



MULTIRESISTENCIA ANTIMICROBIANA DE ESCHERICHIA COLI ENTEROPATÓGENA Y ENTEROTOXIGÉNICA, DETECTADAS EN MUESTRAS CLÍNICAS MEDIANTE REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA

ANTIMICROBIAL MULTIRESTANCE OF ENTEROTOXIGENIC AND ENTEROPATHOGENIC ESCHERICHIA COLI DETECTED IN CLINICAL SPECIMENS BY POLYMERASE CHAIN REACTION

Chávez-Bravo Edith¹
 Rivera-Tapia José Antonio²
 Castañeda-Roldán Elsa Iracena³
 Gil-Juárez Constantino⁴
 Ochoa-Huilot Miguel Ángel⁵
 Cedillo-Ramírez María Lilia⁶

Correspondencia: echb_02@yahoo.com.mx

Recibido para revisión: enero – 16 – 2012. Aceptado para publicación: marzo – 25 – 2012.

RESUMEN

Introducción: la creciente resistencia antimicrobiana de patógenos entéricos ha llamado la atención principalmente en países en vías de desarrollo, donde la prevalencia de enfermedades diarreicas agudas sigue causando grandes índices de mortalidad y morbilidad. Los patotipos diarrogénicos de E.coli: EPEC y ETEC se encuentran asociados a este tipo de enfermedades.

Objetivo: determinar la susceptibilidad antimicrobiana de los patogrupos EPEC y ETEC en muestras clínicas de pacientes con cuadro diarreico.

Material y métodos: mediante la técnica de PCR se caracterizaron 58 cepas de E.coli aisladas de niños menores a cinco años y en 45 cepas de adultos, se utilizó la técnica de difusión en disco para evaluar la susceptibilidad antimicrobiana a doce antibióticos tanto en los patotipos tipificados como en las cepas E.coli sin ninguno de los genes (E. coli SNg) testados.

Resultados: EPEC se halló en un 41% y ETEC en un 37%, predominando EPEC (42%) en las cepas aisladas de adultos y ETEC (43%) en las cepas aisladas de infantes. Los marcadores de resistencia más frecuentes fueron carbenicilina (83%), ampicilina (70%) y trimetoprim con sulfametoxazol (49%). Se encontró un elevado porcentaje (87%) de cepas resistentes al menos a un antibiótico, donde la multiresistencia de tres hasta seis antibióticos representó el 62%. En las cepas aisladas de niños se encontró una multiresistencia de EPEC (63%) y ETEC (52%) y en las cepas aisladas de adultos un 53% y 71% para EPEC y ETEC respectivamente.

¹ Bióloga. Maestría en Ciencias Ambientales. Postgrado en Ciencias Ambientales de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla (BUAP), Puebla. México.

² Biólogo. Doctorado en Ciencias Ambientales. Centro de Investigaciones en Ciencias Microbiológicas de la BUAP, Puebla. México.

³ Químico Farmacobiólogo. Doctorado en Ciencias Ambientales. Centro de Investigaciones en Ciencias Microbiológicas de la BUAP, Puebla. México.

⁴ Químico Farmacobiólogo. Maestría en Ciencias Biomédicas. Centro de Investigaciones en Ciencias Microbiológicas de la BUAP, Puebla. México.

⁵ Estudiante de la escuela de Biología. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla (BUAP), Puebla. México.

⁶ Químico Farmacobiólogo. Doctora en Ciencias Microbiológicas. Centro de Investigaciones en Ciencias Microbiológicas de la BUAP, Puebla. México.

Conclusión: los aislados de *E. coli* presentaron perfiles de resistencia similares, predominando la multiresistencia en EPEC, ETEC y *E. coli* SNG (cuatro antibióticos) reflejando la frecuente exposición de los antibióticos hacia los enteropatógenos y al mismo tiempo resalta que el incremento de la resistencia incide en la disminución de antimicrobianos eficaces disponibles. **Rev.cienc.biomed. 2012;3(1):40-48**

PALABRAS CLAVES

E. coli; EPEC; ETEC; Antibióticos; Resistencia.

SUMMARY

Introduction: Increasing antimicrobial resistance of enteric pathogens has attracted attention mainly in developing countries where the prevalence of acute diarrheal disease continues to be major cause of mortality and morbidity. Diarrheagenic pathotypes of *E. coli*, enterotoxigenic (ETEC) and enteropathogenic (EPEC) are associated with this disease.

Objective: To determine antimicrobial susceptibility of enterotoxigenic and enteropathogenic *Escherichia coli* in clinical samples from patients with diarrhea.

Material and methods: Fifty eight strains of *E. coli* isolated from children under five years, and forty five from adults were analyzed by PCR; we used disk diffusion method to evaluate antimicrobial susceptibility to 12 antibiotics in both, typified pathotypes and strains of *E. coli* without any of the tested genes (*E. coli* SNG).

Results: Enteropathogenic *Escherichia coli* was found in 41% of samples and enterotoxigenic *Escherichia coli* in 37%; the former predominating in strains isolated from adults (42%) and the last in strains isolated from infants (43%). The most common resistance markers were carbenicillin (83%), ampicillin (70%) and trimethoprim-sulfamethoxazole (49%). We found a high percentage of strains (87%) resistant to at least one antibiotic and multiresistance of three to six antibiotics was found in 62%.

In strains isolated from children, multiresistance was found in 63% and 52% for EPEC and ETEC, and strains isolated from adults 53% and 71% respectively.

Conclusion: Strains of *E. coli* showed similar resistance profiles, predominating multiresistance in EPEC, ETEC and *E. coli* SNG (four antibiotics), reflecting frequent exposure of enteropathogens to antibiotics, so increasing resistance reduce effectiveness of available antimicrobials. **Rev.cienc.biomed. 2012;3(1):40-48**

KEY WORDS

E. coli; EPEC; ETEC; Antibiotics; Resistance.

INTRODUCCIÓN

La enfermedad diarreica aguda (EDA) se ha destacado en los últimos años como una enfermedad frecuente en países en vías de desarrollo, siendo responsable de 2.5 millones de defunciones por año en niños menores de cinco años en Latinoamérica y en algunas regiones de Asia y África (1,2). En los países desarrollados, la diarrea aguda contribuye a incrementar la morbilidad y el costo de los gastos en la salud de los infantes, en cambio los niños de países pobres tienen hasta tres o cuatro episodios por año, convirtiéndose en una alta morbilidad y posible mortalidad significativa (1,3).

Existen diferentes agentes causales de EDAs pero los patotipos diarrogénicos de *E. coli* son la primera causa de gastroenteritis bacteriana infantil, siendo responsables del 30 al 40% de

los casos de diarrea en menores de un año (4,5). En México son los principales agentes etiológicos de las infecciones entéricas y de las diarreas infantiles (6). Estas bacterias se han clasificado de acuerdo a su patogénesis y sus características epidemiológicas dividiéndose en seis patogrupos: *E. coli* enteropatógena [EPEC], enterotoxigénica [ETEC], enteroinvasiva [EIEC], productora de toxina shiga [STEC], enteroagregativa [EAEC] y difusamente adherente [DAEC] (7).

EPEC se asocia a diarreas infantiles, fundamentalmente en países subdesarrollados como México (3). A nivel intestinal causa lesiones histopatológicas de tipo adherencia y esfacelamiento (A/E), involucra al pilus BFP (bundle-forming pilus) en el proceso infeccioso al promover la adherencia íntima a las células epiteliales, posteriormente se produce la polimerización de la actina del

citoesqueleto, seguido de la destrucción del mismo. Los cambios bioquímicos a este proceso promueven la salida de electrolitos y de agua al espacio intraluminal, produciendo diarrea aguda (4,8).

ETEC coloniza la mucosa del intestino delgado por medio de fimbrias denominadas CFA (colonization factor antigens), siendo su principal mecanismo de patogenicidad la síntesis de alguna o ambas enterotoxinas llamadas toxina termolábil (LT) y toxina termoestable (ST) que actúan incrementando los niveles de AMPc y GMPc, donde a su vez provocan la secreción de agua e iones, disminución de absorción en las vellosidades, convirtiéndose en diarrea acuosa (9,10).

El uso de antibióticos en las infecciones diarreicas ocasionadas por patógenos entéricos ha estado cambiando, debido que las bacterias se han seleccionado como resistentes a los antimicrobianos que en el pasado eran considerados de primera elección (11). En México como en otros países latinoamericanos como Bolivia, El Salvador, Chile y Brasil, el tratamiento con antimicrobianos sigue siendo la herramienta de elección para disminuir la severidad de la diarrea de un infante o de un adulto y de otras enfermedades infecciosas (12). Pero el abuso y uso indiscriminado del tratamiento incrementa el proceso de selección de la resistencia no solo en patógenos bacterianos sino también en bacterias de la flora normal del tracto gastrointestinal, que podrían adquirir resistencia a diferentes antibióticos debido a la frecuente exposición a los mismos (11, 13).

Debido a que en México las infecciones diarreicas en infantes continúan siendo un problema, el objetivo de este estudio fue determinar la resistencia a antibióticos en cepas pertenecientes a los patogrupos EPEC y ETEC detectadas de muestras clínicas mediante PCR.

MATERIAL Y MÉTODOS

Cepas bacterianas. Se analizaron 108 cepas de E. coli, aisladas en trabajos previos realizados por el Laboratorio de Patogenicidad Microbiana del Centro de Investigaciones en

Ciencias Microbiológicas (CICM) del Instituto de Ciencias de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, México, dichas cepas fueron recuperadas a partir de heces fecales de pacientes con cuadro diarreico que acudieron al hospital para atención médica, 58 cepas se aislaron de niños menores a cinco años de edad y 50 de pacientes adultos, previamente fueron identificadas bioquímicamente como E. coli.

Se utilizaron cepas de referencia de E. coli diarreogénicas provenientes del cepariobacteriano del Laboratorio de Patogenicidad Microbiana, como control positivo a EPEC la cepa E2348/69 con el gen de virulencia bfpA, para ETEC la E9034A con los genes st, lty las cepas JPN15 y E9034P (ambas sin los genes de virulencia mencionados) como controles negativos de EPEC y ETEC respectivamente.

Todas las cepas fueron sometidas a los mismos procedimientos para su caracterización molecular y sembradas en agar Luria Bertani (LB) con pH 7.4 durante 24h/37°C. Para obtener el ADN templado, se suspendió en 1mL de PBS (pH, 7.2) una asada del crecimiento bacteriano, se calentó a 100°C durante 10 minutos y posterior se centrifugó a 12,000 rpm por 5 minutos.

Caracterización molecular de los patotipos EPEC y ETEC. La detección de los genes bfpA, st y lt se realizó por reacción en cadena de la polimerasa (PCR) previamente descrita con modificaciones (14-16), utilizando oligonucleótidos específicos que se muestran en la Tabla N° 1. La amplificación se realizó en un volumen final de 25µL de una mezcla de reacción con las siguientes concentraciones (50 mM KCl, 10mM Tris - HCl pH 8.3, 1 mM Mg₂Cl₂, 0.25 mM de cada nucleótido y 0.5 unidades de Taqpolimerasa) adicionando 5µL del DNA templado. La amplificación se realizó durante 30 ciclos (30 segundos de desnaturalización a 94°C, 1 minuto de alineación a 56°C y 2 minutos de extensión del iniciador a 72°C en un termociclador eppendorf Modelo 22331). Los productos amplificados fueron separados por electroforesis en geles de agarosa al 1% durante 90 min/70V, posterior se tiñeron con bromuro de etidio y finalmente se observaron en un transiluminador de luz UV.

TABLA N° 1.
CEBADORES USADOS EN EL SISTEMA DE PCR PARA LA AMPLIFICACIÓN DE GENES ESPECÍFICOS BfPA (EPEC) Y ST (ETEC), SECUENCIAS Y PRODUCTOS ESPERADOS

| Cebador | Secuencias de los cebadores* | Tamaño del producto (pb) | Referencia |
|---------|--|--------------------------|------------|
| bfpA | AATGGTGCTTGCGCTTGCTGC GCCGCTTATCCAACCTGGTA | 326 | 14 |
| st | TTAATAGCACCCGGTACAAGCAGG CTTGACTCTTCAAAAGAGAAAATTAC | 197 | 15 |
| It | GGCGACAGATTATACCGTGC CCGAATTCTGTTATATATGTC | 696 | 16 |

* Cada secuencia está escrita en sentido 5' - 3'

Resistencia a antibióticos. Se determinó la susceptibilidad antimicrobiana de todas las cepas de *E. coli* (EPEC, ETEC y *E. coli* SNg testados) mediante el método de difusión en disco en placas con agar Müller-Hinton acorde a los lineamientos del Comité de Control de Laboratorios Clínicos (NCCLS) (17) empleando multidiscos de BIO-RAD con doce antibióticos: ampicilina (AM), amikacina (AK), cefotaxima (CTX), ceftriaxona (CRO), cabernicilina (CB), cefalotina (CF), cloranfenicol (CL), gentamicina (GE), netilmicina (NET), nitrofurantoina (NF), pefloxacina (PEF) y trimetropim-sulfametoxazol (SXT).

Análisis de datos. Para determinar si existe diferencia entre los porcentajes de resistencia entre las cepas de *E. coli* asiladas a partir de niños y de adultos se utilizó la prueba de T Student, y para comparar los porcentajes de resistencia de los patotipos caracterizados (EPEC y ETEC) contra *E. coli* SNg analizados se utilizó la prueba de ANOVA, considerando para ambas pruebas como significativo un valor de $P < 0.05$ (Software INSTAT 2.0).

RESULTADOS

En la caracterización genotípica de las 103 cepas de *E. coli* estudiadas, el 41% presentó una amplificación de los genes *st* y/o *It* pertenecientes al patotipo ETEC con 186pb y 696pb respectivamente (Figura N°1), siendo las cepas *E. coli* aisladas de niños las de mayor frecuencia al patogruppo con un 43% (25/58) seguidas de los aislados de adultos con un 38% (17/45).

Con respecto a la amplificación del gen *bfpA* concerniente a EPEC, el 37% del total de cepas mostró una banda de 326pb en los geles de agarosa (Figura N° 1), con un 42% (19/45) en las cepas obtenidas de adultos y un 33% (19/58) en niños.

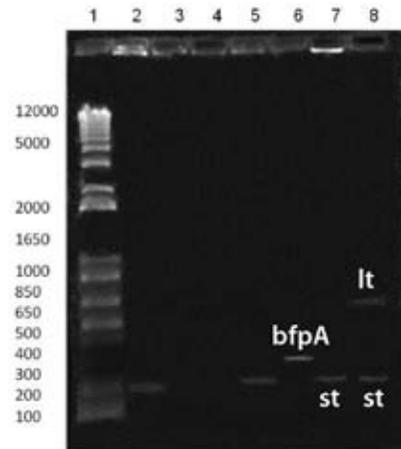


Figura N° 1. Electroforesis en gel de agarosa de los productos amplificados de *E. coli* diarrogénica (EPEC y ETEC). Carril 1 marcador de peso molecular de 1 Kb. Carriles 2 a 5 cepas provenientes de pacientes con diarrea; carriles 6 a 8 controles positivos (se indican los genes correspondientes a cada banda).

En la determinación de la resistencia de las cepas de *E. coli* a los doce antibióticos el 87% (90/103) de las bacterias estudiadas presentaron resistencia a por lo menos un antibiótico, donde predominaron los resistentes de uno hasta cuatro antibióticos que, en conjunto representaron el 65%; en comparación con los dos grupos de estudio encontramos que el 43% de las cepas aisladas de infantes preponderó la resistencia de tres a cuatro antibióticos y en los aislados de adultos predominó el 76% de las cepas resistente de

uno a cuatro antimicrobianos, sin embargo no se observó diferencia significativa $P > 0.05$. (Figura N° 2), siendo la resistencia a CB (83%) la más frecuente, seguida de AM (70%), SXT (49%), CF (34%), CL(25%) PEF (14%), NF y GE con el 13% cada una, CRO y CTX con el 3% respectivamente y finalmente AK con el 2%.

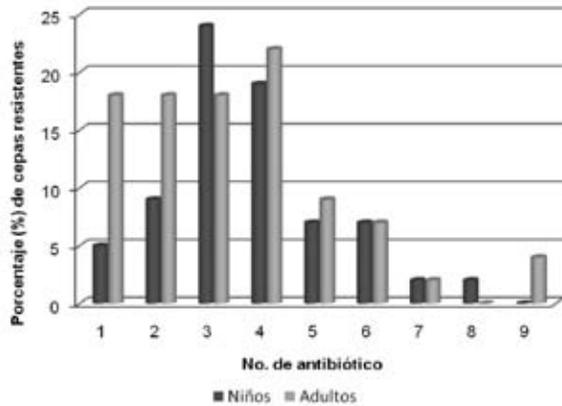


Figura N° 2. Se muestra la comparación del porcentaje de resistencia de 1 a 9 antibióticos de las cepas de *E.coli* aisladas de niños y de adultos, no presentando diferencia significativa $P > 0.05$.

Se analizó el porcentaje de resistencia de los aislados de niños y adultos a cada uno de los doce antibióticos, así como para cada patogrupos y de las cepas de *E. coli* restantes sin ninguno de los genes estudiados por separado, donde se observó que la resistencia a CB fue de un 72.4% en las bacterias pertenecientes a niños, seguida de la resistencia a AM con un 70.6%, SXT (48.2%), CL (37.9%) y CF (27.5%). Para las cepas recuperadas de adultos se halló el 95.5% de resistencia para CB, 68.8% a AM, 48.4% a SXT, 42.2% a CF y un 31.1% a PEF, observándose que tampoco existe diferencia significativa $P > 0.05$ al comparar los aislamientos de adultos y de niños (Figura N° 3).

En la Tabla N° 2 se aprecia que el 73.6% de las cepas EPEC (n=19) detectadas en los aislados de infantes fue resistente a ampicilina, el 68.4% a CB, el 52.6% a SXT y CL, 31.5% a CF, 15.7% a GE y 10.5% a NF. Para ETEC (n=25) el 72% fue resistente a carbenicilina, el 68% a AM, 32% a SXT, 28% a CL, 24% a CF y el 20% a NF. El 24% (n=14) de las cepas *E. coli* obtenidas de niños sin los genes estudiados fue resistente a CB con un 78.5% seguido de un 71.4% para AM y SXT, un 35% a CL, 28.5% a CF, 21.4% a GE y un 14.2% a CRO, sin embargo

no existe diferencia significativa $P > 0.05$ al comparar la susceptibilidad microbiana de las cepas obtenidas de niños entre los grupos diarrogénicos y las cepas sin ninguno de los genes analizados.

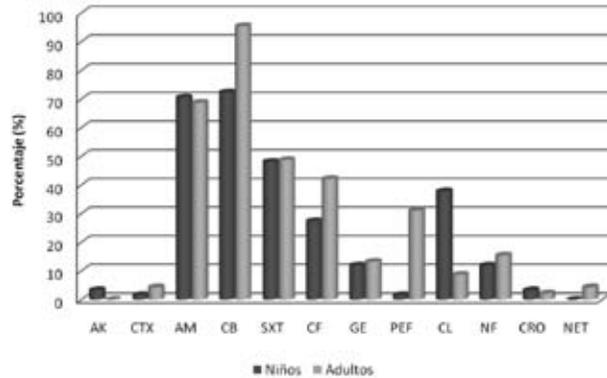


Figura N° 3. El comparativo del porcentaje de resistencia de las cepas de *E.coli* obtenidas a partir de niños y de adultos no presentó diferencia significativa $P > 0.05$. Ampicilina (AM), amikacina (AK), cefotaxima (CTX), ceftriaxona (CRO), caber-nicilina (CB), cefalotina (CF), cloranfenicol (CL), gentamicina (GE), netilmicina (NET), nitrofurantoina (NF), pefloxacina (PEF) y trimetropim-sulfametoxazol (SXT).

| TABLA N° 2. RESISTENCIA A ANTIMICROBIANOS DE LAS CEPAS DE <i>E. COLI</i> DE NIÑOS | | | |
|---|--|-------------|---------------------------|
| Antibió-tico | Porcentaje de resistencia a antibióticos en los distintos grupos | | |
| | EPEC (N=19) | ETEC (N=25) | <i>E. coli</i> SNG (N=14) |
| AK | 0 | 8 | 0 |
| CTX | 0 | 0 | 7.1 |
| AM | 73.6 | 68 | 71.4 |
| CB | 68.4 | 72 | 78.5 |
| SXT | 52.6 | 32 | 71.4 |
| CF | 31.5 | 24 | 28.5 |
| GE | 15.7 | 4 | 21.4 |
| PEF | 0 | 4 | 0 |
| CL | 52.6 | 28 | 35.7 |
| NF | 10.5 | 20 | 0 |
| CRO | 0 | 0 | 14.2 |
| NET | 0 | 0 | 0 |

Los porcentajes se realizaron tomando en cuenta el total de cada patogrupos con el número de cepas resistentes * *E. coli* SNG (cepas de *E. coli* sin ninguno de los genes estudiados).

El comparativo de los porcentajes mostró un valor de $P > 0.05$. Ampicilina (AM), amikacina (AK), cefotaxima (CTX), ceftriaxona (CRO), caber-nicilina (CB), cefalotina (CF), cloranfenicol (CL), gentamicina (GE), netilmicina (NET), nitrofurantoina (NF), pefloxacina (PEF) y trimetropim-sulfametoxazol (SXT).

En la Tabla N° 3 se observa la resistencia de los patogrupos caracterizados de los aislados de adultos, donde el patotipo EPEC (n=19) presenta una mayor resistencia a carbenicilina con un 89.4% continuando con AM (63.1%), SXT (52.6%), PEF (31.5%), CF (21%), CL (15.7%), NF y CTX (10.5%). Para las cepas ETEC (n=17) el 94.1% fue resistente a CB, el 82.3% a AM, 52.9% a SXT y CF, 29.4% a PEF y el 17.6% a NF. Finalmente en las cepas E. coli ninguno de los genes estudiados (n=9) presentaron el 100% resistencia hacia CB, el 66.6% ante CF, 55.5% a AM, 33.3% a SXT y PEF, 22.2% a GE y NF, no se observó diferencia significativa $P>0.05$, al comparar la susceptibilidad microbiana de las cepas aisladas de adultos entre los grupos diarrogénicos y las cepas sin ninguno de los genes analizados.

| TABLA N° 3. RESISTENCIA A ANTIMICROBIANOS DE LAS CEPAS DE E. COLI DE ADULTOS | | | |
|---|--|-------|------------|
| Antibió-ticos | Porcentaje de resistencia a antibióticos en los distintos grupos | | |
| | EPEC | ETEC | E.coli SNg |
| | N(19) | N(17) | N(9) |
| AK | 0 | 0 | 0 |
| CTX | 10.5 | 0 | 0 |
| AM | 63.1 | 82.3 | 55.5 |
| CB | 89.4 | 94.1 | 100 |
| SXT | 52.6 | 52.9 | 33.3 |
| CF | 21 | 52.9 | 66.6 |
| GE | 10.5 | 11.7 | 22.2 |
| PEF | 31.5 | 29.4 | 33.3 |
| CL | 15.7 | 0 | 11.1 |
| NF | 10.5 | 17.6 | 22.2 |
| CRO | 5.2 | 0 | 0 |
| NET | 5.2 | 0 | 11.1 |

Los porcentajes se realizaron tomando en cuenta el total de cada patogrupos con el número de cepas resistentes * E. coli SNg (cepas de E. coli in ninguno de los genes estudiados).

El comparativo de los porcentajes mostró un valor de $P>0.05$. Amikacina (AM), ampicilina (AK), cefotaxima (CTX), ceftriaxona (CRO), cabernicilina (CB), cefalotina (CF), cloranfenicol (CL), gentamicina (GE), netilmicina (NET), nitrofurantoina (NF), pefloxacina (PEF) y trimetropim-sulfametoxazol (SXT).

Del total de cepas estudiadas se identificó el nivel de multiresistencia a antimicrobianos con un 62% aquellas con resistencia a más de tres antibióticos y un 25% con

resistencia de uno a dos antibióticos. Las cepas EPEC multiresistentes de los aislados de niños se registró en un 63%(12/19) y un 16% (3/19) con resistencia para uno o dos antibióticos, para ETEC el 52% (13/25) fueron multiresistentes y el 24% (6/25) solo a 1 o 2 y finalmente en las cepas E. coli sin ninguno de los genes testados se halló el 86% (12/14) de multiresistencia sin ninguna cepa resistente a uno o dos antibióticos. Para el grupo de cepas de E. coli obtenidas a partir de adultos se encontró multiresistencia para EPEC, ETEC y E.coli SNg en un 53% (10/19), 71% (12/17) y 56% (5/9) respectivamente y en la resistencia a uno o dos antibiótico se halló un 42% (8/19) para EPEC, 29% (5/17) para ETEC y 44% (4/9) para las cepas de E. coli SNg.

DISCUSIÓN

Se detectó E. coli diarrogénica en el 78% (n=80) de las muestras analizadas, esta alta prevalencia apoya la determinación etiológica de las diarreas agudas considerando a los patogrupos diarrogénicos de E.coli, ya que conocer la verdadera etiología ayuda a delinear estrategias de prevención y control evitando la aparición de nuevos casos, principalmente en países en desarrollo y poblaciones donde se involucran a pacientes infantiles (18-20).

El patotipo ETEC en este trabajo se caracterizó con mayor frecuencia, prevaleciendo con un mayor porcentaje en los aislados de niños que en los de adultos. No obstante se ha reportado que ETEC es el grupo diarrogénico aislado con mayor frecuencia, sobre todo en países en vías de desarrollo. Además se ha considerado un patógeno importante en lactantes, principalmente en niños menores de dos años, en donde la frecuencia de aislamientos es de 10 a 30%, mientras que en adultos su presencia puede ser asintomática y poco frecuente (21). Se le ha determinado a EPEC como el principal agente causal de enfermedades diarreas de origen bacteriano en niños menores a cinco años aunque en este estudio su prevalencia fue menor en las cepas de E. coli de infantes no deja de ser un patógeno de suma importancia ya que su pili BFP codificado por el gen bfpA participa en el proceso infeccioso (22-24). Datos publicados

por diversos autores atribuyen a cada tipo patogénico distribuciones diferentes según la edad del paciente y regiones geográficas (25, 26).

En el estudio se observa la multiresistencia antimicrobiana en los aislados de niños y de adultos, sugiriendo atención y vigilancia en las EDAs provocadas por estos enteropatógenos, ya que diversos estudios (27,28) han reportado que las cepas E. coli diarrogénicas que afectan a niños y a turistas, tienen un aumento continuo en su resistencia antimicrobiana. Djie-Maletz en el 2008 (27) expone que las cepas E. coli diarrogénicas aisladas de infantes tienen una frecuente resistencia antimicrobiana hacia AM, CL, y SXT debido al tratamiento tradicional de la diarrea en los países en desarrollo, donde el uso y abuso es común, lo que daría respuesta al elevado porcentaje de resistencia en los aislados de infantes hacia CB, AM, CL y SXT del presente estudio.

Los elevados porcentajes de resistencia ante carbenicilina y ampicilina hallados, apoyan la sugerencia de Fernández (29) en su trabajo de relación entre la resistencia antimicrobiana con los aislados clínicos, donde propone que los marcadores de resistencia con elevada frecuencia en la población, deberían confirmarse en estudios más extensivos, para considerarse la eliminación de su uso en los tratamientos de enfermedades infecciosas, puesto que además de inefectivos, contribuirían a limitar aún más las opciones de la terapia antimicrobiana. Por otra parte, los marcadores de resistencia que se encuentran en baja frecuencia, en particular CTX, CRO y NET podrían servir como alternativa, en el tratamiento de diarreas bacterianas (30,31).

La presencia de cepas multiresistentes en este estudio puede deberse a la introducción de los antimicrobianos en el tratamiento de las enfermedades infecciosas. A nivel mundial se observa un aumento continuo del porcentaje

de resistencia en organismos patógenos. Levy y col. (32) proponen que el incremento de la resistencia bacteriana se le puede atribuir a la combinación de varios factores, como las características propias de los microorganismos, la presión selectiva ejercida por el uso de los antimicrobianos, y ciertos cambios sociales y técnicos que contribuyen con la transmisión de los organismos resistentes, tales como el incremento en el uso de dispositivos y en el número de hospederos susceptibles y las inconstantes políticas de control de las infecciones (33). La adquisición y estabilización de múltiples genes de resistencia, puede ser producto de diversos eventos genéticos, tales como, acumulación de mutaciones, la adquisición de plásmidos, de transposones y/o integrones, portadores de múltiples genes de resistencia, o por la adquisición de un gen (casete génico) cuyo producto confiere resistencia a varias clases de antimicrobianos, relacionados o no químicamente (34).

CONCLUSIÓN

Los aislados de E. coli presentaron perfiles de resistencia similares, predominando la multiresistencia en EPEC, ETEC y E. coli SNG analizado (cuatro antibióticos). Esto refleja la frecuente exposición de los antibióticos hacia los enteropatógenos y al mismo tiempo resalta que el incremento de la resistencia incide en la disminución de antimicrobianos eficaces disponibles, causando un impacto económico importante.

CONFLICTOS DE INTERÉS: ninguno que declarar.

AGRADECIMIENTOS Y FINANCIACIÓN: a la Vicerrectoría de Estudios de Posgrado de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, México, por el apoyo económico para el proyecto CHBE-NAT11-1.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Boschi-Pinto C, Velebit L, Shibuya K. Estimating child mortality due to diarrhoea in developing countries. *Bull WHO*. 2008;86:710-717.
2. Hope I Johnson, Li Liu, Christa Fischer-Walker and Robert E Black. Estimating causes of death among children in high mortality countries with incomplete death certification. *Int J Epidemiol*. 2010;39:1103-1114.
3. O’Ryan M, Prado V, Pickering LK. A millennium update on pediatric diarrheal illness in the developing world. *Semin Pediatr Infect Dis*. 2005;16:125-136.
4. OchoaTJ, Barletta Francesca, Contreras C and Mercado E. New insights into the epidemiology of enteropathogenic *Escherichia coli* infection. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 2008;102(9):852-856.
5. Boisen N, Scheutz F, Rasko DA, Redman JC, Persson S, Simon J, Kotloff KL, Levine MM, Sow S, Tamboura B, Toure A, Malle D, Panchalingam S, Krogfelt KA, Nataro JP. Genomic characterization of Enteroaggregative *Escherichia coli* from children in Mali. *J Infect Dis*. 2012;205:431-444.
6. Estrada-García T, López-Saucedo C, Thompson-Bonilla R, Abonce M, López-Hernández D, Santos JI, Rosado JL, DuPont H and Kurt ZL. Association of diarrheagenic *Escherichia coli* pathotypes with infection and diarrhea among Mexican children and association of atypical enteropathogenic *E. coli* with acute diarrhea. *J. Clin. Microbiol*. 2009;47:193-198.
7. Kaper JB, Nataro JP, Mobley HL. Pathogenic *Escherichia coli*. *Nat Rev Microbiol*. 2004;2(2):123-140.
8. Vidal JE, Canizález-Román A, Gutiérrez-Jiménez J, Navarro-García F. Molecular pathogenesis, epidemiology and diagnosis of enteropathogenic *Escherichia coli*. *Salud Pública Mex*. 2007;49:376-386.
9. Rodríguez AG. Diagnosis and main characteristics of *Escherichia coli* pathogenic groups. *Salud Publica Mex*. 2002;44:464-475.
10. Mazariego-Espinosa K, Cruz A, Ledesma MA, Ochoa SA, Xicohtencatl-Cortes J. Longus, a Type IV Pilus of Enterotoxigenic *Escherichia coli*, is involved in adherence to Intestinal epithelial cells. *J Bacteriol*. 2010;192:2791-2800.
11. Al-Gallas N, Abbassi SM, Hassan AB, Aissa RB. Genotypic and phenotypic profiles of enterotoxigenic *Escherichia coli* associated with acute diarrhea in Tunis, Tunisia. *Current Microbiol*. 2007;55:47-55.
12. Solórzano-Santos F. Resistencia de bacterias respiratorias y entéricas a antibióticos. *Salud Pública Mex*. 2003;40(6):510-516.
13. Sepp E, Stsepetova J, Loivukene K, Trusalu K, Koljalg S, Naaber P, Mikelsaar M. The occurrence of antimicrobial resistance and class 1 integrons among commensal *Escherichia coli* isolates from infants and elderly persons. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*. 2009;8,34.
14. Gunzburg S, Tornieporth N and Riley L. Identification of enteropathogenic *Escherichia coli* by PCR-Based detection of the bundle-forming pilus gene. *J Clin Microbiol*. 1995;33:1375-1377.
15. Olvick O and Strockbine N A. PCR detection of heat-stable, heat-labile, and shiga-like toxin genes in *Escherichia coli*, p. 271-276. In PersingDH, Smith, F.C. Tenover TF and White T J(ed.), *Diagnostic molecular microbiology: principales and applications*. Mayo FoundationRochester, N.Y,1993.
16. Schultz, C. Detection of enterotoxigenic *Escherichia coli* in stool samples by using non radioactively labeled oligonucleotide DNA probes and PCR. *J Clin Microbiol*.1994; 2393-2397.
17. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests. Approved standard, 7th ed. NCCLS M2-A7 2000; National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, Pa.
18. Gómez D, Zotta C, Lavayen S, Chinen I, Carbonari C, Miliwebsky E, *Epidemiologia molecular de cepas de Escherichia coli O157:H7 aisladas en diferentes localidades de la provincia de Buenos Aires*. *Rev Argentina Microbiol*. 2007;39(Supl.1):50.
19. Bui TTH, Flemming S, Phung DC, Oralak S, Tran TH, Tran MT, Anders D. Diarrheagenic *Escherichia coli* and *Shigella* strains Isolated from children in a hospital case-control study in Hanoi, Vietnam. *J Clin Microbiol*. 2008;46:996-1004.
20. Vila J, Vargas M, Casals C, Uurassa H, Mshinda H, Schelleberg D, Gascon J. Antimicrobial resistance of diarrheagenic *Escherichia coli* isolated from children under the age of 5 years from Ifakara, Tanzania. *AntimicrobAgentsChemother*.1999;43:3022-3024.
21. Rodríguez A., G. Principales características y diagnóstico de los grupos patógenos de *Escherichia coli*. *Salud Pública de Méx*. 2002;44(5):464-475.
22. Paniagua Contreras G L, Monroy-PérezE, Vaca-Pacheco S. Resistencia a antibióticos en cepas de *Escherichia coli* diarréogénicas. *Rev Med Hosp Gen Mex*.2007;70(4):158-167.
23. Vílchez S, Reyes D, Paniagua M, Bucardo F, Möllby R, Weintraub A. Prevalence of diarrhoeagenic *Escherichia coli* in children from Leon, Nicaragua. *J Med Microbiol*. 2009;58:630-637.
24. Reyes D, Vílchez S, Paniagua M, Colque P, Weintraub A, Möllby R, Kühn I. Diversity of intestinal *Escherichia coli* populations in Nicaraguan children with and without diarrhea. *J Med Microbiol*. 2009;58:1593-1600.
25. Esquivel P, Lifschitz V S, Lösch L, Medina M G, Pato A M., Cacciamani A, MerinoLA. Molecular characterization of diarrheagenic *Escherichia coli* isolates from children and adults in the city of

- Corrientes, Argentina. Rev Panam Infectol. 2010;12(3):17-21.
26. Amaya E, Reyes D, Vílchez S, Paniagua M, Möllby R, Nord CE, Weintraub A. Antibiotic resistance patterns of intestinal Escherichia coli isolates from Nicaraguan children. J Med Microbiol. 2011;60:216-222.
 27. Djie-Maletz A, Reither K, Danour S, Anyidoho L, Saad E, Danikuu F, Ziniel P, Weitze, T, Wagner J et al. High rate of resistance to locally used antibiotics among enteric bacteria from children in Northern Ghana. J Antimicrob Chemother. 2008;61:1315-1318.
 28. Mendez Arancibia E, Pitart C, Ruiz J, Marco F, Gascon J. & Vila J. Evolution of antimicrobial resistance in enteroaggregative Escherichia coli and enterotoxigenic Escherichia coli causing traveller's diarrhoea. J Antimicrob Chemother. 2009;64:343-347.
 29. Fernández-Cuenca F, Amblar G, Pascual A, Martínez-Martínez L. Relationships between resistance to cefoxitin, ciprofloxacin and amoxicilin-clavulanic acid in Escherichia coli clinical isolates. Enferm Infecc Microbiol Clin 2005; 23(8):510-511.
 30. Carbonari CC, Chinen I, Miliwebsky E, Deza N, Baschkier A, Manfredi E. Escherichia coli 0145 productor de toxina shiga de origen humano y alimentos aislado en Argentina. Rev Argentina Microbiol. 2007;39(Supl1):81.
 31. Barletta F, Ochoa TJ, Ecker L, Gil AI, Lanata CF, Cleary TG. Validation of five-colony pool analysis using multiplex real-time. PCR for detection of diarrheagenic Escherichia coli. J Clin Microbiol. 2009;47:1915-1917.
 32. Levy SB, Marshall B. Antibacterial resistance worldwide: causes, challenges and responses. Nat Med. 2004;10:S122-129.
 33. Redondo C y Alonso G. Plásmidos conjugativos aislados de cepas multirresistentes de pacientes de cuatro centros de salud del área metropolitana de Caracas. Rev Soc Ven Microbiol. 2007;27:100-107.
 34. Rivera FP, Ochoa TJ, Maves RC, Bernal M, Medina AM, Meza R, et al. Genotypic and phenotypic characterization of enterotoxigenic Escherichia coli (ETEC) strains isolated from Peruvian children. J Clin Microbiol. 2010;48:3198-203.



**UNIVERSIDAD DE CARTAGENA
FACULTAD DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE POSTGRADO**

Realiza convocatorias anuales para admitir estudiantes en sus programas de especializaciones Médico - Quirúrgicas.

ANESTESIOLOGÍA Y REANIMACIÓN
CIRUGÍA GENERAL
GINECOLOGÍA Y OBSTETRICIA
MEDICINA INTERNA
NEUROCIRUGÍA
ORTOPEDIA Y TRAUMATOLOGÍA

OTORRINOLARINGOLOGÍA
PATOLOGÍA
PEDIATRÍA
RADIOLOGÍA
PSIQUIATRÍA
UROLOGÍA

Observar fechas de inscripciones, fases del proceso y reglamentación, en:
www.unicartagena.edu.co