, aunque no se ha entendido cuál función cumple al regularla negativamente. Este proceso es regulado por EspH y por Tir-intimina de manera independiente. Por último, EspZ bloquea la translocación de proteínas al finalizar la infección o durante ésta. Ésta se une a EspD mediante la inhibición del paso de EspF, Map y Tir. (Farfán , et.al ., 2016: 439 - 440)

1.3.3. Escherichia Coli Enteroagregativa

El sitio blanco de daño de *Escherichia coli* enteroagregativa puede ser la mucosa del intestino grueso y delgado, con un periodo de incubación de menos de ocho horas y puede durar hasta 18 o 20 días. Esta bacteria puede causar brotes o casos aislados de diarrea persistente. En niños puede manifestarse con diarrea líquida, de color verde, con moco, sin sangre, y que en ocasiones puede llegar a ser severa y requerir rehidratación

intravenosa. Algunas veces el cuadro clínico se presenta como diarrea con moco con o sin sangre, vómito y sin o con poca fiebre. (Rodríguez, 2002:en línea)

En países tanto en desarrollo como desarrollados, *Escherichia coli* enteroagregativa es considerado un patógeno emergente que se reconoce como la causa más común de diarrea del viajero después de *Escherichia enterotoxigenica*. *Escherichia coli* enteroagregativa puede colonizar los intestinos delgado y grueso y el paciente puede presentar una leve inflamación del colon. "Un estudio reciente describe la asociación entre esta cepa y el grupo filogenético D, principalmente en pacientes sintomáticos".(Farfán, et.al, 2016: en línea)

La característica fenotípica de esta cepa es la adherencia llamada agregativa, en la cual están involucrados genes que se encuentran en el plásmido de virulencia (pAA).Estos genes codifican para fimbrias de adherencia agregativa (AAF), que presentan adhesinas agrupadas en la familia Dr y median la adherencia a la mucosa intestinal. En ensayos in vitro con células HEp-2 forman un patrón de adherencia en forma de ladrillos apilados llamado agregativo. (Farfán, et.al, 2016: en línea)

Las variantes fimbrias de adherencia agregativa /I/II/III, han sido identificadas en las cepas *Escherichia coli* enteroagregativa aunque se desconoce su receptor, se sabe que presentan una carga positiva que une las fimbrias al lipopolisacárido, cuya carga es negativa. Por otro lado, la presencia de una proteína llamada dispersina que se asocia al lipopolisacáridos, enmascara la carga negativa de este y promueve la dispersión de *Escherichia coli* enteroagregativa a través de la mucosa intestinal, contrarrestando la agregación entre las bacterias.(Farfán, et.al, 2016: en línea)

Después de adherirse a la capa de moco intestinal, *Escherichia coli* enteroagregativa es capaz de penetrarla gracias a la actividad mucolítica de Pic, serina proteasa de la familia SPATE. El fenotipo de adherencia agregativo contribuye a la formación de una biopelícula sobre los enterocitos, lo que dificulta la eliminación de la bacteria. El daño a la mucosa ocasionado por dichas cepas se debe a la secreción de toxinas como Pet , SPATE,

cuyo blanco es la fodrina; la toxina es internalizada a la célula eucariota por endocitosis a través de un mecanismo mediado por clatrina, posteriormente Pet viaja hasta el retículo endoplásmico para después encontrarlo en el citoplasma. Otras tres toxinas han sido encontradas en el sobrenadante de *Escherichia coli* enteroagregativa, enterotoxina de *Shigella* 1 , EAEST1 y Sat (SPATE identificado originalmente en UPEC), sin embargo, su papel en la patogénesis de esta cepa no está claro.(Carlos A. Eslava, s.f.:10)

1.3.4. Escherichia coli Enteroinvasora.

Las *Escherichia coli* Enteroinvasivas están bioquímica, genética y patogénicamente relacionadas con *Shigella* spp. Esta infección se caracteriza por fiebre, calambres abdominales y diarrea que contiene sangre y moco; Podría causar una colitis inflamatoria invasiva y, ocasionalmente, disentería, pero en la mayoría de los casos provoca diarrea acuosa que es indistinguible de la provocada por otros patógenos de *Escherichia coli*

Las cepas *Escherichia coli* enteroinvasora se asocian más con brotes que con casos aislados, en los cuales la transmisión puede ser de persona a persona, por ingestión de alimentos y agua contaminada, convirtiéndose en un patógeno importante en niños mayores de seis meses.

Escherichia coli enteroinvasora evade la respuesta inmune porque entra fácilmente a las células epiteliales del colon por medio de adhesinas, moviéndose lateralmente para invadir otras células. *Escherichia coli* enteroinvasora, al igual que *Shigella* spp, posee un plásmido de virulencia que codifica para el sistema secreción tipo III , 25 proteínas y los antígenos de invasión de plásmidos (Ipa)Ipa A, Ipa B, Ipa C, Ipa D, entre otros.(Farfán, 2016: en línea)

Esta cepa difiere de otros patovares de *E. coli*, entre otros aspectos, por ser una bacteria intracelular obligada que no presentan flagelos ni factores de adherencia y por no fermentar la lactosa. La virulencia de *Escherichia coli* enteroinvasora se asocia a un plásmido de 220 kb que codifica para un sistema de secreción tipo III y un locus Mxi-Spa,

requerido para la invasión, supervivencia celular y apoptosis de macrófagos. (Sierra O. ,Rocio M., 2019)

El primer paso del proceso de patogénesis de dichas cepas es la adherencia de las bacterias a las microvellosidades de la mucosa intestinal y posteriormente al borde en cepillo del enterocito. La bacteria es capturada e internalizada por las células M, estas células las presentan a los macrófagos en los que la bacteria estimula la apoptosis, por lo que al morir el macrófago son liberadas. (Sierra O. ,Rocio M., 2019)

Las bacterias interactúan con la célula intestinal que forma una vesícula en su membrana, lo anterior da lugar a que se facilite la penetración de la bacteria establecida y multiplicada en el interior de la célula intestinal. Por efecto de eventos de señalización intracelular, se activa la expresión en la bacteria de un sistema de secreción tipo III, este induce la polimerización de actina celular, lo que favorece el movimiento de la bacteria, para que a través de su migración por el citoesqueleto se internalice a las células adyacentes. (Sierra O. ,Rocio M., 2019)

1.3.5. Escherichia coli shigatoxigenica

El periodo de incubación de *Escherichia coli shigatoxigenica* es de 1 a 8 días; inicialmente produce diarrea sin sangre, con o sin vómito, dolor abdominal, fiebre, y después de 1 a 2 días la diarrea se torna sanguinolenta y se intensifica el dolor abdominal, de una duración de 4 a 10 días, con heces abundantemente sanguinolentas. (Forves, 2010:14)

Este patógeno se caracteriza por producir una o más toxinas Shiga (Stx) similares a las producidas por *Shigella dysenteriae* tipo 1, por lo que se les denomina shigatoxigénicas. También se han descrito como *Escherichia coli* Enterohemorrágica y *Escherichia coli* verotoxigénica debido a la producción de una toxina con efecto citotóxico sobre las células vero. *Escherichia coli shigatoxigenica* es un patógeno de carácter zoonótico de gran importancia en salud pública. (Forves, 2010:14)

La enteritis por *Escherichia coli* shigatoxigenica necesita una baja dosis infectiva (se estima entre 100 a 1000 bacterias), el periodo de incubación fluctúa entre 3 y 4 días (Hannaoui E., et.al, 2009: en línea)

“Una característica biológica interesante de *Escherichia coli* O:157 H:7 es que los genes para la toxina shiga están codificados dentro de un bacteriófago (fago) integrado en el genoma” (Rodríguez G., 2002: en línea)

Una vez que la toxina Stx (subunidad B) se ha fijado a su receptor Gb3, es endocitada la subunidad A, transportada al aparato de Golgi y posteriormente hasta el retículo endoplásmico rugoso, para inhibir luego la síntesis proteica. La StxA, en ambas toxinas shiga, son N-glucosidasa altamente selectivas, que depurinan un residuo específico de adenina de la subunidad ribosomal 60S de la célula eucariótica, esto bloquea la síntesis de proteína y conduce a la muerte celular. Es probable que el daño de la mucosa intestinal por la Stx, el lipopolisacárido (LPS), y otros mediadores de inflamación, promuevan la translocación de la toxina a la circulación. Ya en la circulación sanguínea la Stx va hacia la célula blanco que posee el receptor específico: en el SNC y el riñón. En el humano se encuentran altos niveles de Gb3 en el riñón, específicamente en la región cortical. (Pistone V., 2006:12)

La Stx citotóxica para las células endoteliales del riñón humano, causa una típica histopatología renal que incluye edema en las células del endotelio glomerular y deposición de plaquetas dentro del glomérulo, estas lesiones endoteliales conducen al estrechamiento de la luz de los capilares y a la oclusión de los vasos glomerulares, a través de la acumulación de plaquetas y fibrina. Diversas investigaciones permiten establecer que Stx induce la expresión de citocinas proinflamatorias, tales como TNF α e IL-6, que pueden potenciar el efecto citotóxico de la Stx sobre las células endoteliales vasculares humanas. (Pistone V., 2006:13)

En cuanto al desarrollo de las alteraciones extraintestinales, los reportes incluyen trastornos cardíacos y neurológicos asociados al SUH y a púrpura trombocitopenia trombótica, cuyas consecuencias pueden resultar fatales. (Hannaoui E., 2009: en línea)

1.4. Características Microbiológicas de la Bacteria Escherichia Coli

Escherichia coli es una bacteria mesófila, debido a que su óptimo desarrollo se encuentra entre los 35 – 43 ° y su temperatura límite de crecimiento se sitúa alrededor de 7 °C. (Benvenuto , 2017: 15)

Por otro lado, el pH y la actividad de agua pueden influir en la proliferación de Escherichia coli. Las condiciones óptimas de desarrollo para estos parámetros son de 7,2 y 0,99 respectivamente. El desarrollo de Escherichia coli considerada neutrofila (5.5 -8.0) ya que se detiene a pH inferior a 3,8 y superiores a 9,5; y a valores de actividad de agua inferiores a 0,94.(Vidal, 2003: en línea)

De acuerdo con Scheutz, 2011, desde el punto de vista taxonómico la clasificación de Escherichia coli es la siguiente:

Phylum: Proteobacteria

Clase: Gammaproteobacteria

Orden: Enterobacteriales

Familia: Enterobacteriaceae

Género: Escherichia

Especie: Escherichia coli

Esta bacteria puede llegar a medir entre 1 hasta 3 micras y posee capacidad de movimiento a través de flagelos (antígeno H), los flagelos son estructuras filiformes que pueden medir varias micras. También posee fimbrias (antígeno F) que son estructuras más pequeñas, que a diferencia de los flagelos no tienen movilidad, pero por ser de naturaleza proteica, posee propiedades antigénicas y hemo aglutinantes. Asimismo, posee una pared celular (antígeno O) que está compuesta por lipopolisacáridos, esta pared es alta-

mente antigénica y con capacidad de excretar endotoxinas. Finalmente, *Escherichia coli* posee una capsula (antígeno K) que le otorga protección contra la fagocitosis y la acción inmunitaria primaria (Rodríguez, 2002: en línea).

Una de las características de esta *E. coli* y de la mayoría de las enterobacterias es que presentan una fermentación ácido mixta debido a que fermentan las hexosas a través del pirúvato a ácido láctico, ácido acético, ácido succínico y ácido fórmico (Rodríguez 2002: en línea)

1.5. Factores de Virulencia de la Bacteria *Escherichia coli*

Los factores de virulencia son todas aquellas características de una bacteria que intensifica su patogenicidad, es decir, la capacidad de causar enfermedad. Entre estos factores se tiene:

- Bacteriocinas (Colicinas).

Las colicinas es un tipo de bacteriocina producida por algunas cepas de *E. coli*. Las colicinas se liberan en el medio ambiente para reducir la competencia de otras cepas bacterianas. Colicinas se unen a receptores de membrana externa, su utilización para trasladar al citoplasma o membrana citoplasmática, donde ejercen su efecto citotóxico, incluyendo la despolarización de la membrana citoplasmática, tienen actividad ADNasa y RNAasa, así como la inhibición de la síntesis mureína.

De esta manera, la producción de colicinas representa una ventaja selectiva para el resto de la población colicinogénica que no llegó a secretar la colicina a la cual es inmune.

Las colicinas son producidas por la *E. coli*, “Las cepas productoras de bacteriocinas son resistentes a su propia bacteriocina; por tanto, se puede emplear bacteriocinas para “tipificar” los microorganismos” (Salas, 2014: 66)

-Flagelos.

Los organismos móviles del género, normalmente poseen entre 5 y 10 flagelos por célula, distribuidos al azar alrededor de la superficie (flagelación peritrica). El filamento flagelar mide alrededor de 20 nm de diámetro y puede alcanzar más de 20 µm de longitud. Consiste en subunidades de una única proteína, flagelina, la cual está codificada en el gen *fliC*. La mayoría de las cepas de *E. coli* tiene sólo un gen el cuál no es sometido a variación de fase. (Salas, 2014: 66-67)

-Fimbrias.

Las fimbrias son largas estructuras filamentosas compuestas por cientos de copias de una subunidad mayor, denominada fimbriolina. *E. coli* puede expresar simultáneamente más de 200 copias del filamento; representando esta acción el mayor gasto de energía.

La función primaria de las fimbrias, es la unión a receptores, en la mayoría de los casos está mediada por un componente menor (adhesina) que puede estar localizado en el extremo del filamento y en algunos sitios a lo largo del mismo. Los inconvenientes en definir un tipo de fimbria, proceden principalmente de las variaciones inmunológicas, dentro y a través de las mismas, así como de las variaciones en las secuencias menores de la subunidad adhesina. (Salas, 2014: 68)

Las fimbrias confieren especificidad a la especie. La morfología de las fimbrias es muy variable aun en una misma bacteria y se han descrito, en las cepas de humanos, múltiples antígenos denominados factor de colonización antigénico de las fimbrias (CFAs) o más recientemente como antígenos de superficie de *E. coli*. Con base en la morfología de las fimbrias, se han clasificado en tres tipos: Rígidas, flexibles en grupos y fibrilares delgadas flexibles. (Salas, 2014: 68)

Clasificación de las fimbrias. Una de las posibles clasificaciones de las fimbrias, se basa en la especificidad por sus receptores, por ejemplo, en la capacidad de adhesión sobre

glóbulos rojos en presencia de manosa. Según este método se reconocen dos tipos de fimbrias: manosa-sensibles (MS), incapaces de aglutinar los glóbulos rojos en presencia de D-manosa, y las fimbrias manosa resistentes (MR), capaces de aglutinar las células sanguíneas en presencia del azúcar. (Salas, 2014: 68)

Las fimbrias manosa - sensibles , incluyen las denominadas tipo 1, que se encuentran en la mayoría de las cepas de E. coli y comprenden un grupo de antígenos relacionados. Están expresadas por organismos patógenos así como también por comensales. (Salas, 2014: 68)

La expresión de las fimbrias tipo manosa - sensibles está sujeta a una variación de fase, resultado de la inversión de un fragmento de ADN que contiene la región promotora de un gen que codifica la subunidad fimbrial mayor (fimA) y está influenciada por el ambiente y las condiciones de crecimiento. (Salas, 2014: 68)

Las fimbrias manosas resistentes, son serológicamente diferentes y a menudo, su función como factor de virulencia está asociado a la adherencia, que es especie y órganoespecífica. Los genes que codifican la producción de estas proteínas pueden ser cromosómicos o plasmídicos. Cuando se localizan cromosómicamente están agrupados con otros genes de virulencia en regiones denominadas islas de patogenicidad. (Salas, 2014: 68)

TABLA N° 1. FACTORES DE VIRULENCIA ESPECIALIZADOS Y ASOCIADOS A ESCHERICHIA COLI

ECET	Antígenos del factor de colonización (CFA/I, CFA/II, CFA/III)
ECEP	Pili k Formadores de haces (Bfp); intimina
ECEAgg	Fimbrias adherentes agregantes (AAF/I, AAF/II, AA/III)
ECEH	Bfp; intimina
ECEI	Antígeno del plásmido invasivo (Ipa)

(Salas, 2014: 68)

- Adhesinas afimbriales.

Algunas cepas de E. coli presentan adhesinas denominadas afimbriales o no fimbriales, asociadas a una estructura amorfa relacionada con la membrana externa. El primer grupo de genes involucrados con la producción de una adhesina no fimbrial, se denomina afa, que codifica una estructura adhesiva. (Salas, 2014: 69)

Se describieron adhesinas no fimbriales en la superficie de E. coli de varios patotipo, codificadas por diferentes grupos de genes. La familia afa incluye grupos de genes estrechamente relacionados (operones afa, daa, dra), considerándose una excepción, ya que pueden ser expresados por cepas uropatogénicas como diarreogénicas humana y animales. Estos operones comparten una organización genética similar y están relacionados a nivel del ADN. La familia de adhesinas Afa presenta integrantes fimbriales y no fimbriales. (Salas, 2014: 69)

-Intimina.

La adhesina de membrana externa de *E. coli* enteropatógeno y *E. coli* enterohemorrágico, se llama intimina e interviene en la adhesión a la célula intestinal hospedadora y en el barrido de la microvellosidad intestinal (fenómeno denominado A/E). Todas las intiminas están constituidas por una cola periplásmica amino terminal y un dominio transmembrana conservado, semejante a una porina, que interactúa con el receptor sobre la superficie celular. El dominio extracelular varía entre los integrantes de la familia intimina. (Salas, 2014: 69)

Todas las intiminas estudiadas hasta el momento se adhieren al receptor Tir, una molécula producida por la bacteria e insertada en la membrana de la célula hospedadora blanco a través de un sistema de secreción tipo III. La interacción entre intimina y Tir desencadena la condensación de actina debajo de la bacteria y permite la adhesión al citoesqueleto de la célula hospedadora. (Salas, 2014: 69)

Cualquiera sea el patotipo de *E. coli*, la habilidad para adherirse a las células epiteliales es un factor esencial en el proceso de colonización de las células hospedadoras y en el futuro desarrollo del proceso infeccioso. Esta característica es importante tanto para la colonización del tracto intestinal como urinario. Sin embargo, se demostró que esta característica de adhesión cumple otras funciones importantes en los estadios posteriores del proceso infeccioso; por ejemplo, durante la formación de reservorios bacterianos intracelulares para posteriores ciclos de infección, inducción de la señalización celular e inducción de la respuesta inmune innata. La aclaración de los aspectos moleculares del proceso por el cual *E. coli* se adhiere e ingresa a las células epiteliales podría dar lugar al desarrollo de estrategias efectivas para prevenir la emergencia y recurrencia de la infección. (Salas, 2014: 70)

-Genoma bacteriano

Consiste en uno o más cromosomas, que contienen los genes necesarios y una gran variedad de plásmidos que generalmente codifican para genes no esenciales. El cromosoma está constituido por una doble hebra de DNA circular. Presenta dominios de súperenrollamiento debido a que se dobla y tuerce para ser almacenado en la célula, que en promedio, mide 1 micrómetro. Este genoma mide entre 1 - 6 millones de pares de bases de DNA (es decir, de 1 - 6 Mb). (Salas, 2014: 70)

El nombre nucleóide sirve para identificar a este DNA no confinado por una membrana. Cuando la célula se encuentra en fase logarítmica (de crecimiento rápido) pueden encontrarse varias copias cromosómicas, Conjugación bacteriana completas o parciales. Las bacterias son microorganismos organismos haploides y se dividen por fisión binaria, cuyo tiempo de generación varía desde 20 minutos hasta varias horas. Las bacterias pueden intercambiar material genético mediante tres mecanismos: transformación, conjugación y transducción.

Se considera que el genoma de *E. coli* está compuesto por una región conservada de genes core, que proveen el esqueleto de la información genética requerida para los procesos celulares esenciales, y un conjunto de genes flexibles no comunes a todas las cepas, que consiste en una característica individual de información genética cepa-específica, la cual le provee propiedades especiales para adaptarse a condiciones ambientales determinadas. Por lo tanto, las diferencias en el tamaño del genoma reflejan las variaciones que ocurren en el conjunto de genes flexibles y se deben principalmente a la adquisición o pérdida de ADN genómico. Otro constituyente de esta zona es el grupo de elementos genéticos accesorios móviles: plásmidos, transposones, secuencias de inserción, profagos e islas de patogenicidad. Éstos se pueden integrar al cromosoma o pueden replicarse independientemente como elementos extra-cromosomales. Varios tipos de estos elementos se transfieren horizontalmente y probablemente, estén presentes en la mayoría de los grupos bacterianos filogenéticos, contribuyendo a la variabilidad de contenido genómico inter/intra-especie. (Salas, 2014: 70)

1.6. Regulación de los Factores de Virulencia de Escherichia coli

La Escherichia coli patógena se ha adaptado a una vida saprófita o libre, quizás a ciertos ambientes fuera del organismo y al hospedero humano. Durante su proceso de adaptación, Escherichia coli economiza sus necesidades y productos metabólicos. Por lo cual ha creado sistemas complejos de transducción de señales para regular los genes que son importantes para la virulencia. Con frecuencia una serie de señales ambientales regula la expresión de los genes de virulencia. Algunas señales más frecuentes son la temperatura, la disponibilidad de hierro, la osmolalidad, la fase del desarrollo, el pH y determinados iones (Por Ej., Ca^{2+}). (Salas, 2014: 72)

La síntesis de las colicinas es inducible por exposición a condiciones de estrés en el medio. Una vez que la colicina es producida en el interior celular, es transportada al exterior causando la lisis de la célula productora, y la muerte de las células sensibles que comparten el mismo nicho ecológico. (Salas, 2014: 72)

1.7. Cuadro Clínico de Infección Intestinal Causada por Escherichia coli

El principal cuadro clínico sintomatológico que produce Escherichia coli patógena en el intestino humano es una diarrea, la misma que es definida como la deposición de tres o más veces al día (o con una frecuencia mayor que la normal para la persona) de heces sueltas o líquidas. (OMS, 2017)

1.7.1. Mecanismos Fisiopatológicos de la Diarrea:

Los mecanismos patogénicos que ocasionan diarreas están en dependencia de los agentes causales que la producen. En la actualidad se describen varios mecanismos:

- invasividad

Invasión de la mucosa seguida de multiplicación celular intraepitelial y penetración de la bacteria en la lámina propia. La capacidad de una bacteria para invadir y multiplicarse en una célula, causando su destrucción, está determinada por la composición del lipopolisacárido de la pared celular de dicha bacteria en combinación con la producción y liberación de enzimas específicas. La invasividad está regulada por una combinación de plásmidos específicos y genes cromosomales que varían de un enteropatógeno a otro. (Enfermedades infecciosas y microbiológica clínica, 2020?: en línea)

-Producción de citotoxinas.

Éstas producen daño celular directo por inhibición de la síntesis de proteína. (Enfermedades infecciosas y microbiológica clínica, 2020?: en línea)

- producción de enterotoxinas

Da lugar a trastornos del balance de agua y sodio y mantienen la morfología celular sin alteraciones. (Enfermedades infecciosas y microbiológica clínica, 2020?: en línea)

- Adherencia a la superficie de la mucosa.

Esto da por resultado el aplanamiento de la microvellosidad y la destrucción de la función celular normal. En la adherencia celular intervienen factores como: vellos, glicoproteínas u otras proteínas que permiten la colonización bacteriana del intestino; La presencia de uno o varios de estos factores que se unen a receptores específicos en la superficie del enterocito, tiene gran importancia en la adhesión, que constituye la primera fase de la infección. (Enfermedades infecciosas y microbiológica clínica, 2020?: en línea)

1.7.2. Clasificación de la Diarrea Infecciosa Aguda

La diarrea infecciosa aguda es aquella que tiene una duración menor de 14 días. Actualmente se clasifica de manera práctica en diarrea acuosa y diarrea con sangre. (Vila, et.al, 2007: en línea)

-Diarrea acuosa

La diarrea acuosa puede ser secretora u osmótica.

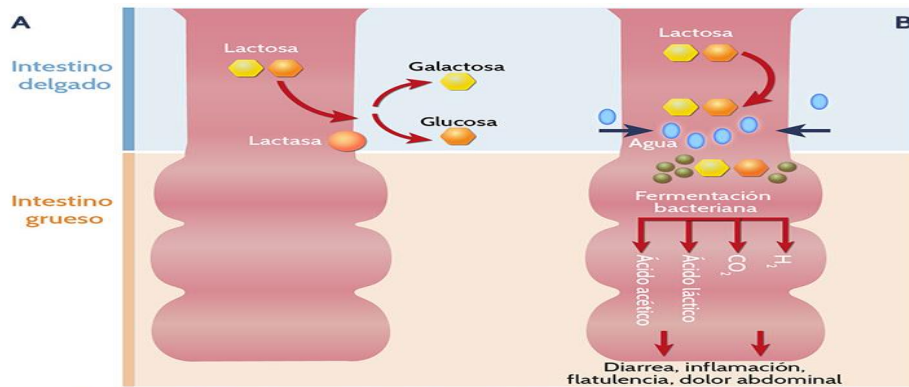
- Diarrea secretora

Se define como un cuadro diarreico, aquél que es el resultado del movimiento neto de agua y electrólitos desde la mucosa intestinal hasta el lumen, y cuyo volumen excede los 10 mL/kg/día y cuya osmolaridad es similar al plasma. La diarrea secretora es una diarrea acuosa abundante que produce deshidratación con trastornos del equilibrio hidroelectrolítico y ácido básico y es producida principalmente por la cepa patógena de *Escherichia coli* Enterotoxigénica. (Vila, et.al, 2007: en línea)

- Diarrea osmótica

La diarrea osmótica es aquélla que se produce por un incremento de carbohidratos en el lumen intestinal, como consecuencia de lesiones en forma de parches en las vellosidades intestinales y por la invasión de los enterocitos de la vellosidad y la posterior aglutinación de las vellosidades afectadas ; Los parásitos que con mayor frecuencia presentan este tipo de diarrea con acentuada mala absorción a los carbohidratos son: otro tipo de microorganismos ajenos a los tipos de *Escherichia coli* patógenos, aunque los pacientes inmunosuprimidos presentan un componente de hipersecreción.(Vila, et.al, 2007: en línea)

FIGURA N°2. MECANISMO DE LA DIARREA OSMOTICA



(Fuente: Pérez, 2018)

- Diarrea con Sangre.

La diarrea con sangre se presenta con una elevada frecuencia en niños menores de 5 años. Constituye un problema de salud en los países subdesarrollados y puede expresarse con manifestaciones clínicas severas que pueden llevar al paciente a la muerte y, en otras ocasiones, su cuadro clínico es más benigno por tener sus agentes causales una vida autolimitada. De una manera práctica, la diarrea con sangre puede ser invasiva y no invasiva. (Vila, et.al, 2007: en línea)

La necrosis de la porción superior (ápex) de las vellosidades da lugar a que en un período de 12 a 40 horas, los enterocitos de las criptas, que son enterocitos secretores, cubran totalmente la vellosidad y den lugar a áreas donde hay secreción de líquidos y la absorción está disminuida o ausente. En la medida que las lesiones se hacen más extensas tendrá lugar una menor absorción y se aumentará la secreción. (Vila, et.al, 2007: en línea)

TABLA N°2. CARACTERÍSTICAS DE LOS SÍNDROMES GASTROINTESTINALES DE LOS GRUPOS PATÓGENOS DE ESCHERICHIA COLI

MICROORGANISMOS CLÍNICOS	SÍNDROME	MECANISMO PATÓGENICO (FACTORES DE VIRULENCIA)
ECET	Diarrea acuosa	Fimbrias , toxinas termolábiles y termoestables
ECEP	Diarrea acuosa	Adherencia – acortamiento microvellosidades.
ECEI	Disentería	Plásmido (genes codifican proteínas de invasión)
ECEH	Diarrea acuosa Colitis hemorrágica	Fimbria , citotoxinas (VT-1 o VT-2)
ECEA	Diarrea acuosa	Fimbria , enterotoxina (EAST-1) y otras toxinas.

(Enfermedades infecciosas y microbiológica clínica, 2020?: en línea)

CAPÍTULO 2

EPIDEMIOLOGIA

2.1. Epidemiología en el mundo

-Incidencia de Escherichia coli Enterotoxigénica

Es uno de los agentes más frecuentemente identificados en diarrea aguda. Aproximadamente, cada año se presentan 280 millones de infecciones por Escherichia coli Enterotoxigénica en niños menores de 4 años, de los cuales entre 300.000 a 500.000 mueren y se cree que más de 40 millones son asintomáticos. Se conoce como diarrea del viajero y tiene amplia distribución en países en vías de desarrollo. (Farfán , et.al ., 2016: en línea)

El síndrome diarreico agudo representa un problema de salud pública mundial, aunque con variaciones regionales en su incidencia y en la diversidad y frecuencia de los agentes etiológicos involucrados. (Farfán , et.al ., 2016: en línea)

-Incidencia de Escherichia coli Enteropatógena

La distribución de Escherichia coli enteropatógena es mundial y es de particular importancia en los países con climas tropicales y en países subdesarrollados, en lugares de hacinamiento y con malas condiciones de higiene. En países en vías de desarrollo es el principal patógeno productor de diarrea en el verano entre población pediátrica, en donde se ha estimado que causa entre el 30 y 40% de los casos de diarrea infantil. (Benvenuto V., 2017: 16)

-Incidencia de Escherichia coli Enteroagregativa

Entre el 1 de mayo y el 4 de julio se registraron en Alemania 3.469 casos de diarreas/CH, falleciendo 50 pacientes provocadas por Escherichia coli Enteroagregativa. Según los datos del (European Centre for Disease Prevention and Control (ECDPC). En otros 13 países de la Unión Europea se produjeron 476 casos de diarrea. Además, también se detectaron algunos casos en EE.UU. y Canadá en pacientes que habían visitado Alemania. (Blanco J. , 2012: en línea)

Las cepas Escherichia coli enteroagregativa han causado varios brotes, incluyendo un brote por el serotipo O157:H7 sucedido en el Japón en 1993 que afectó a más de 2.000 personas (Blanco J. , 2012: en línea)

-Incidencia de Escherichia coli Enteroinvasora

La incidencia de Escherichia coli enteroinvasora como agente productor de enteritis es relativamente baja, aunque en América del Sur, Extremo Oriente y Europa Oriental, se aíslan con relativa frecuencia. Se ha calculado que Escherichia coli enteroinvasiva provoca 630 millones de casos de diarrea en el mundo y aproximadamente 775.000 muertes, afectando fundamentalmente a la población infantil del tercer mundo. (Villalobos L., 2003: 8)

-Incidencia de Escherichia coli Shiga - toxigenica

Un estudio determina que fuera de Alemania hubo brotes importantes de enfermedades provocadas por el Escherichia coli shiga - toxigenica , sobre todo del serotipo O157: H7: como ocurriera en los Estados Unidos en 1982 cuando muchas personas enfermaron tras la ingestión de salchichas que no se calentaron lo suficiente, en Japón en 1996 cuando más de 9000 escolares enfermaron por la ingestión de semillas germinadas de rábanos y en 2006 a partir de california en 26 estados de la nación.

En mayo del 2011 se produjo un brote de la bacteria *Escherichia coli* shiga - toxigenica , concretamente del serotipo O104: H4, que produjo la muerte de al menos 23 personas en Alemania y más de un millar de infectados. (Organización mundial de la salud, 2018)

El brote provocó una crisis alimentaria en Europa que se denominó erróneamente como crisis del pepino, tras una acusación errónea por parte de las autoridades de Alemania contra los pepinos españoles como causantes de la epidemia. Los análisis impuestos por la comisión europea demostraron que no había contaminación por *E. coli* en los cultivos españoles de pepinos en Almería, Granada y Málaga y que la bacteria hallada en las muestras de los pepinos importados eran de tipo *E. coli* distinto a la bacteria epidémica.

En fecha 5 de abril de 2019 las autoridades alertaron un brote de *Escherichia coli*, que hasta ese momento había afectado a 72 personas en cinco estados de dicho país.

Los estados en los cuales se detectaron un mayor número de casos fueron en Kentucky con 36 casos, seguido por Tennessee con 21, Georgia con 8; Ohio con 5 y Virginia con 2. (Organización mundial de la salud, 2011)

2.2. Epidemiología en America

En Latinoamérica, de acuerdo con los datos recién publicados por Global Burden Diseases (Diarrhoeal Diseases), las EDA (Enfermedades diarreicas agudas) continúan siendo un problema de salud pública. La incidencia se ha mantenido relativamente constante en las tres últimas décadas, pero varios países han disminuido la mortalidad durante este mismo periodo 5-14 gracias a los programas de control de las EDA que la Organización Mundial de la Salud (OMS) ha establecido y que la Organización Panamericana de la Salud, como oficina regional, ha difundido en Latinoamérica. (Herrera I., et.al 2018 : 9)

2.3. Epidemiología en Bolivia

Las enfermedades diarreicas agudas representan el 50 % de la mortalidad infantil en menores de 5 años (Carlos N., 2010: 153). Del 25 al 31 de marzo del 2007 se acumulan 167.567 casos de los cuales 72% se presentan en menores de 5 años(SNS ,2007), en Bolivia el 7.5 % de los niños mueren, sobretodo menores de 5 años, la causa principal es la diarrea (OPS/OMS, 2010). A pesar de los avances en detectarla etiología, el 30% sigue siendo de causa desconocida. Todas las EDA's si son crónicas (mayor de 4 semanas) representan más peligro de deshidratación y muerte.

El SEDES nos demuestra que la diarrea en niños menores de 5 años se presenta más en abril y junio. A nivel Latinoamérica, Bolivia tiene el segundo índice de mortalidad infantil más alta'. Por lo que este estudio pretende establecer la frecuencia de casos en un centro de salud de Cochabamba, Bolivia.(OPS, 2019: en línea)

Tomando en cuenta un estudio realizado en uno de los hospitales de la capital de Bolivia, *Escherichia coli* presento un porcentaje elevado de resistencia antimicrobiana, frente a 19 antibióticos; teniendo la resistencia más elevada para quinolonas y trimetroprima/Sulfametoxazol. (Boutier, 2018:8)

CAPITULO 3

TRATAMIENTO DE INFECCIONES INTESTINALES CAUSADAS POR ESCHERICHIA COLI

- La Terapia va dirigida fundamentalmente a tratar los síntomas (diarrea, deshidratación, alteraciones electrolíticas, entre otros.)
- El tratamiento antibiótico no sería de elección porque el daño lo produce una toxina, no la bacteria en sí. (este en caso de infección por ECStx, etc.)
- La mayoría de los pacientes se recuperan sin ningún antibiótico en 10 días
- Las cepas de Escherichia coli son resistentes a muchos antibióticos.

3.1. Tratamiento Farmacológico recomendado para infecciones causadas por Escherichia coli patógena.

Evita tomar medicamentos antidiarreicos, pues desaceleran el aparato digestivo y no le permiten al cuerpo deshacerse de las toxinas. En general no se recomiendan los antibióticos porque pueden aumentar el riesgo de complicaciones graves.

Si la diarrea está entre moderada o grave, suelen administrarse antibióticos para que los síntomas remitan con mayor rapidez.

Algunos fármacos antibacterianos como las fluoroquinolonas y trimetoprima-sulfametoxazol pueden aumentar la producción de toxina Shiga mediada por fagos y teóricamente, podrían aumentar el riesgo de desarrollar el síndrome urémico - hemolítico. Sin embargo, se ha establecido una asociación entre el uso de estos antibióticos y un riesgo más elevado de padecer este síndrome, mientras que otros fármacos, incluida la fosfomicina, la azitromicina y la rifaximina, no parecen aumentar la producción de toxinas Shiga.

Se necesitan otros estudios para determinar los efectos de la azitromicina y la rifaximina en la reducción de la diarrea y la disminución del riesgo de síndrome urémico- hemolítico entre los pacientes disintéricos con *E. coli* productora de toxina Shiga. A la espera de estos datos, la mayoría de los autores recomienda hacer un tratamiento de apoyo solo en los pacientes con infección por *E. coli* productora de toxina Shiga.

TABLA N°3. RECOMENDACIONES DE TRATAMIENTOS SEGÚN LA ETIOLOGÍA DE GASTROENTERITIS

ESCHERICHIA COLI ENTEROPAGENA / ENTEROINVASIVA	Tratamiento de elección alternativa : Ciprofloxacina / Cotrimoxazol	Eficacia del tratamiento : Posible
ESCHERICHIA COLI ENTEROTOXIGENICA	Ciprofloxacina/ azitromicina/ cotrimoxazol	Probado
ESCHERICHIA COLI ENTEROHEMORRAGICA	No probado.	No

(Fuente: Smith B. y Acute A. 2014: 189)

3.1.1.Ciprofloxacina.

3.1.1.1. Farmacocinética

- ✓ Absorción: se administra por vía oral e intravenosa. Después de una dosis oral, la ciprofloxacina se absorbe rápidamente en el tracto digestivo, 70% de la dosis, alcanzándose las concentraciones plasmáticas máximas en 0.5 a 2.5 horas. Cuando el fármaco se administra con la comida, se retrasan

las concentraciones máximas, pero la absorción global no queda afectada. Las concentraciones plasmáticas se mantienen durante 12 horas por encima de las concentraciones mínimas inhibitorias para la mayoría de las bacterias.

- ✓ Distribución: ampliamente por todo el organismo, siendo mínima su unión a las proteínas del plasma.

- ✓ Metabolización: experimentando un mínimo metabolismo de primer paso.

- ✓ Eliminación: El 50% de la dosis oral de ciprofloxacina es excretada por vía renal como fármaco sin alterar. En los pacientes con la función renal normal la semi-vida de eliminación es de 3-5 horas, pero puede aumentar a 12 horas en sujetos con insuficiencia renal. La excreción fecal alcanza el 20-40% de la dosis.

3.1.1.2. Farmacodinamia

Mecanismo de acción: los efectos antibacterianos de la ciprofloxacina se deben a la inhibición de la topoisomerasa IV y la DNA-girasa bacterianas. Estas topoisomerasas alteran el DNA introduciendo pliegues súper helicoidales en el DNA de doble cadena, facilitando el desenrollado de las cadenas. La DNA-girasa tiene dos subunidades codificadas por el gen *gyrA*, y actúan rompiendo las cadenas del cromosoma bacteriano y luego pegándolas una vez que se ha formado la súperhélice. Las quinolonas inhiben estas subunidades impidiendo la replicación y la transcripción del DNA bacteriano, aunque no se conoce con exactitud porqué la inhibición de la DNA-girasa conduce a la muerte de la bacteria. Las células humanas y de los mamíferos contienen una topoisomerasa que ac-

túa de una forma parecida a la DNA-girasa bacteriana, pero esta enzima no es afectada por las concentraciones bactericidas de la ciprofloxacina.

3.1.1.3. Reacciones Adversas

En general la ciprofloxacina es bien tolerada siendo la incidencia de las reacciones adversas graves inferior al 5%. La ciprofloxacina se debe utilizar con precaución en niños de menos dieciséis años debido a las artralgias que pueden desarrollar, en particular cuando éstas están asociadas a fibrosis quística.

Se han comunicado efectos gastrointestinales hasta en el 10% de los pacientes tratados con ciprofloxacina. Estos consisten en náuseas y vómitos, diarrea y dolor abdominal, siendo más frecuentes en la tercera edad y con las dosis más elevadas.

Se han comunicado convulsiones, aumento de la presión intracraneal y psicosis tóxica con todas las quinolonas incluyendo la ciprofloxacina. También puede ésta ocasionar confusión, depresión, mareos, alucinaciones, temblores y muy raramente, ideas de suicidio, reacciones que pueden aparecer ya después de la primera dosis. En este caso, se debe discontinuar el tratamiento, tomando las medidas adecuadas.

Se han documentado varios casos de ruptura del tendón de Aquiles después del tratamiento con ciprofloxacina. (Vademécum IQM, 2012: en línea)

3.1.1.4. Interacciones

Ciprofloxacina reduce el aclaramiento hepático de la cafeína y de la teofilina, pudiendo desarrollarse síntomas tóxicos como náuseas/vómitos, nerviosismo, ansiedad, taquicardia o convulsiones. Esta interacción es dosis-dependiente, por lo que los sujetos que consuman grandes cantidades de café deben prestar particular atención.

La absorción oral de la ciprofloxacina es afectada por las sales de aluminio, calcio, hierro y zinc, en particular si estas se administran en una hora antes de la ciprofloxacina. En particular, la ciprofloxacina forma complejos muy estables con las sales de aluminio que reducen sustancialmente su biodisponibilidad. Aunque se desconoce si el subsalicilato

de bismuto interfiere con la absorción de la ciprofloxacina, se recomienda espaciar en 4-5 horas la administración de ambos fármacos. El sucralfato también puede reducir la biodisponibilidad de la ciprofloxacina aunque se desconoce, por el momento, el mecanismo de esta interacción.

Aunque en voluntarios sanos la ciprofloxacina disminuye el aclaramiento y aumenta la semi-vida del diazepam, no parece afectar los efectos farmacodinámicos de este último. En algún caso se ha comunicado el desarrollo de convulsiones al administrar ciprofloxacina concomitantemente con foscarnet, probablemente por un efecto aditivo.

El probenecid disminuye en el 50% la secreción renal de ciprofloxacina, con el correspondiente aumento de las concentraciones plasmáticas y de la semi-vida de eliminación.

Se ha comunicado un aumento del tiempo de protrombina y del INR en pacientes tratados con warfarina y ciprofloxacina, apareciendo la interacción 2 a 16 días después de iniciar el tratamiento con el antibiótico en pacientes anticoagulados estabilizados. Sin embargo, las dosis de 500 mg 2 veces al día de ciprofloxacina no parecen afectar de forma significativa el tratamiento anticoagulante.

La ciprofloxacina parece reducir el aclaramiento hepático de la mexiletina, al parecer mediante la inhibición del sistema enzimático 1A2 del citocromo P 450. Lo mismo puede ocurrir con el alosetrón, que es metabolizado mediante el mismo sistema enzimático, aunque no ha sido estudiada clínicamente la coadministración de ambos fármacos.

Las quinolonas y los análogos de la vitamina A como la tretinoína no deben ser utilizados conjuntamente por el riesgo de una fototoxicidad incrementada. (Laboratorios bo-nin, 2020?: en línea)

3.1.1.5. Contraindicaciones.

Ciprofloxacina no debe ser utilizada en pacientes con hipersensibilidad a las quinolonas. Las fluoroquinolonas producen artropatías, lo que hace necesario tomar precauciones cuando se administra en pediatría, aunque la incidencia de artralgias es inferior a 1,5% y éstas desaparecen cuando se discontinúa tratamiento. Las fluoroquinolonas han sido aso-

ciadas a rupturas de tendones, por lo que se debe discontinuar el tratamiento con ciprofloxacina tan pronto como aparezca dolor tendinoso.

Todas las quinolonas, incluyendo la ciprofloxacina deben de ser utilizadas con precaución en pacientes con enfermedades del sistema nervioso central o enfermedades cerebrovasculares, ya que son un factor de riesgo para el desarrollo de convulsiones, rebajando el umbral de aparición de estas. La ciprofloxacina es excretada en su mayoría por vía renal y debe ser utilizada con precaución en pacientes con insuficiencia renal. En estos sujetos las dosis deben ser reducidas. No es necesario un reajuste de la dosis en los pacientes de la tercera edad (> 65 años) cuya función renal sea normal. La ciprofloxacina debe ser utilizada con precaución en sujetos con enfermedades hepáticas tales como cirrosis.

La ciprofloxacina se debe administrar con precaución en pacientes que presenten deshidratación por la posibilidad de producirse cristaliuria, al concentrarse excesivamente el fármaco en la orina.

Pueden presentarse efectos adversos gastrointestinales en particular en pacientes con colitis, y puede producirse superinfecciones por gérmenes no sensibles. También puede ocurrir candidiasis. (Vademécum IQM, 2012: en línea)

3.1.1.6. Dosis.

Tratamiento de la diarrea del viajero:

Administración oral: Adultos: 500 mg cada 12 horas durante tres días. Alternativamente, una dosis única de 500 mg ha demostrado ser más eficaz que el placebo. Para la profilaxis de la diarrea, se recomiendan dosis de 500 mg una vez al día durante el período de riesgo (no más de tres semanas) y luego durante 2 días más al llegar a casa. (Boyce, 2019: en línea)

3.1.2. Cotrimoxazol.

3.1.2.1. *Farmacocinética.*

- ✓ Absorción: Oral - Sulfametoxazol y trimetoprima: Se absorbe rápida y casi completamente (del 90 al 100 %) en el tracto gastrointestinal.

Unión a proteínas: Sulfametoxazol: De moderada a elevada (60-70 %). Trimetoprima: De moderada a elevada (40-70 %).

- ✓ Distribución: Se distribuye rápida y ampliamente en varios tejidos y líquidos, incluyendo riñones, hígado, bazo, secreciones bronquiales, saliva y líquido prostático. La trimetoprima se ha encontrado en bilis, humor acuoso, médula ósea y hueso esponjoso, pero no en el hueso compacto; mucosa intestinal, y líquido seminal.

Concentraciones en bilis: Exceden las concentraciones séricas.

Concentraciones en el líquido cefalorraquídeo (LCR): Del 30 al 50 % de las concentraciones séricas. Tejido y líquido prostático: Altas concentraciones. Concentraciones en pulmón, orina y riñón: Normalmente exceden a las concentraciones séricas.

Concentraciones en secreción vaginal: Hasta 3 veces las concentraciones séricas usuales. También atraviesa la placenta y se excreta por la leche materna. V₀D = De 1,2 a 2 litros por kg.

- ✓ Metabolización: Sulfametoxazol: Hepática: Por acetilación primaria a metabolitos inactivos, que retienen la toxicidad de los compuestos principales. Puede ocurrir conjugación glucurónica en el hígado. Trimetoprima: Hepática: Del 10 al 20 % se metaboliza a metabolitos inactivos por O-desmetilación, N-oxidación del anillo, y alfa hidroxilación; los metabolitos pueden estar libres o conjugados. Vida media: Sulfametoxazol: Función renal normal: De 6

a 12 horas. Estadio final de la insuficiencia renal: De 20 a 50 horas. Trimetoprima: Función renal normal: De 8 a 10 horas. Pacientes anúricos: Hasta 20 a 50 horas. Tiempo hasta la concentración sérica media máxima: Sulfametoxazol: De 2 a 4 horas (oral). Trimetoprima: De 1 a 4 horas (oral). Tiempo hasta la concentración máxima en orina: Sulfametoxazol: 0,5 horas.

- ✓ Eliminación: Sulfametoxazol: Renal, por filtración glomerular, con alguna secreción tubular. La excreción aumenta en orina alcalina; se excretan pequeñas cantidades en las heces, bilis, secreciones corporales y leche materna.(CECMED, 2014: en línea)

3.1.2.2.Farmacodinamia

Mecanismo de acción: El Sulfametoxazol es un antiséptico bacteriostático de amplio espectro. Es un análogo estructural del ácido aminobenzoico (PABA) e inhibe competitivamente a una enzima bacteriana, la dihidropteroato sintetasa, que es responsable de la incorporación de PABA al ácido dihidrofólico. Esto bloquea la síntesis del ácido dihidrofólico y disminuye la cantidad de ácido tetrahidrofólico metabólicamente activo, un cofactor en la síntesis de purinas, timidina y ADN. Las bacterias sensibles son aquellas que han de sintetizar ácido fólico. La acción del sulfametoxazol es antagonizada por el PABA y sus derivados (por ejemplo, procaína y tetracaína) y por la presencia de pus o de detritus tisulares que proporcionan los componentes necesarios para el crecimiento bacteriano. La trimetoprima es una base débil bacteriostática estructuralmente relacionada con la pirimetamina, se une a la enzima bacteriana dihidrofolato reductasa inhibiéndola, bloqueando selectivamente la conversión del ácido dihidrofólico a su forma funcional, ácido tetrahidrofólico. Esto agota el folato, cofactor esencial en la biosíntesis de los ácidos nucleicos, lo que interfiere en la producción del ácido nucleico y proteínas bacterianas. La unión de la dihidrofolato reductasa bacteriana a trimetoprima es aproximadamente 50,000 a 60,000 veces más fuerte que la unión a la correspondiente enzima

de mamíferos. Ejerce su efecto en un estadio de la biosíntesis de folato inmediatamente posterior al estadio en el que actúan las sulfamidas. Cuando se administra simultáneamente con sulfamidas se produce sinergismo y es atribuido a la inhibición de la producción de tetrahidrofólico en dos pasos secuenciales de su biosíntesis.(CECMED,2014: en línea)

3.1.2.3. Reacciones Adversas

Puede presentarse diarrea, mareos, dolor de cabeza, pérdida de apetito, náuseas o vómito, los cuales requieren de atención médica sólo si son persistentes o molestos. Puede presentarse también sensibilidad cutánea a la luz solar, picores o rash cutáneo (hipersensibilidad) y con una incidencia menos frecuente: dolor articular y muscular (síndrome de Stevens-Johnson) dificultad al tragar (síndrome de Lyell), fiebre.(Facmed, 2007: en línea)

Entre otras:

Discrasias sanguíneas: anemia aplásica, anemia megaloblástica, trombopenia, leucopenia, anemia hemolítica púrpura, hipoprotrombinemia, metahemoglobinemia. Eritema multiforme, erupciones cutáneas generalizadas, necrólisis epidérmica, urticaria, prurito, dermatitis exfoliativa, reacciones anafilactoides, edema periorbitario, fotosensibilidad, artralgia. Glositis, estomatitis, náusea, vómitos, dolores abdominales, hepatitis, ictericia, diarrea, clitis pseudomembranosa y pancreatitis. Cefalea, neuritis periférica, depresión mental, convulsiones, ataxia, alucinaciones, tinnitus, vértigo, insomnio, apatía, fatiga, debilidad muscular, nerviosismo, fiebre medicamentosa.(Facmed, 2007: en línea)

3.1.2.4. Interacciones.

Tiazidas (se ha observado una incidencia aumentada de trombocitopenia con púrpura en pacientes ancianos bajo tratamiento con ciertos diuréticos).

Digoxina (puede presentarse una elevación en los niveles en sangre de la digoxina cuando se administra de forma concomitante).

Anticoagulantes warfarínicos (puede aumentar el efecto hipotrómbico).

Anticoagulantes derivados de cumarina o de la indandiona, anticonvulsivos del grupo hidantoína, hipoglucemiantes orales y metotrexato (puede ser necesario ajustar la dosificación durante y después del tratamiento con sulfamidas, ya que éstas pueden desplazar a estos medicamentos de su lugar de unión a proteínas y/o pueden inhibir su metabolismo, dando lugar a efectos mayores o prolongados y/o toxicidad).

Depresores de la médula ósea (se elevan los efectos leucopénicos y/o trombocitopénicos).

Anticonceptivos orales que contienen estrógenos (pueden dar lugar a menor fiabilidad del anticonceptivo y a mayor incidencia de hemorragia intermenstrual).

Hemolíticos (se eleva el potencial de los efectos secundarios tóxicos).

Medicamentos hepatotóxicos (hepatotoxicidad).

Metenamina (se aumenta el riesgo de cristaluria).

Fenilbutazona (se potencia el efecto de las pirazolonas).

Vitamina K (aumentan las necesidades de la vitamina K en pacientes que reciben sulfamidas).

Rifampicina (disminuye el tiempo de vida media de trimetoprim)

Pirimetamina: cuando esta se emplea en dosis mayores de 25 mg/día, incrementa el riesgo de anemia megaloblástica. (Facmed, 2007: en línea)

3.1.2.5. Contraindicaciones

Hipersensibilidad a la trimetoprima o a las sulfonamidas. Pacientes con anemia megaloblástica debido a deficiencias de folato.

Este medicamento está contraindicado en: Embarazo, lactancia menores de 2 meses (Vademécum, 2018: en línea)

3.1.2.6. Dosis

Adultos: Antibacteriano (sistémico): Oral, 800 mg de sulfametoxazol y 160 mg de trimetoprima cada 12 horas.

Por vía O. (suspensión) en niños de 6 semanas a 5 meses en 120 mg/12 hrs. En niños mayores a 4 meses se la dosis estándar según la edad 3 veces/ semana en días alternativos o se puede emplear 750 mg/m² de sulfametoxazol y 150 mg/m² de trimetoprim por VO cada 12 – 24 hrs. o 3 veces a la semana. Diarrea bacteriana: tratamiento por 3 a 5 días.

Por vía IV la dosis es de 960 mg cada 12 hrs. . En niños la dosis es 36/mg/kg/d en dos dosis divididas. (Vademécum, 2018: en línea)

3.1.4. Tratamiento Preventivo

La utilización de fármacos no antibióticos para la prevención de diarrea del viajero merece alguna consideración. Aunque diferentes probióticos y prebióticos han sido evaluados con el objetivo de prevenir la diarrea del viajero, hasta ahora los datos no son concluyentes y no hay suficiente evidencia científica para avalar su recomendación. Tanto lactobacillus acidophilus (Giddings, et.al, 2016:317) como el subsalicilato de bismuto

(Steffen, et.al, 2011:635) han demostrado modesta eficacia en la prevención de diarrea del viajero. Este último fármaco en estudios realizados en Norteamérica muestra una reducción del 65 % en la diarrea del viajero si se toma 4 veces al día durante el viaje (Lundkvist y Jonsson, 2009:28). Aunque en general es un medicamento con un buen perfil de seguridad, dado su contenido en salicilatos su uso debe ser evitado en pacientes con tratamiento con anticoagulantes orales o antiagregantes tipo AAS. Además, la necesidad de tomarlo 4 veces al día lo hace poco práctico. (Vila, et.al, 2016: en línea)

3.1.4.1. Subsalicilato De Bismuto

✓ Propiedades farmacológicas

Sal insoluble de bismuto trivalente y ácido salicílico con propiedades adsorbentes y antidiarreicas. Este efecto depende de su capacidad para aumentar la absorción intestinal de líquidos y electrolitos y, cuando se hidroliza a ácido acetilsalicílico, de su acción para inhibir la síntesis de las prostaglandinas que causan la inflamación e hipermotilidad intestinal. Además, adsorbe las toxinas producidas por *Escherichia coli*. También tiene efecto antiácido débil. El subsalicilato de bismuto y sus productos intestinales, oxiclورو de bismuto e hidróxido de bismuto, tienen cierta acción bactericida. El subsalicilato de bismuto no se absorbe por la mucosa gastrointestinal, o lo hace en cantidad mínima. Sin embargo, una porción considerable se hidroliza en el estómago, donde se forman oxiclورو de bismuto y ácido salicílico, que sí se absorben. El salicilato absorbido se elimina considerable se hidroliza en el estómago, donde se forman oxiclورو de bismuto y ácido salicílico, que sí se absorben. El salicilato absorbido se elimina por vía renal. En el intestino se forman otras sales insolubles de bismuto que oscurecen las heces.

✓ Indicaciones

Diarrea moderada inespecífica; prevención y tratamiento de la diarrea del viajero'; úlcera duodenal y gastritis asociadas a *Helicobacter pylori*.

✓ Contraindicaciones y precauciones

Contraindicado en pacientes con hipersensibilidad a los componentes de la formulación, úlceras sangrantes, estados hemorrágicos, disentería aguda, gota, hemofilia. Puede disminuir la absorción intestinal de tetraciclinas y el efecto uricosúrico de la sulfonpirazona. La administración crónica aumenta el efecto de los anticoagulantes fibrinolíticos.

✓ Reacciones adversas

Frecuentes: coloración grisácea de lengua y heces, impacción fecal en niños y en pacientes debilitados.

Poco frecuentes: náusea, vómito.

Raras: con dosis altas o administración crónica, encefalopatía bismútica, estreñimiento intenso y manifestaciones de salicismo.

✓ Advertencias para el paciente

En casos de diarrea, mantener una ingestión adecuada de agua y una dieta apropiada. Consultar al médico si las manifestaciones diarreicas no mejoran en dos días o si la diarrea se acompaña de fiebre.

✓ Vía de administración y dosis

Adultos:

Oral. Diarrea moderada, inespecífica. 500 a 600 mg cada 30 o 60 min hasta un máximo de ocho dosis (4.2 g) en 24 h y por no más de dos días.

Prevención y tratamiento de la diarrea del viajero. Profilaxis, 500 a 600 mg cuatro veces al día durante las dos primeras semanas del viaje. (Vademécum, 2020: en línea)

3.2. Tratamiento No Farmacológico

Las personas que sufren diarrea del viajero deben beber siempre abundante cantidad de líquido.

3.2.1. Prevenir La Deshidratación

Es la medida crucial que permite reducir las hospitalizaciones con administración por vía oral de soluciones con agua, sal y azúcar. (Wanke. CA, 2015)

Las Soluciones de Rehidratación Oral se basan en que en muchas enfermedades diarreicas el intestino sigue siendo capaz de absorber agua, si la glucosa y la sal están presentes a través del cotransportador de sodio – glucosa que permanece intacto. (Santo, et.al .2014) (Archivos Venezolanos de Puericultura y Pediatría, 2009: en línea)

3.2.2. Probióticos

Para favorecer la recolonización intestinal con la flora no patógena y acortar la duración de la diarrea se puede emplear como tratamiento adicional. Se ha demostrado su utilidad en diarrea del viajero provocada por Escherichia Coli (Archivos Venezolanos de Puericultura y Pediatría, 2009: en línea)

- Yogur, contiene ácido láctico que ayuda a mejorar nuestro estado gastrointestinal, así de esta manera poder conllevar la enfermedad. (Iria R., 2020: en línea).
“Sin embargo hay a quienes los lácteos les vienen peor en una crisis de diarrea. Es mejor recurrir a probióticos de venta libre que fácilmente podrás encontrar en

las farmacias. Existen de diversas marcas y todas son seguras''. (Suárez, 2020?: en línea)

- Aceitunas y alimentos encurtidos, aunque tengan un número no muy alto de bacterias lácteas y levaduras, no es nada despreciable. (Iria R., 2020: en línea)

3.2.3. Alimentación Astringente

Una forma efectiva de eliminar la diarrea es consumiendo alimentos que contribuyan a contraer los tejidos intestinales y a desinflamar. Estos alimentos astringentes pueden ser la guayaba, papa, calabaza, arroz y manzana cocida. Una fruta que también tiene esta facultad es el plátano.

Una gelatina, sopa de verduras y el agua de coco son también alimentos que pueden ayudarnos y que además hidratan el cuerpo para detener la diarrea.

Debes también consumir muchos líquidos y de preferencia un suero. Puedes hacer uno casero o comprar alguno en cualquier tienda. Puede ser una bebida para deportistas, pero un suero será más efectivo.

Otro alimento que te ayudará a eliminar la diarrea es un plato de maicena. O puedes combinar la patata con arroz y pollo cocido para saciarte y no atacar más tu estómago, pues es importante que no consumas alimentos altos en grasas ni mucho menos irritantes. (Hontoria, 2019: en línea)

CAPÍTULO 4

DIAGNOSTICO DE LABORATORIO

El diagnóstico microbiológico de los procesos enterocolíticos causados por los diferentes serogrupos enterovirulentos de *Escherichia coli* diarreogénicas se ve complicado por el hecho de la microbiota intestinal del ser humano. (Vila J., et.al ,2016: en línea). El agar macConkey se incorpora normalmente en los coprocultivos y se puede utilizar para el aislamiento de la bacteria. Una vez identificado como *Escherichia coli* se pueden detectar los diversos serogrupos de *Escherichia coli* diarreogénicas mediante la detección de los genes que codifican los diversos factores de virulencia. Sin embargo la identificación de estos tipos de *Escherichia coli* queda fuera de práctica rutinaria de la mayoría de los laboratorios.(Cercenado, Cantón ,2008:2)

4.1. Aislamiento, Identificación y Caracterización de *Escherichia coli* Patógena

Para el aislamiento, la identificación y la caracterización de cepas de *Escherichia coli* se aplican métodos tradicionales, métodos *in vivo* e *in vitro* y de biología molecular; a continuación se mencionarán los métodos tradicionales y los de biología molecular.

El método tradicional es el aislamiento de la bacteria, tomada directamente de materia fecal o con hisopo rectal. Después se siembra con la punta del hisopo en la parte superior de una placa de agar Mac Conkey u otro medio selectivo y, con una asa redonda de nicromel, se continúa el aislamiento, sembrando por estría cruzada; después se incuba a 37

°C durante 18-24 h. Posteriormente se seleccionan de 5 a 10 colonias típicas de *Escherichia coli* lactosa positivas.

En muestras provenientes de casos de diarrea con sangre se deben seleccionar también cepas lactosa negativa que pudieran ser *Escherichia coli* enteroinvasora.

La identificación se hace mediante pruebas bioquímicas en tubo como TSI, LIA, MIO, citrato, sorbitol, mucato, urea, rojo de metilo, Voges Proskauer, malonato y caldo manitol-rojo de fenol. Simultáneamente se siembra la cepa en tubos de agar base sangre, sin sangre para posteriormente hacer la serología.

Cuando se sospecha la presencia de *Escherichia coli* Shiga - toxigenica, en muestras provenientes de diarrea con sangre, el diagnóstico se hace empleando agar Mac Conkey con 1% de sorbitol (SMAC) en lugar de lactosa, se seleccionan de tres a 10 colonias sorbitol negativo que son incoloras y sospechosas de ser O157:H7. Este agar se debe considerar sólo como un medio de selección y nunca como una forma definitiva de diagnóstico ya que no todas las cepas sorbitol negativo son *Escherichia coli* O157:H7 y hay cepas no-O157:H7 que son sorbitol positivo.

Para aumentar la posibilidad de aislar *Escherichia coli* O157:H7 se puede efectuar un preenriquecimiento selectivo de 4 h, o de toda la noche, en medio de soya tripticaseína suplementado con 50 ng/ml de cefaxima y 40 µg/ml de vancomicina. El medio Mac-Conkey - sorbitol se puede hacer selectivo y diferencial si se adicionan cefaxima y teluritro que permiten el crecimiento de *Escherichia coli* O157:H7 pero inhibe, parcial o totalmente, el crecimiento de otras cepas *Escherichia coli*. También se puede usar novobiocina para aumentar la selectividad del medio. En el laboratorio se debe tener cuidado con el número de resiembras que se hacen a las cepas después del primoaislamiento, ya que la estabilidad de la capacidad toxigénica de la bacteria varía de un microorganismo a otro y se pierde con un alto número de pases.

La identificación del grupo *Escherichia coli* shiga - toxigenica se puede hacer por serotipificación o bien por poner de manifiesto la producción de la toxina shiga también se puede cuantificar la elevación de anticuerpos dirigidos hacia el lipopolisacárido de *Escherichia. coli* O157:H7, así como demostrar la presencia de factores de virulencia como O157, el fenómeno de A/E o los genes involucrados, además de la fagotipificación.

La demostración de la producción de las toxinas termolabiles y Shiga - toxigenicas de *Esxherichia coli* se puede realizar por un modelo *in vitro* que permita observar el efecto citopático en cultivo de células Vero (células de riñón de mono verde), CHO (células de ovario de hamster chino) o HeLa (células de carcinoma cérvico-uterino). Para ello se requiere sembrar la cepa pura aislada del caso de diarrea en medio de Craig e incubar 24 h a 37°C, posteriormente por filtración se separan las bacterias del sobrenadante que contiene la toxina, y se adicionan 20µl del sobrenadante a cultivos confluentes de células Vero. La toxina y las células se dejan en contacto hasta observar la aparición de un efecto citotónico (células alargadas) en el caso de toxina termolabil o bien efecto citotóxico (células redondas y muertas) debido a la toxina Shiga.

La caracterización y clasificación de cepas patógenas de *Escherichia coli* se puede hacer con métodos de biología molecular, una de las herramientas de diagnóstico más recientes, tal es el caso del uso de sondas para la hibridación en fase sólida como es el "colony blot". Las sondas son fragmentos pequeños de DNA que contienen parte de los genes que codifican para algún factor de virulencia y pueden estar marcadas radioactivamente con P o no radiactivamente con biotina o digoxigenina y se pueden usar en ensayos sensibles y específicos para detectar cepas patógenas de interés clínico. Actualmente para *Escherichia. coli* hay sondas específicas para la toxina termolábil y termoestable del grupo *Escherichia coli* enterotoxigenica, para la fimbria Bfp de *Escherichia coli* enteropatogena, para el locus asociado con invasividad (*ial*) de *Escherichia coli* enteroinvasiva y para la enterohemolisina (*hlyA*) de *Escherichia coli* Shiga - toxigenica, entre otros factores de patogenicidad característicos de las bacterias.

Otro método es la reacción de polimerización en cadena (PCR), una hibridación en fase líquida, en donde la hibridación se realiza entre el DAN blanco presente en la muestra y el iniciador, que es una secuencia conocida de un fragmento específico de un gene involucrado en la patogenicidad de cepas de *Escherichia coli*. La muestra puede ser una cepa pura aislada de muestra clínica obtenida de un caso aislado de diarrea o bien de brotes, de viajeros, de peregrinos o durante desastres naturales. También puede ser materia fecal o alimentos implicados en brotes en los que se necesita confirmar la presencia de *Escherichia coli*. La cepa se siembra por estría y se incuba durante 24 h; a continuación se resuspenden cinco colonias de bacterias en 0.2 ml de agua y se somete a ebullición para desnaturalizar el DNA. De la suspensión se toma una alícuota para el tubo donde se realiza la PCR. Los reactivos necesarios para la PCR de cada muestra son adenina, timina, citocina, guanina, MgCl₂, iniciadores y enzima Taq (*thermus aquaticus*) polimerasa.

La síntesis *in vitro* del fragmento de DNA o amplificación se efectúa mediante cambios de temperatura en tres fases: una de desnaturalización, una de hibridación y fase de alargamiento, cuyas condiciones serán diferentes en función del gene que se desea amplificar. Al finalizar la amplificación se toman alícuotas y se someten a electroforesis en gel de agarosa para observar la presencia del producto amplificado. En esta prueba se requiere una área destinada a la preparación de las muestras para PCR y otra sólo para productos de PCR, ya que se debe evitar posibles contaminaciones con productos de PCR que puedan interferir en el resultado de la prueba y dar falsos positivos.

La electroforesis de campo pulsado es un método de biología molecular que cada vez se emplea más con fines epidemiológicos, debido a que separan largos fragmentos de DNA que se obtienen al digerir DNA genómico con enzimas de restricción que realizan cortes poco frecuentes. Los patrones de bandas generados por la electroforesis de campo pulsado se han usado en el análisis de microorganismos como *E. coli*, provenientes de casos aislados y brotes, para establecer o descartar su posible relación filogenética. Por esta razón es necesario contar con una colección de cepas, en este caso de *E. coli*, que nos

permita realizar el análisis, y determinar la relación que hay entre las clonas patógenas circulantes de este microorganismo.

4.2. Importancia y Justificación De La Solicitud De Exámenes De Laboratorio

En el presente trabajo se busca mostrar la importancia de las características patológicas, microbiológicas y farmacológicas de las cepas de *Escherichia coli* patógena a nivel intestinal, ya que puede ser el comienzo de una complicación extraintestinales fatal en el grupo más susceptible de personas, como lo son niños, inmunosuprimidos y ancianos. Por otro lado se quiere observar la disponibilidad de métodos de diagnóstico adecuados para dichas cepas patógenas a diferencia de las bacterias comensales del mismo género, lo cual pueden ser un limitante al diagnóstico precoz de dichas patologías.

4.3. Fundamento Bioquímico de las Pruebas Necesarias para el Hallazgo de la Bacteria *Escherichia coli* .

- Agar MacConkey con Sorbitol

En este medio se reemplazado la cantidad de lactosa por igual cantidad de sorbitol , logrando así un medio nutritivo, selectivo y diferencial en base a la fermentación del sorbitol.

Los microorganismos fermentadores de sorbitol crecen observándose como colonias rosadas rojizas ya que por fermentación del sorbitol disminuye el pH alrededor de la colonia . esto produce un viraje del color del indicador de pH (rojo neutro), la absorción en las colonias, y la precipitación de las sales biliares.

FIGURA N°3. ESCHERICHIA COLI SEMBRADA EN AGAR MacConkey



(Fuente: Tharwat,2017: en línea.)

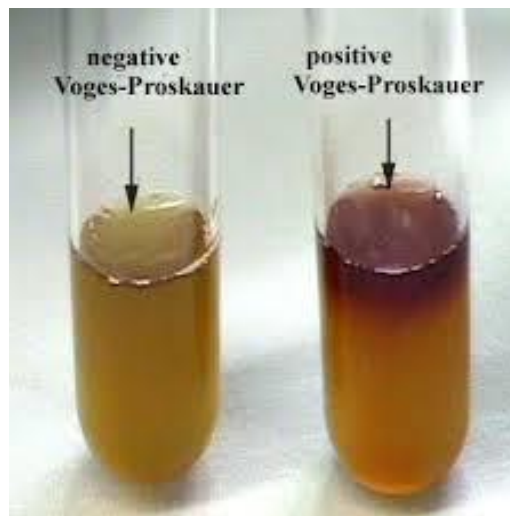
pruebas bioquímicas:

- Prueba de rojo de metilo y Voges - Proskauer.

En el medio de cultivo, La pluripeptona aporta los nutrientes necesarios para el desarrollo bacteriana y la glucosa es el hidrato de carbono fermentable; La glucosa es fermentada por los microorganismos, a través de las distintas guías metabólicas. Según la vía utilizada, se originan productos finales de ácido(ácido láctico, ácido acético, ácido fórmico), o productos finales neutros (acetil, metil, carbinol). (Lab. Britania , 2015: en línea)

Esta diferencia en el metabolismo bacteriano, es reconocida por la adición de un indicador como rojo de metilo, para revelar la presencia de productos ácidos, y por la adición de alfa naftol e hidróxido de potasio para evidenciar la presencia del producto final neutro. (Lab. Britania , 2015: en línea)

**FIGURA N° 4. PRUEBA DE ACETOINA EN REACTIVO
VOGES - PROSKAUNES**



(Fuente: Voges Proskauer Test, 2010: en línea)

-Triple Sugar Iron (TSI)

En el medio de cultivo, el extracto de carne y pluripectona, aportan los nutrientes adecuados para el desarrollo bacteriano; La lactosa, sacarosa y glucosa son los hidratos de carbono fermentables. El tiosulfato de sodio es el sustrato necesario para la producción de ácidosulfhídrico, el sulfato de hierro y amonio, es la fuente de iones Fe^{+3} , los cuales se combinan con el ácidosulfhídrico y producen sulfuro de hierro de color negro, El rojo de fenol es el indicador de pH y el cloruro de sodio mantiene el balance osmótico, el agar es el agente solidificante. (Britanialab, 2002?: en línea)

Por fermentación de azúcares se producen ácidos que se detectan por medio del indicador rojo de fenol, el cual vira a color amarillo en medio ácido. El tiosulfato de sodio se reduce a sulfuro de hidrogeno que reacciona luego con una sal de hierro proporcionando el típico sulfuro de hierro de color negro.´´ (En el caso de la bacteria E. coli se observa un cambio de color amarillo lo cual indica que fermenta los tres tipos de azúcares, una producción de gas y una ausencia de SH_2 ´´(Britanialab, 2002?: en línea)

FIGURA N°5. TUBOS CON REACTIVO TSI SEMBRADOS



(Fuente: García, 2014: en línea)

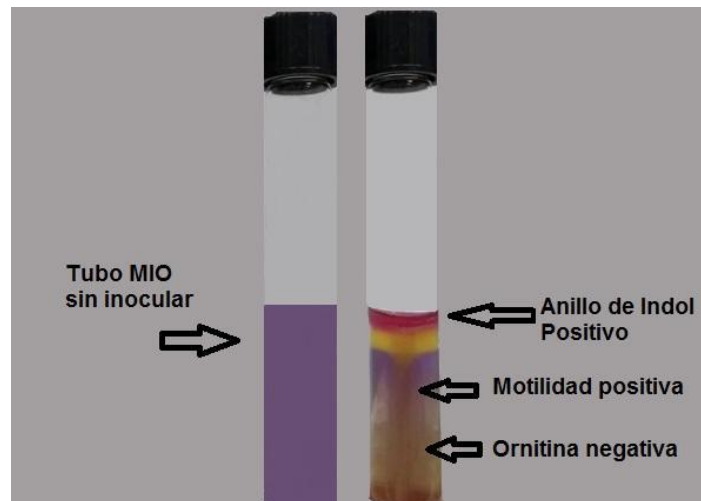
-Motilidad Indol Ornitina (MIO)

Medio de cultivo altamente nutritivo por la presencia de extracto de levadura, peptona y tripteina. La tripteina aporta gran cantidad de triptófano, sustrato de la enzima triptófanas a partir del cual se forma indol que puede ser revelado con el reactivo Erlich o kovac's por la formación de un compuesto color rojo. (Britanialab, 2002?: en línea)

La glucosa es el hidrato de carbono fermentable, la ornitina es el sustrato para la detección de la enzima ornitina descarboxilasa , el purpura de bromocresol es el indicador de pH, que en medio alcalino es de color purpura y en medio acido es amarillo el agar es el agente solidificante y a esta concentración le otorga al medio la propiedad de ser semisólido, condición necesaria para detectar la movilidad, que se evidencia por el enturbiamiento del medio, o por crecimiento que difunde más allá de la línea de inoculación del microorganismo en estudio . (Britanialab, 2002?: en línea)

Los microorganismos fermentadores de glucosa acidifican el medio de cultivo y producen viraje de color purpura al amarillo. Las condiciones de acidez son favorables para la actividad enzimática ornitina descarboxilasa, que actúa sobre la ornitina generando putrescina, con la consecuente alcalinización del medio de cultivo y viraje de color purpura.(Britanialab, 2002?: en línea)

FIGURA N°6. REACTIVO MIO (MOTILIDAD – INDOL – ORNITINA)



(Fuente: Gil, 2020?: en línea)

- Lisina Hierro Agar (LIA)

En el medio de cultivo, la peptona y extracto de levadura , aporta los nutrientes para el desarrollo bacteriano, la glucosa es el hidrato de carbono fermentable y la lisina es el sustrato utilizado para detectar la presencia de las enzimas descarboxilasa y deaminasa , el citrato de hierro y amonio y el tiosulfato de sodio con los indicadores de la producción de ácido sulfhídrico , el púrpura de bromocresol , es el indicador de pH (su color es amarillo a pH igual o menor a 5.2 violeta pH igual o mayor a 6.8) y el agar es el gel solidificante. (Lab. Britania , 2015: en línea)

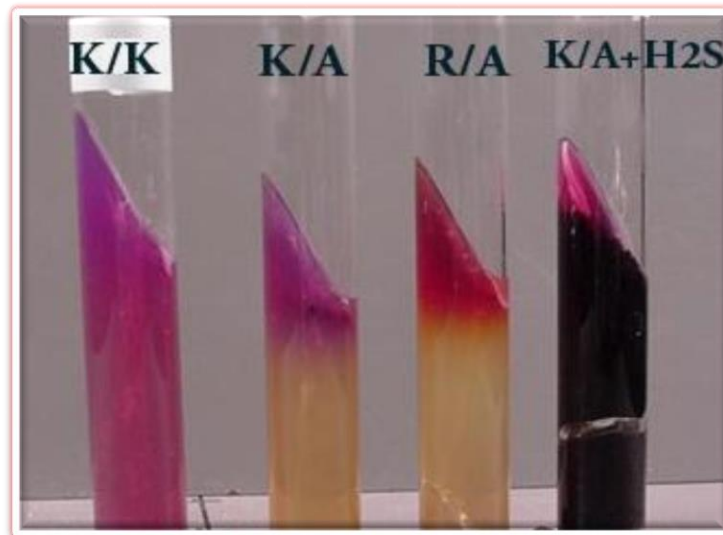
Los microorganismos fermentadores de glucosa acidifican el medio y provocan el viraje de color púrpura al amarillo. (Lab. Britania , 2015: en línea)

El ambiente ácido favorece la actividad enzimática descarboxilasa y se metaboliza la lisina a cadaverina elevando el pH del medio de cultivo y tornándolo a color púrpura o violeta. (Lab. Britania , 2015: en línea)

Los microorganismos fermentadores de la glucosa que no tiene actividad lisina descarboxilasa, producen un viraje de la totalidad del medio de cultivo a color amarillo. A la 24 hrs de incubación se observa en el fondo del tubo color amarillo y la superficie color violeta debido al consumo de las peptonas que producen alcalinidad.

La generación de sulfuro de hidrogeno, se visualiza por el ennegrecimiento del medio debido a la formación de sulfuro de hierro. (En este caso el género E. coli solo descarboxila lisina. (Lab. Britania , 2015: en línea)

FIGURA N° 7 LISINA – HIERRO - AGAR



(Fuente: Dalguerre, 2014: 23)

-Simmons citrato agar

En el medio de cultivo, el fosfato monoamónico es la única fuente de nitrógeno y el citrato de sodio es la única fuente de carbono. Ambos componentes son necesarios para el desarrollo bacteriano. Las sales de fosfato forman un sistema buffer, el magnesio es co-factor enzimático. El cloruro de sodio mantiene el balance osmótico, el azul de bromotimol es el indicador de pH, que vira al color azul en medio alcalino y el agar es el agente solidificante. (Lab. Britania, 2015: en línea)

El medio de cultivo es diferencial en base a que los microorganismos capaces de utilizar citrato como única fuente de carbono usan sales de amonio como única fuente de nitrógeno, con la consiguiente producción de alcalinidad. (Lab. Britania, 2015: en línea)

El metabolismo de citrato se realiza, en aquellas bacterias poseedoras de citrato permeasa, a través del ciclo de ácido tricarboxílico. El desdoblamiento del citrato genera progresivamente, oxalacetato y piruvato. Este último, en presencia de un medio alcalino, da origen a ácidos orgánicos que al ser utilizados como fuente de carbono, producen carbonatos y bicarbonatos alcalinos. El medio entonces vira al azul y esto es indicativo de la producción de citrato permeasa. (Lab. Britania, 2015: en línea)

-Prueba de Biología molecular

Colony blot es la transferencia del DNA de una colonia de bacterias a una fase sólida que puede ser nylon, papel filtro o nitrocelulosa, para su posterior hibridación. Para esto las colonias puras, previamente aisladas de pacientes con diarrea, se inoculan directamente en forma ordenada sobre una placa de agar Luria y se incuban 4 h a 37 °C. Después de este tiempo se coloca la membrana de nylon sobre la superficie de la placa con las colonias en crecimiento y se incuba toda la noche.

Las bacterias se rompen sobre la membrana y el DNA se desnaturaliza al colocar ésta en una solución de hidróxido de sodio para posteriormente fijarle el DNA. La hibridación se realiza con una sonda marcada con digoxigenina, la cual es un fragmento de un gen de virulencia específico, y se pone de manifiesto empleando un anticuerpo antidigoxigenina conjugado a la enzima fosfatasa alcalina, cuyo sustrato es el BCIP (sal de p - toluídina 5-bromo-4-cloro-3`-indolilfosfato), y el NBT (Cloruro de nitroazul de tetrazolio) es el cromógeno que desarrolla un color negro o café cuando se incuba la membrana a temperatura ambiente y en la oscuridad.

- Prueba de Reacción en cadena de la polimerasa

La prueba de PCR (reacción en cadena de la polimerasa), está basada en la amplificación de las secuencias de ADN a través de la PCR, usando cebadores específicos para cada tipo de secuencia. El polimorfismo detectado resulta de la variabilidad en la repetición de dichas secuencias y de la distancia entre copias contiguas, causadas por inserciones o deleciones del ADN. Usando estas secuencias ha sido posible, discriminar serotipos estrechamente relacionados de la misma especie, y grupos de cepas no relacionadas clonalmente, ya que poseen un gran poder discriminatorio

4.4.Recomendación Para La Obtención De La Muestra

4.4.1. Material Necesario

- Recipiente de boca ancha para recoger las heces, no es necesario que esté estéril, solo es preciso que esté limpio. No contendrá restos de jabones, detergentes, desinfectantes o iones metálicos.

- Recipiente estéril de boca ancha y cierre hermético para enviar la muestra. (Ejemplo: frasco de urocultivos). La muestra de heces para colocar en el frasco se recoge con espátula o bajalenguas.

- Medios de transporte para heces. Se emplean solo si el envío de la muestra se demora y se solicita en laboratorio de Microbiología. Existen sistemas comerciales para bacterias. (CaryBlair o solución de glicerol tamponado) (Materias fecales coprocultivo - lebbiac, 2020?, en línea)

4.4.2. Obtención De La Muestra

-Solo se procesan materias líquidas o a lo sumo pastosa.

-Si son pastosas se toma una porción del recipiente donde hayan sido emitidas y se transfieren al sistema elegido para el envío al laboratorio. Se seleccionan las partes con mucus, pus o sangre.

-En caso de heces líquidas puede utilizarse jeringa para aspirado del material fecal del recipiente en donde ha sido emitido.

-No se procesara las muestras de materias sólidas ni contaminadas con orina.

(Materias fecales coprocultivo - lebbbyac, 2020?, en línea)

4.4.3. Volumen Mínimo

Heces pastosas muestras tamaño de una nuez son muy adecuadas pues permiten realizar la mayoría de las pruebas.

Heces líquidas entre 5 y 10 ml.) materias fecales coprocultivo - lebbbyac, 2020?, en línea)

4.4.4. Transporte.

- Si la muestra no se envía en forma inmediata se debe refrigerar.
- Si se va a procesar en el plazo de 1 o 2 horas después de su emisión, no necesitan medio de transporte.
- En caso contrario se remiten las materias en un sistema de transporte para enteropatógenos.

Mientras tanto mantener refrigerada las muestras, para evitar el sobre crecimiento de la flora normal que puede enmascarar o destruir a los enteropatógenos. El frío puede afectar la viabilidad de *Shigella* spp.

- Para el estudio de toxinas de *Clostridium difficile* la muestra se puede mantener hasta 48 horas refrigerada a 4 ° en la heladera.
- Es preferible enviar las muestras para estudio virológico sin medio de cultivo, pues este diluye las partículas virales disminuyendo la sensibilidad. Si su envío se retrasa mucho utilizar medio de transporte y recipientes colocados en hielo. (Materias fecales coprocultivo - lebbbyac, 2020?, en línea)

4.4.5. Observaciones.

- Las muestras para coprocultivo, deberán tomarse antes de la administración de antimicrobianos y preferiblemente antes de tomar antidiarreicos.

- Indicar siempre el juicio diagnóstico de presunción y si el paciente es menor de un año.
- Solicitar las investigaciones especiales explícitamente (C. difficile, C. perfringens, S. aureus, etc.)
- En el caso de búsqueda de portadores de Salmonella, se deberá fundamentar adecuadamente el pedido y se necesitan 3 muestras negativas para asegurar que el paciente no es portador. (Criterios de aceptación y toma de muestra, 2002?, en línea)

4.4.6. Criterios De Aceptación De Muestras

El laboratorio debe educar a los médicos clínicos para que la solicitud de coprocultivo contenga la siguiente información fundamental para el procesamiento y la interpretación de los resultados:

- ✓ Nombre, edad y sexo del paciente
- ✓ si es mujer, indicar la presencia de embarazo.
- ✓ Existencia de patología de la vía urinaria
- ✓ método empleado en la recolección de la muestra
- ✓ diagnóstico clínico
- ✓ uso previo de antibióticos
- ✓ hora de obtención de la muestra

4.4.7. Criterios De Rechazo De Muestras.

- Tubos o contenedores de muestras sin identificación.
- Indicar el tipo de muestra o procedencia.
- No indicar el examen requerido.
- Etiquetas defectuosas.

- Muestras mal rotuladas cuando:
 - El nombre y/o apellidos no coincidan con la solicitud de exámenes
 - La identificación del tubo no sea legible.
 - Al desprender la etiqueta del tubo aparece la identificación de otro paciente. Información incompleta en solicitud de examen a muestra tenga una identificación diferente al nombre y apellido del paciente(Criterios de aceptación y toma de muestra, 2002?, en línea)

4.5. Significación Clínica De Los Hallazgos En Las Pruebas De Laboratorio.

4.5.1. Coprocultivo

En Agar MacConkey la morfología de las colonias E. coli son circulares, tamaño de mediano a grande (2mm – 4 mm), el color varia de rosado fuerte (lactosas positiva) a incolora (lactosa negativa), las cuales como se dijo anteriormente puede deberse a cepas patogénicas de esta especie. Presentan una superficie brillante, densidad opaca y elevación convexa.

En Agar EMB

Las colonias de esta bacteria en Agar Eosina Azul de Metileno tienen en demasía una coloración verde-metálico, lo cual es característico de E. coli, aunque hay otras bacterias que logran producir este color es muy tenue y escaso. Se logran ver colonias aisladas, son colonias medianas, circulares, convexas, moradas, contorno verde-metálico, bordes redondeados.

4.5.3. Pruebas Bioquímicas.

TABLA N°4 IDENTIFICACIÓN BIOQUÍMICA DE ESCHERICHIA COLI.

PRUEBA BIOQUÍMICA	% DE POSITIVIDAD
Oxidasa	0
Producción de Indol	98
Rojo De Metilo	0
Citrato Simmons	1
H ₂ s (TSI)	1
Hidrólisis De Urea	1
Acido De Glucosa	100
Gas De Glucosa	95
Fenilalanina Desaminasa	0
Lisina Descarboxilasa	90
Arginina Dihidrolasa	17
Ornitina Descarboxilasa	65
Movilidad a 36 °C	95
Fermentación De Sacarosa	50
Fermentación De Lactosa	95
Fermentación De D – manitol	98
Fermentación De D –sorbitol	94
Fermentación De Mucato	95
Fermentación De Dulcitol	60
Fermentación De Salicina	40
Fermentación De L-arabinosa	99
Fermentación De La Rafinosa	50
Fermentación De La L-ramnosa	80
Fermentación De Maltosa	95
Fermentación De D – xilosa	95
Fermentación De Trealosa	98
Fermentación De Melobiosa	75
Fermentación De Glicerol	100
Nitrato a Nitrito	100
Tartrato De Jordan	95
Utilización De Acetato	90

(Fuente: Rodriguez, 2002: 465)

CAPÍTULO 5

5. Caso Clínico

FILIACIÓN :

Edad: 86 años

Sexo: Femenino

MOTIVO DE CONSULTA: Acude al Servicio de Urgencias por presentar desde 15 días antes un cuadro de diarrea con 15 deposiciones al día

HISTORIA DE LA ENFERMEDAD:

El cuadro se acompaña de náuseas con vómitos y dolor tipo retortijón antes de las deposiciones, y se alterna con episodios de rectorragia. La paciente refiere sensación distérmica aunque no fiebre termometrada.

EXAMEN CLINICO:

Se solicitó:

- analítica ordinaria
- coprocultivo
- Examen coproparásitologico
- estudio de Clostridium difficile toxigénico.

. La analítica no muestra datos de interés. El resto de pruebas complementarias son negativas, excepto el coprocultivo en el que se aísla una cepa de Escherichia coli que fermenta el sorbitol en agar MacConkey sorbitol (SMAC) y que aglutina con el antisueero del serotipo O157:H7. Se realiza la identificación y el estudio de sensibilida. Desde el

tercer día de ingreso la paciente refiere mejoría gradual de la sintomatología gastrointestinal con cese de las deposiciones, aunque en un coprocultivo de control 6 días después se objetiva probable disbacteriosis

-EXAMEN IMAGENEOLÓGICO

Colonoscopia: En la colonoscopia se encuentran lesiones compatibles con colitis isquémica, apoyado por el informe anatómo-patológico posterior de la biopsia, y diverticulosis colónica.

-PLAN DE TRATAMIENTOS

Se pauta antibioterapia con ciprofloxacino y metronidazol vía intravenosa y dieta absoluta a la espera de los resultados de laboratorio

. La cepa, resistente a ampicilina y cotrimoxazol, y sensible a ciprofloxacino, se remite al Centro Nacional de Microbiología (CNM) para estudio toxigénico.

La disbacteriosis se trata con probióticos. Progresivamente se reintroduce dieta oral y a los 10 días se retira el metronidazol y se pasa a ciprofloxacino vía oral hasta completar 14 días de tratamiento.

-RESULTADO

Tras 15 días de ingreso se decide alta hospitalaria con control posterior donde muestra evolución satisfactoria con ausencia de síntomas.

5.1. Conclusiones

Al describir las vías de transmisión y el mecanismo de acción que este enteropatógeno utiliza para causar daño a nivel intestinal, se dejó en claro su complejidad, admirable versatilidad una vez que se vuelve patógeno produciendo diferentes sustancias y toxinas agresivas para la salud del hospedero.

La bacteria *Escherichia coli* patógena produce brote de diarreas como principal infección intestinal en seres humanos , la misma que puede agravarse si no es tratada de forma adecuada , además que se ha visto que existe una elevada resistencia que presentan las distintas cepas a variedad de antibióticos.

A partir de la investigación realizada se observó que existe una falta de rastros epidemiológicos en los últimos años en América, ya que los datos estadísticos son muy antiguos y de poca información ; lo mismo en nuestro país Bolivia no existe información precisa epidemiológica de infecciones intestinales o diarreas agudas producidas por *Escherichia coli* diferenciando las cepas que se conoce .

Con respecto al tratamiento se vio que es recomendable la terapia preventiva con probióticos y un control minucioso de la higiene y seguridad de los alimentos que se consume , en caso de tener un cuadro clínico de diarrea aguda se ve la utilización de antibióticos pero los mismos deben utilizarse en base a un antibiograma realizado en un laboratorio clínico.

Las pruebas que se recomiendan son: PCR, que detecta los genes asociados a factores de virulencia y la serotipificación que dará a conocer los diferentes serogrupos de la bacteria *Escherichia coli* patógena, dando diagnóstico confiable, certero y un pronóstico favorable de recuperación.

En el caso clínico descrito se observó una sintomatología típica de un causante como *Escherichia coli* patógena y gracias a la serotipificación se conoció al serogrupo de la cepa, en este caso *Escherichia coli* enterohemorrágica, la cual resultó sensible a la ciprofloxacina, dando una evolución favorable tras 14 días de tratamiento con dicho antimicrobiano.

5.3. Bibliografía

-Álvarez M. et.al (2008) .Diagnostico Microbiológico De Las Infecciones Gastrointestinales. Recuperado De

<https://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia30.pdf> (Fecha de consulta: 12/07/2020)

-Asociación Española de pediatría (2018). Azitromicina. Recuperado de <https://www.aeped.es/comite-medicamentos/pediamecum/azitromicina> (Fecha de consulta: 13/07/2020)

-BD EMB Agar (Eosin Methylene Blue Agar) (2013). Instrucciones de uso – Medio de placas listo para su uso. Recuperado de <https://www.bd.com/resource.aspx?IDX=8765> (Fecha de consulta:30/06/2020)

-Benvenuto V. (2017).Determinación de Escherichia coli enteropatógena (ECEP) en agua de mar del circuito de playas de la costa verde. Características de Escherichia coli. Tesis Inéditada De Licenciatura De Ciencias Biológicas. Universidad Ricardo Palma. Lima-Perú. Recuperada De http://repositorio.urp.edu.pe/bitstream/handle/urp/1016/Benvenuto_vp.pdf?sequence=1&isAllowed=y (Fecha de consulta: 25/06/2020)

-Betelguex - Christeyns (2016) Escherichia Coli: Características, Patogenicidad y Prevención (I). Recuperado de <https://www.betelguex.es/blog/2016/01/19/escherichia-coli-caracteristicas-patogenicidad-y-prevencion-i/> (Fecha de consulta: 23/06/2020)

Blanco J. (2011). *Escherichia coli* enteroagregativa O104:H4-ST678 productora de Stx2a. ¡Diagnóstico microbiológico ya, de este y otros serotipos de STEC/VTEC!. Recuperado de <https://www.elsevier.es/es-revista-enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica-28-articulo-escherichia-coli-enteroagregativa-o104h4-st678-productora-S0213005X11003041> (Fecha de consulta: 29/07/2020)

-Britanialab (2020?). EMB Agar (con Eosina y Azul de Metileno) – Laboratorio Britania
https://www.britanialab.com/back/public/upload/productos/upl_5a28240e1c004.pdf

(Fecha de consulta:15/07/2020)

Lab. Britania (2015). Simmons citrato agar. Recuperado de

https://www.britanialab.com/back/public/upload/productos/upl_5a29779bd2be8.pdf

(Fecha de consulta: 25/07/2020)

-Boutier G. (2018). Mapa epidemiológico de resistencia antimicrobiana de los agentes bacterianos aislados en el hospital Santa Bárbara. Universidad Mayor, Real y Pontificia de San Francisco Xavier de Chuquisaca Facultad de Ciencias Químico Farmacéuticos y Bioquímicos Carrera de Bioquímica. Sucre - Bolivia. Recuperado de <file:///C:/Users/usuario/Downloads/155-Texto%20del%20art%C3%ADculo-484-1-10-20190728.pdf>

-Boyce T. (2019). Diarrea del Viajero. University of North Carolina School of Medicine. Recuperado De <https://www.msdmanuals.com/es/hogar/trastornos-gastrointestinales/gastroenteritis/diarrea-del-viajero> (Fecha de consulta: 10/07/2020)

-Bush L. (2018). Infecciones por Escherichia coli – Infecciones – Manual MSD Versión Para Público General. Recuperado De <https://www.msdmanuals.com/es/hogar/infecciones/infecciones-bacterianas-bacterias-gramnegativas/infecciones-por-escherichia-coli> (Fecha de consulta: 09/07/2020)

-Canet J. (2016) Escherichia coli: Características, Patogenicidad y Prevención (II) . Recuperado de <https://www.betelgeux.es> (Fecha de consulta: 10/07/2020)

-Cantón R. (2010). Lectura: Interpretada Del Antibiograma: Una Necesidad Clínica. Servicio de Microbiología, Hospital Ramón y Cajal.Madrid, España. Recuperado De <https://www.elsevier.es/es-revista-enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica-28-articulo-lectura-interpretada-del-antibiograma-una-S0213005X1000087X> (Fecha de consulta: 13/07/20)

-CECMED (2014) CO – TRIMOXAZOL Forma Farmacéutica- Cecmed. Recuperado De https://www.cecmecmed.cu/sites/default/files/adjuntos/rcp/0688-3_co-trimoxazol.pdf (Fecha de consulta: 12/07/2020)

Clements A, et. al (2012) .Estrategias de infección de Escherichia coli patógena entérica. Recuperado de <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.4161/gmic.19182> (Fecha de consulta : 15/07/2020)

-Eslava C., et.al (2020?). Escherichia Coli Microorganismo de Gran Versatilidad Clonal. Mexico. Recuperado de <https://www.asieslamedicina.org.mx/escherichia-coli-microorganismo-de-gran-versatilidad-clonal-comensal-benefico-y-patogeno-virulento/?pdf=2738> (Fecha de consulta: 29/06/2020)

-Farfán A., et.al. Revista Chilena De Infectología (2016) Mecanismos De Virulencia de Escherichia coli Enteropatógena. Recuperado De https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0716-10182016000400009&Ing=es&nrm=iso (Fecha de consulta: 25/06/2020)

-Farfán A., et.al., (2016). Mecanismos De Virulencia De Escherichia coli Enteropatógena. Santiago - Chile Recuperado De https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-10182016000400009 (Fecha de consulta: 01/07/2020)

-Gavilan M., et.al , (2013). Gastroenteritis Aguda. Recuperado de <https://www.aeped.es/sites/default/files/documentos/gea.pdf> (Fecha de consulta: 06/06/2020)

Genscript (2020?). Mancha de colonia. Recuperado de <https://www.genscript.com/molecular-biology-glossary/11907/colony-blot> (Fecha de consulta: 17/08/2020)

Herrera I. , et.al (2018). Impacto de las enfermedades diarreicas agudas en América Latina. Justificación del establecimiento de un Comité de Enfermedades Diarreicas en SLIPE. Revista Latinoamericana de Infectología Pediátrica . Recuperado de

<https://www.medigraphic.com/pdfs/infectologia/lip-2018/lip181c.pdf>

(Fecha de consulta: 15/08/2020)

-Hontoria N. (2019). Alimentos Astringentes: La Lista Recomendada Cuando Sufrimos Una Gastroenteritis. Recuperado de

<https://www.sportlife.es/nutricion/articulo/alimentos-astringentes-lista-recomendada-para-una-gastroenteritis-nzm> (Fecha de consulta: 30/07/2020)

- Iria R. (2020). Nueve Alimentos Ricos En Probióticos Para Alimentar A Las Bacterias De Tu Intestino. Recuperado De <https://www.vitonica.com/alimentos/nueve-alimentos-ricos-probioticos-para-alimentar-a-bacterias-tu-intestino-1>

(Fecha de consulta: 29/07/2020)

-López J.(2013). Azitromicina: Síntesis Química, Mecanismo De Acción, Farmacocinética. Recuperado De <https://sites.google.com/a/info-farmacia.com/info-farmacia/medico-farmaceuticos/revisiones-farmaceuticas/azitromicina-sintesis-quimica-mecanismo-de-accion> (Fecha de consulta: 12/07/20)

-Laboratorios bonin (2020?). CIPROFLOXACINA GB PHARMA – Laboratorios Bonin. Recuperado De

http://laboratoriosbonin.com/index.php?id_product=109&controller=product

(Fecha de consulta: 10/07/2020)

-Los tiempos (2011). Lo Que Se Debe Saber De La Escherichia coli. Recuperado De <https://www.lostiempos.com/tendencias/bienestar/20110604/que-se-debe-saber-escherichia-coli> (Fecha de consulta: 07/07/2020)

-Materán M., et.al (2009) Archivos venezolanos de pericultura y pediatria. Terapia de rehidratación oral. Venezuela. Recuperado de http://ve.scielo.org/scielo.php?pid=S0004-06492009000400008&script=sci_abstract (Fecha de consulta: 13/07/2020)

-Martínez, et.al (2006) Tratamientos Biológicos En La Enfermedad Inflamatoria Crónica intestinal. España. Recuperado de http://scielo.isciii.es/scielo.php?pid=S1130-01082006000400006&script=sci_arttext&tlng=es (Fecha de consulta: 30/06/2020)

-Mapfre (2017). Tinción Gram. Recuperado de <https://www.salud.mapfre.es/pruebas-diagnosticas/otras-pruebas-diagnosticas/tincion-de-gram/> (Fecha de consulta: 13/07/2020)

-Pistone V. (2006). Papel De La Toxina Shiga En El Síndrome UrémicoHemolítico. Recuperado De <http://www.medicinabuenosaires.com/revistas/vol66-06/Supl-3/v66-s3-11-15.pdf> (Fecha de consulta: 30/06/2020)

-Torres M. (s.f.). Interacciones Huésped – Parasito. Flora Normal. Recuperado De <http://www.higiene.edu.uy/cefa/2008/Floranormal.pdf> (Fecha de consulta: 21/06/2020)

-Rodriguez G .(2002). Principales Características y Diagnóstico De Los Grupos Patógenos de Escherichia coli) Recuperado De http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0036-36342002000500011 (Fecha de consulta: 26/06/2020)

-Salas c., (2014). Elaboración y Evaluación Del Material Didáctico Variedades Enterovirulentas De Escherichia coli. Características Generales Del Genero Escherichia. Recuperado De https://www.zaragoza.unam.mx/wp-content/Portal2015/Licenciaturas/qfb/tesis/tesis_salas_vargas.pdf (Fecha de consulta: 25/06/2020)

Sato T, Shimonishi (2008). Características estructurales de la enterotoxina termoestable de Escherichia coli que activa la guanilil ciclasa asociada a la membrana. Recuperado

de: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1399-3011.2004.00125.x> (Fecha de consulta : 15/08/2020)

-Soria F. (2015). Escherichia coli enterohemorrágica: a propósito de dos casos. caso 631. Recuperado de <http://www.wider.es/casosclinicos/index.php/escherichia-coli-enterohemorragico-a-proposito-de-2-casos-caso-631> (Fecha de consulta: 23/06/2020)

Söderblom T, et al. (2005). Efectos de la citolisina A de la toxina de Escherichia coli sobre la estimulación inmunológica de la mucosa mediante la señalización epitelial de Ca²⁺ y el receptor tipo Toll 4. Cell Microbiol . Recuperado de <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1462-5822.2005.00510.x>

(Fecha de consulta: 15/08/2020)

-Organización Mundial De La Salud, (2018). E. coli. Recuperado De <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/e-coli> (Fecha de consulta: 03/07/2020)

-OPS (2019). OPS/OMS Colaboró Al Ministerio De Salud de Bolivia Con La Realización De Misiones De Expertos Por El Caso Arenavirus. Recuperado De https://www.paho.org/bol/index.php?option=com_content&view=article&id=2305:ops-oms-colaboro-al-ministerio-de-salud-de-bolivia-con-la-realizacion-de-misiones-de-expertos-por-el-caso-arenavirus&Itemid=481 (Fecha de consulta: 21/06/2020)

-Revista de la sociedad Venezolana de Microbiología (2009). Escherichia coli Shigatoxigénica: Patogénesis Diagnóstico y Tratamiento. Recuperado De http://ve.scielo.org/scielo.php?pid=S1315-25562009000100004&script=sci_arttext&tlng=e (Fecha de consulta: 29/06/2020)

-Santos S. (2020?). Diarrea Aguda De Naturaleza Infecciosa. Recuperado De <https://www.aegastro.es/sites/default/files/archivos/ayudas->

[practicas/39 Diarrea aguda de naturaleza infecciosa.pdf](#) (Fecha de consulta: 15/07/2020)

-Suárez A. (2020?). Como Cortar La Diarrea: 7 Remedio Eficaces. <https://psicologiaymente.com/salud/como-cortar-diarrea> (Fecha de consulta: 30/07/2020)

-Trimetoprima/Sulfametoxazol. Recuperado de http://www.facmed.unam.mx/bmnd/gi_2k8/prods/PRODS/Trimetoprima-sulfametoxazol%20Tabs.htm (Fecha de consulta: 12/07/2020)

-Vademécum IQM (2012) CIPROFLOXACINA. Argentina. Recuperado De <https://www.iqb.es/cbasicas/farma/farma04/c057.htm> (Fecha de consulta: 09/07/2020)

-Vademécum (2018). Sulfametoxazol + Trimetoprima + Bromhexima. Argentina. Recuperado De <https://www.vademecum.es/principios-activos-sulfametoxazol+%2B+trimetoprima+%2B+bromhexina-r05cz+p22> (Fecha de consulta: 12/07/2020)

-Vademécum, (2026). Bismuto, Subsalicilato De: Antidiarreicos y Electrolitos Orales. Recuperado De <https://accessmedicina.mhmedical.com/book.aspx?bookid=1552> (Fecha de consulta: 13/07/2020)

-Vargas L.,(2016) Mecanismo de Virulencia De Escherichia Coli Enteropatógena. Recuperado De <https://scielo.conicyt.cl/pdf/rci/v33n4/art09.pdf> (Fecha de consulta: 01/07/2020)

-Vidal, et.al (2007). Patogénesis molecular, Epidemiología y Diagnóstico De Escherichia Coli Enteropatógena. Recuperado de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0036-36342007000500008 (Fecha de consulta: 15/07/2020)

-Vila J. (2009) Enfermedades infecciosas y microbiológica clínica . Diagnostico Microbiológico De Las Infecciones Gastrointestinales. Recuperado De <https://www.elsevier.es/es-revista-enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica-28->

[articulo-diagnostico-microbiologico-infecciones-gastrointestinales-S0213005X09001621](#) (Fecha de consulta: 23/06/2020)

-Vila J., et.al (2016). Diarrea Del viajero. Servicio De Microbiología, Hospital Clinic, Universitat de Barcelona, Barcelona, España. Recuperado De <https://www.elsevier.es/es-revista-enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica-28-estadisticas-S0213005X16301057> (Fecha de consulta: 13/07/20)

23/06/2020)

Villalobos L. (2003). CARACTERIZACIÓN DE CEPAS DE Escherichia coli ENTE-ROINVASIVA EN UN PRODUCTO CÁRNICO. Universidad de Oriente, Núcleo de Sucre, Escuela de Ciencias. Departamento de Biología, Postgrado de Biología Aplicada. Revista Científica, FCV-LUZ / Vol. XIII. Recuperado de <https://pdfs.semanticscholar.org/bf67/47397cba1df525d3f41dedd8e7eda7a27d97.pdf>

(Fecha de consulta : 30/07/2020)