



# UTMACH

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y DE LA SALUD

CARRERA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

IDENTIFICACIÓN DE ESCHERICHIA COLI ENTEROHEMORRAGICA  
0157:H7 EN ADULTO MAYOR MEDIANTE TÉCNICAS  
MICROBIOLÓGICAS Y MOLECULARES PARA DIFERENCIACIÓN DE  
OTROS GRUPOS PATÓGENOS.

FERNANDEZ CORREA FREDDY SABINO  
BIOQUÍMICO FARMACÉUTICO

MACHALA  
2020



# UTMACH

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y DE LA SALUD

CARRERA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

IDENTIFICACIÓN DE ESCHERICHIA COLI  
ENTEROHEMORRAGICA 0157:H7 EN ADULTO MAYOR  
MEDIANTE TÉCNICAS MICROBIOLÓGICAS Y MOLECULARES  
PARA DIFERENCIACIÓN DE OTROS

FERNANDEZ CORREA FREDDY SABINO  
BIOQUÍMICO FARMACÉUTICO

MACHALA  
2020



# UTMACH

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y DE LA SALUD

CARRERA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

EXAMEN COMPLEXIVO

IDENTIFICACIÓN DE ESCHERICHIA COLI ENTEROHEMORRAGICA 0157:H7 EN  
ADULTO MAYOR MEDIANTE TÉCNICAS MICROBIOLÓGICAS Y MOLECULARES  
PARA DIFERENCIACIÓN DE OTROS GRUPOS PATÓGENOS.

FERNANDEZ CORREA FREDDY SABINO  
BIOQUÍMICO FARMACÉUTICO

SILVERIO CALDERON CARMEN ELIZABETH

MACHALA, 09 DE DICIEMBRE DE 2020

MACHALA  
09 de diciembre de 2020

IDENTIFICACIÓN DE  
Escherichia coli  
ENTEROHEMORRÁGICA  
0157:H7 EN ADULTO MAYOR  
MEDIANTE TÉCNICAS  
MICROBIOLÓGICAS Y  
MOLECULARES PARA  
DIFERENCIACIÓN DE OTROS  
GRUPOS PATÓGENOS.

Fecha de entrega: 20-nov-2020 05:30p.m. (UTC-0500)

Identificador de la entrega: 452483724

Nombre del archivo: E.\_coli\_turning\_1.docx (29.23K)

Total de palabras: 3443 por Freddy Sabino Fernández Correa

Total de caracteres: 19219

## CLÁUSULA DE CESIÓN DE DERECHO DE PUBLICACIÓN EN EL REPOSITORIO DIGITAL INSTITUCIONAL

El que suscribe, FERNANDEZ CORREA FREDDY SABINO, en calidad de autor del siguiente trabajo escrito titulado IDENTIFICACIÓN DE ESCHERICHIA COLI ENTEROHEMORRAGICA 0157:H7 EN ADULTO MAYOR MEDIANTE TÉCNICAS MICROBIOLÓGICAS Y MOLECULARES PARA DIFERENCIACIÓN DE OTROS GRUPOS PATÓGENOS., otorga a la Universidad Técnica de Machala, de forma gratuita y no exclusiva, los derechos de reproducción, distribución y comunicación pública de la obra, que constituye un trabajo de autoría propia, sobre la cual tiene potestad para otorgar los derechos contenidos en esta licencia.

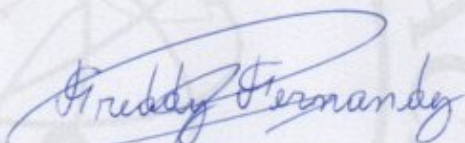
El autor declara que el contenido que se publicará es de carácter académico y se enmarca en las disposiciones definidas por la Universidad Técnica de Machala.

Se autoriza a transformar la obra, únicamente cuando sea necesario, y a realizar las adaptaciones pertinentes para permitir su preservación, distribución y publicación en el Repositorio Digital Institucional de la Universidad Técnica de Machala.

El autor como garante de la autoría de la obra y en relación a la misma, declara que la universidad se encuentra libre de todo tipo de responsabilidad sobre el contenido de la obra y que asume la responsabilidad frente a cualquier reclamo o demanda por parte de terceros de manera exclusiva.

Aceptando esta licencia, se cede a la Universidad Técnica de Machala el derecho exclusivo de archivar, reproducir, convertir, comunicar y/o distribuir la obra mundialmente en formato electrónico y digital a través de su Repositorio Digital Institucional, siempre y cuando no se lo haga para obtener beneficio económico.

Machala, 09 de diciembre de 2020



FERNANDEZ CORREA FREDDY SABINO  
0706453818

## **DEDICATORIA**

A Dios por darme salud y fuerza para seguir adelante y no desmayar ante las adversidades que se presentan día a día, a mis padres que me han dado su apoyo incondicional y a mi familia que han sido una base muy importante durante estos años de estudio.

## **AGRADECIMIENTO**

A la Dra. Carmen Silverio por ser mi tutor encargado para la realización del presente trabajo, la cual supo guiarme para su correcta elaboración y a mis profesores que durante los años de estudio supieron llenarme de conocimientos y valores para ser un buen profesional.

## RESUMEN

La *Escherichia coli* es una bacteria con patogenicidad crónica en el organismo humano<sup>1</sup>; una de las más letales es el serotipo O157: H7 de *Escherichia coli* enterohemorrágica (ECEH) que causan desde una simple diarrea a colitis hemorrágica, que podría derivar en síndrome urémico hemolítico (SHU), conocida por ocasionar insuficiencia renal en niños y adultos.

**Objetivo:** Identificar la cepa *Escherichia coli* Enterohemorrágica 0157:H7 en adultos mayores, mediante técnicas microbiológicas y moleculares para su posterior diferenciación con otros grupos patógenos. **Métodos:** se utilizó el método descriptivo para un caso clínico que requirió la recopilación de información bibliográfica. Los métodos microbiológicos cualitativos y cuantitativos incluyen las técnicas de coprocultivo, aislamiento, detección del agente causal y prueba de susceptibilidad, que requirió el uso del equipo Microscan® Walkaway, además del método molecular (PCR). **Resultados:** la sintomatología habitual en pacientes pediátricos y geriátricos inicia con una diarrea sanguinolenta, náuseas y vómitos; el estudio localizado de esta bacteria se lo realiza gracias al coprocultivo en medios específicos o diferenciales y para el estudio molecular se utilizan técnicas como la reacción en cadena de polimerasa (PCR) y la electroforesis. **Conclusión:** A pesar de las diferentes metodologías de siembra en diferentes medios y distintas técnicas moleculares para la identificación de esta cepa el medio ideal es el Agar MacConkey – Sorbitol y para la identificación molecular la técnica ideal es la PCR.

**Palabras claves:** *Escherichia Coli* Enterohemorrágica, Cuadro Clínico, Síndrome Hemolítico Urémico, Serotipo O157:H7.



## ABSTRACT

*Escherichia coli* is a bacterium with chronic pathogenicity in the human organism<sup>1</sup>; One of the most lethal is the enterohemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC) serotype O157: H7, which causes from simple diarrhea to hemorrhagic colitis, which could lead to hemolytic uremic syndrome (HUS), known to cause kidney failure in children and adults. **Objective:** To identify the strain *Escherichia coli* Enterohemorrhagic O157: H7 in older adults, using microbiological and molecular techniques for its subsequent differentiation from other pathogenic groups. **Methods:** the descriptive method was used for a clinical case that required the collection of bibliographic information. The qualitative and quantitative microbiological methods include stool culture, isolation, detection of the causative agent and susceptibility testing, which required the use of the Microscan® Walkaway equipment, in addition to the molecular method (PCR). **Results:** the usual symptoms in pediatric and geriatric patients start with bloody diarrhea, nausea and vomiting; the localized study of this bacterium is carried out thanks to stool culture in specific or differential media, and for the molecular study techniques such as polymerase chain reaction (PCR) and electrophoresis are used. **Conclusion:** Despite the different methodologies of sowing in different media and different molecular techniques for the identification of this strain, the ideal medium is McConkey-Sorbitol Agar and for molecular identification the ideal technique is PCR.

**Key words:** Enterohemorrhagic *Escherichia Coli*, Clinical Picture, Hemolytic Uremic Syndrome, Serotype O157: H7.

## ÍNDICE

DEDICATORIA .....	1
AGRADECIMIENTO .....	2
RESUMEN .....	3
ABSTRACT.....	4
1. INTODUCCIÓN .....	6
2. OBJETIVO GENERAL.....	8
2.1    Objetivos Específicos .....	8
3. DESARROLLO .....	9
3.1    GENERALIDADES DE <i>Escherichia coli</i> .....	9
3.2    GENERALIDADES DE <i>Escherichia coli</i> ENTEROHEMORRÁGICA.....	11
3.3    DIAGNÓSTICO DE <i>Escherichia coli</i> ENTEROHEMORRÁGICA (ECEH) EN LABORATORIO.....	11
3.4 METABOLISMO Y NUTRICIÓN DE <i>Escherichia coli</i> ENTEROHEMORRAGICA.....	13
3.4.1 MEDIO DE CULTIVO ESPECIFICO PARA <i>Escherichia coli</i> .....	13
3.4.2 Agar Mac Conkey.....	12
3.4.3 Composición de Agar McConkey .....	12
3.5    Epidemiología.....	13
3.6    TRATAMIENTO.....	13
4. METODOLOGÍA.....	15
4.1    CASO CLÍNICO .....	15
4.2    ANÁLISIS DEL CASO.....	17
5. DISCUSIÓN DE RESULTADOS .....	18
6. CONCLUSIÓN.....	19
7. BIBLIOGRAFIA.....	20

## 1. INTRODUCCIÓN

El ser humano es propenso de contagiarse con bacterias o microorganismos patógenos, uno de los más comunes ya sea tanto en adultos mayores como en niños es la *Escherichia coli*<sup>1</sup>. A través de los años la investigación de este microorganismo a avanzado rápidamente a través de métodos y técnicas microbiológicas y moleculares gracias a esto el personal de salud ha logrado diferenciar y asociar las manifestaciones clínicas con los diferentes serotipos de *Escherichia coli*<sup>2</sup>. En la actualidad el serotipo O157:H7 es una de las más patógenas para el ser humano provocando manifestaciones clínicas de carácter complejo además si no se identifica en un tiempo prudente podría llegar a ocasionar problemas sistémicos como el Síndrome Hemolítico Urémico (SHU).

Es por ese motivo que ha despertado el interés de muchos investigadores siendo yo uno de ellos; por tal motivo este trabajo tiene como método el investigar de manera general a específica todas las características microbiológicas y técnicas moleculares empleadas en diferentes partes del mundo a través de la recopilación exhaustiva en diferentes revistas científicas.

De esta manera gracias a la recopilación de datos y estudio de un caso en particular me eh planteado el siguiente objetivo; Identificar la cepa *Escherichia coli* Enterohemorrágica O157:H7 en adultos mayores mediante técnicas microbiológicas y moleculares para su posterior diferenciación con otros grupos patógenos.

El presente trabajo está organizado de la siguiente manera, una introducción que va desde lo general a lo específico contiguamente de los objetivos y afianzando nuestra teoría en un análisis de un caso clínico que se sustenta con las siguientes preguntas ¿Cuál es el cuadro clínico habitual relacionado con estas cepas, describir las técnicas microbiológicas y moleculares utilizadas para detectar las cepas?

Las bacterias son parte fundamental de todo ecosistema, no cabe duda de que sin ellas no se podría realizar ciertas funciones fundamentales en el medio ambiente e incluso en el organismo humano, pero, así como hay bacterias que ayudan, también existen bacterias patógenas que causan daños irreversibles en el ser humano. Una de ellas e incluso de las más comunes en pacientes geriátricos y pediátricos es la *Escherichia coli*.

En la actualidad es la bacteria que más problemas de salud causa al ser humano y su patogenicidad y toxicidad depende del serotipo de la bacteria, la más patógena se la cataloga como enterohemorrágica y tiene por serotipo O157:H7; su nombre completo, por así decirlo, es la *Escherichia coli* enterohemorrágica O157:H7.

Es por eso que este trabajo se centra en realizar un estudio acerca de este serotipo de bacteria *Escherichia coli* en donde se focalizan las técnicas microbiológicas y métodos moleculares más relevantes y utilizados en diferentes partes del mundo esperando que el impacto de este trabajo sea en beneficio de la investigación.

## **2. OBJETIVO GENERAL**

Identificar la cepa *Escherichia coli* Enterohemorrágica 0157:H7 en adultos mayores mediante técnicas microbiológicas y moleculares para su posterior diferenciación con otros grupos patógenos.

### **2.1 Objetivos Específicos**

- Identificar el medio de cultivo óptimo para la siembra de *Escherichia coli*.
- Identificar las pruebas adecuadas para las cepas de *Escherichia coli* Enterohemorrágicas.

### 3. DESARROLLO

#### 3.1 GENERALIDADES DE *Escherichia coli*

Es una bacteria de tipo Gram negativo con características anaerobias forma parte de las Enterobactereaceae, está presente de manera frecuente en la flora bacteriana intestinal de los seres humanos a igual que en los animales, aunque es parte y vive de forma común en nuestro organismo de ella se derivan cepas más agresivas que pueden alterar de forma relevante la salud del portador sea animal o humano<sup>3</sup>.

Al igual que es característico de las bacterias Gram, la *Escherichia coli* está formada por una cubierta estructurada por 3 formaciones:

- Membrana Citoplasmática
- Membrana Externa
- Espacio Periplásmico formado por péptido – glucano

La tercera estructura es la que le da a la bacteria su morfología y sostén para poder soportar altas presiones presentes en el medio ambiente donde esta se desarrolla. Su membrana celular está distribuida en una capa de peptidoglucano y una capa de fosfolípidos, proteínas, proteínas grasas y polisacáridos grasos<sup>3</sup>.

Esta cepa produce una toxina llamada verotoxina, son cepas derivadas de la bacteria *E. Coli* presente en las heces fecales y que provocan enfermedades en el Sistema gastrointestinal.

EHEC tiene como síntomas característicos problemas de diarreas con presencia de sangre en las mismas.

**TAXONOMIA:**

**DOMINIO:** BACTERIA

**REINO:** BACTERIA

**FILO:** PROTEOBACTERIA

**CLASE:** GAMMAPROTEOBACTERIA

**ORDEN:** ENTEROBACTERIALES

**FAMILIA:** ENTEROBACTERIACEAE

**GENERO:** ESCHERICHIA

**ESPECIE:** *Escherichia coli*

**ESTRUCTURA MORFOLOGICA Y TINTORIALES DE *E. coli***

- Bacilo Gram negativo.
- No forma esporas
- Móviles (flagelos peritricos).
- Miden 0.5  $\mu$  de ancho por 3  $\mu$  de largo.
- Catalasa positivos.
- Oxidasa negativos.
- Reducen nitratos a nitritos.
- Producen vitamina B y K.

**ESTRUCTURA ANTIGÉNICA**

- Antígeno capsular (antígeno “K”)
- Antígeno somático (antígeno “O”)
- Antígeno flagelar (antígeno “H”)
- Antígenos menores como proteínas de membrana externa y fimbrias.

### **3.2 GENERALIDADES DE *Escherichia coli* ENTEROHEMORRÁGICA**

Se da en países de clima templado como USA, Canadá, Inglaterra, Argentina y Japón.

Los serotipos involucrados más comúnmente son:

- O26, O111, O121, O145 y O157.

La importancia clínica particular que tiene *Escherichia coli* 0157:H7 radica en que puede ser portadora de uno o ambos genes que codifican a las verotoxinas, así como el gen de la intimina, que determina que la cepa sea considerada enterohemorrágica. Esta clase de cepas de *E. coli* forman toxinas shigoides a través de bacteriófago, las toxinas tienen parecido al tipo de toxina shiga que es resultado de la *Shigella dysenteriae* de tipo 1. Esta cepa provoca daños en las células epiteliales y endoteliales es lo que se puede observar a través de la respuesta inflamatoria provocada en el huésped<sup>9</sup>.

Se calcula que el tiempo de incubación es de 12 a 60 horas, obteniendo como media de 48 horas, los síntomas que produce esta infección en este lapso son retorcijones abdominales junto a deposiciones acuosas acompañadas de sangre, en gran parte de los pacientes infectados no se presentan estados febriles, estudios demuestran que un 10% de los casos expuestos derivan en complicaciones más severas como síndrome hemolítico – urémico o trombocitopenia púrpura<sup>10</sup>.

La colitis hemorrágica puede afectar a seres humanos de cualquier rango de edad, pero está demostrado que afecta más a niños menores de 5 años y van desapareciendo con la edad<sup>11</sup>.

### **3.3 DIAGNÓSTICO DE *Escherichia coli* ENTEROHEMORRÁGICA (ECEH) EN LABORATORIO.**

Para diagnosticar infección por ECEH el método común es el cultivo en heces o coprocultivo, hemocultivo no se toma como opción para detección de ECEH ya que los pacientes frecuentemente no desarrollan bacteriemia entonces el examen en cuestión no sería de utilidad<sup>4</sup>.



Para poder aislar e identificar la *E. coli* se procede a inocular las muestras en cada tripticasa de soja y se le incubó a temperatura de 37° centígrados durante 6 horas, como siguiente paso se selecciona el agar en donde se procederá a realizar la siembra debe ser un agar apto para bacterias Gram Negativas anaerobias, agar Mc Conkey es el ideal para la proliferación de esta clase de bacterias<sup>5</sup>.

Realizada la siembra se procede llevarla a incubación a temperatura de 37° centígrados durante un periodo de 24 horas, hecho esto se tomó una colonia positiva de cada placa donde se realizó la siembra para proceder a inocular en distintos procedimientos o pruebas bioquímicas para identificar la *Escherichia coli*, una vez identificada la bacteria se pasa a colocar en agar tripticasa de soja para su respectivo procedimiento de serotipificación<sup>6</sup>.

### 3.4 METABOLISMO Y NUTRICIÓN DE *Escherichia coli* ENTEROHEMORRAGICA.

#### 3.4.1 MEDIO DE CULTIVO ESPECIFICOS PARA *Escherichia coli*

#### 3.4.2 Agar Mac Conkey

Este medio de cultivo es de selección usado para aislar bacterias como son los bacilos Gram negativos entéricos que crecen con suma facilidad, enterobacteriaceae presentes heces fecales, orinas, aguas servidas y residuales, alimentos. La siembra de la muestra se la hace directo en el medio o al ser primeramente inoculada en un caldo de enriquecimiento<sup>3</sup>.

#### 3.4.3 Composición de Agar McConkey.

Fórmula en g/L			
Agar bacteriológico	15	Sales biliares	1,5
Cristal violeta	0,001	Peptona de gelatina	17
Lactosa	10	Rojo neutro	0,03
Mezcla de peptona	3	Cloruro sódico	5

Para el estudio de la sensibilidad a microorganismos de estas características se necesita realizar un estudio de sensibilidad preciso y fiable, una de las herramientas ideales para la realización de estas es sin duda alguno el equipo MicroScan WalkAway que proporciona la sensibilidad adecuada a las características a esta bacteria<sup>8</sup>.

El equipo MicroScan Walkaway es necesario para realizar el análisis de resistencia bacteriana, utiliza un sistema automatizado con información ambigua que permite comparar las resistencias a fármacos a través de los años. De esta manera asegura la sensibilidad para el estudio de la resistencia bacteriana.

### **3.5 Epidemiología**

Esta bacteria puede transmitirse por contacto de heces fecales con la cavidad oral en mayor parte el ser humano se contagia por el consumo de carne de bovino, pero también está demostrada la infección de persona a persona.

Se esclarece que en cierta estación del año como es el verano aumentan los casos de infección por lo que la mayor parte de infecciones se producen en el verano y aparece esta enfermedad<sup>12</sup>.

El contagio por *E. coli* Enterohemarrica es producto de la falta de higiene en varios aspectos como son:

- Elaboración de alimento
- Lavado de manos
- Mal lavado de verduras
- Consumo de alimentos contaminados.

### **3.6 TRATAMIENTO**

El tratamiento aplicado en infección por *Escherichia coli* Enterohemorrágica es un totalmente de soporte para el paciente, durante el tiempo de terapia se debe ingerir abundante líquido, en casos extremos y completamente necesarios se debe realizar diálisis, tratamiento antihipertensivo y transfusiones con concentración de hematíes o plaquetas<sup>13</sup>.

No se recomienda fármacos anti motilidad para el tratamiento de ECEH ya que a estos se los vincula con SHU o reacciones de carácter neurológico, puede producir un aumento de

síntomas como diarrea con sangre y prolongar el tiempo de duración de la misma esto se ha demostrado en varios estudios<sup>13</sup>.

Está recomendada evitar los antiinflamatorios de tipo no esteroideo ya que pueden desencadenar daño renal y un aumento de sangrado a nivel intestinal. Como medicamentos de primera línea y de interacción inmediata por la sintomatología del paciente se le administra Metronidazol y Ciprofloxacino intravenoso.

El Metronidazol es un medicamento antiparasitario del grupo de los Nitroimidazoles, esta familia se la conoce debido a que actúa en la inhibición de la síntesis de los ácidos nucleicos; se lo utiliza para el tratamiento de infecciones por protozoarios y bacterias anaerobias<sup>14</sup>.

La ciprofloxacino es un antibiótico de amplio espectro que se utiliza para combatir bacterias ya sean gram positivas como gram negativas ya que inhibe la secuenciación de ADN girasa impidiendo su replicación<sup>14</sup>.

El tratamiento adecuado cuando se utiliza este tipo de medicamento suele ser de 15 días por vía oral en pacientes que así lo requieran.

## 4. METODOLOGÍA

### 4.1 CASO CLÍNICO

Mujer de 86 años que acude al Servicio de Urgencias por presentar desde 15 días antes un cuadro de diarrea con 15 deposiciones al día, rojo vinosas sin moco, que no cede durante la noche. 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. Se decide ingreso y se solicita analítica ordinaria, colonoscopia, coprocultivo, parásitos en heces y estudio de *Clostridium difficile* toxigénico. Se pauta antibioterapia con ciprofloxacino y metronidazol vía intravenosa y dieta absoluta a la espera de los resultados de laboratorio. La analítica no muestra datos de interés mientras que en la colonoscopia se encuentran lesiones compatibles con colitis isquémica, apoyado por el informe anatómo-patológico posterior de la biopsia, y diverticulosis colónica. El resto de pruebas complementarias son negativas, excepto el coprocultivo en el que se aísla una cepa de *Escherichia coli* que no fermenta el sorbitol en agar MacConkey sorbitol (SMAC) y que aglutina con el antisuero del serotipo O157:H7. Se realiza la identificación y el estudio de sensibilidad mediante el sistema Microscan® Walkaway (Siemens). La cepa, resistente a ampicilina y cotrimoxazol, y sensible a ciprofloxacino, se remite al Centro Nacional de Microbiología (CNM) para estudio toxigénico. 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, que 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. Tras 15 días de ingreso se decide alta hospitalaria con control posterior donde muestra evolución satisfactoria con ausencia de síntomas.

**¿Cuál es el cuadro clínico habitual relacionado con esta cepa, describir las técnicas microbiológicas y moleculares utilizadas para detectar las cepas?**

## **4.2 ANÁLISIS DEL CASO**

**¿Cuál es el cuadro clínico habitual relacionado con estas cepas?**

El cuadro clínico habitual de una infección por *Escherichia coli* Enterohemorrágica (ECEH) se caracteriza por una diarrea sanguinolenta no complicada, pero en pacientes descompensados y pediátricos puede progresar a un Síndrome Hemolítico Urémico<sup>15</sup>. El SHU tiene un cuadro clínico definido por una anemia hemolítica no inmune que puede originar la sepa O157: H7, trombocitopenia e insuficiencia renal aguda<sup>10</sup>. Usualmente la sintomatología que las caracteriza son el dolor agudo del abdomen tipo calambre o retortijón, diarrea sanguinolenta y vómitos que usualmente aparecen en los primeros días de infección acompañada de fiebre<sup>16</sup>.

Los pacientes geriátricos que llegan a infectarse con este microorganismo por lo general tienden a desarrollar enfermedades neurológicas y son propensos a una mayor mortalidad por sus condiciones, por tal motivo a este tipo de pacientes se les recomienda realizarse controles anuales<sup>17</sup>.

## **Describir las técnicas microbiológicas y moleculares utilizadas para detectar las cepas**

El método más efectivo para el diagnóstico de la infección por *Escherichia coli* es el coprocultivo y para la determinación eficaz del serotipo se recomienda sembrar en un medio diferencial, en este caso el medio ideal sería el agar MacConkey – Sorbitol.

El serotipo causal de estas infecciones es el O157:H7<sup>18</sup>. Que tiene como característica que no fermenta en sorbitol, utilizándolo como medio diferencial y selectivo al agar antes citado que dará como resultado colonias incoloras<sup>19</sup>. Y para la confirmación del serotipo se utiliza aglutinación de partículas en látex con el serotipo seleccionado.

La identificación bioquímica, necesaria por posibles falsos positivos o reacciones cruzadas en la aglutinación, y el estudio de la sensibilidad antibiótica se pueden realizar como en cualquier otra cepa<sup>20</sup>. No obstante, algunas cepas, así como el resto de ECEH no-O157, fermentan tanto el sorbitol como la lactosa, y por tanto desarrollarían colonias rosas en agar MacConkey – Sorbitol<sup>21</sup>.

La técnica ideal para la detección molecular de esta bacteria es sin duda alguna el PCR ya que es la indicada para ampliar los fenotipos de las verotoxinas 1 y 2 además de la intimina e intimina gamma; pero para el estudio complementario e identificación de genes como la enterohemolisina y plásmido ECEH es la electroforesis desnaturalizante en gel de poliacrilamida.

## 5. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Durante la investigación realizada a cerca de *Escherichia coli* Enterohemorrágica, se determinó que es una cepa directa de la *E. coli* además de que su transmisión es cuando materia fecal contaminada o heces fecales hacen contacto directo con la cavidad oral, durante la investigación se pudo constatar los síntomas que produce esta bacteria cuando ha proliferado dentro del organismo, identificando síntomas como <sup>22</sup>:

Retorcijones y dolores abdominales, cuadros de diarreas crónicas, presencia de diarreas sanguinolentas, cuadros febriles escasos

Todos estos están expuestos en diferentes trabajos investigativos como es en la investigación de Zotta., et al., Teniendo coincidencias en los resultados del trabajo de investigación que he realizado con la literatura expuesta en la revista científica.

En cuanto a técnicas microbiológicas respecta, el método ideal para la detección de esta bacteria es el coprocultivo<sup>5</sup>; en el presente caso clínico, el médico tratante solicita un coprocultivo obteniendo así el aislamiento de *Escherichia coli*; consecuentemente para la identificación de que serotipo es esta bacteria se realiza una técnica rápida de aglutinación de partículas tipo látex con el serotipo O157: H7 <sup>3</sup>. Por protocolo se exige derivar este tipo de muestras a cualquier centro de toxicología para determinación molecular y toxigénico.

Las técnicas moleculares que usualmente se utilizan para determinar el gen exclusivo de estas bacterias es la reacción en cadena de la polimerasa a través de la ampliación. Como cita Garcia., et al<sup>11</sup>. En este estudio se realizó amplificación múltiple por PCR para la detección de patógenos en alimentos (*E. coli* O157:H7 y *Salmonella* spp.), mostrando ser una técnica rápida y efectiva de identificación. La eficiencia demostrada por la PCR ha sido mejor al compararse con los métodos microbiológicos de referencia como son la electroforesis <sup>11</sup>.

## 6. CONCLUSIÓN

Para poder concluir este trabajo puedo decir con certeza que el cuadro clínico habitual va a variar dependiendo del tipo de pacientes, se debe considerar que el realizar deposiciones de color rojo vinoso es indicio primordial para sospechar de la presencia de *Escherichia coli* enterohemorrágica O157:H7.

De tal manera mediante la investigación bibliográfica puedo decir que para la identificación de este tipo de bacteria se debe realizar un coprocultivo; que consta de una siembra en un medio diferencial como el agar MacConkey – sorbitol y una vez aislada se realiza la aglutinación tipo látex por antisuero de ECEH O157: H7, aunque, es un método no muy sensible, es ideal para la detección rápida.

Y que las técnicas microbiológicas y moleculares pueden variar dependiendo del lugar en donde se realiza. En Europa es muy común utilizar técnicas moleculares un poco más costosas que en Latinoamérica, gracias a este estudio me permito concluir que la electroforesis es un método idóneo, pero la PCR es la técnica más usada y menos costosa para la determinación del gen específico y las verotoxinas producidas por esta bacteria.



## 7. BIBLIOGRAFIA

- (1) Murray, P.; Rosenthal, K.; Pfalle, M. *Microbiología Medica*; 2014.
- (2) MacFaddin, J. F. *Pruebas Bioquímicas Para La Identificación de Bacterias de Importancia Clínica / Jean F. MacFaddin ; Tr. Irma Lorenzo*; 2004.
- (3) Siever Morales, C.; Eileen Siu, C.; Pablo Ramírez, R.; Armando Navarro, O. Determinación de Serotipos de Escherichia Coli Aisladas de Crías de Alpacas (Vicugna Pacos) Con y Sin Diarrea En Huancavelica. *Rev. Electron. Vet.* **2017**, 18 (9).
- (4) Abreham, S.; Teklu, A.; Cox, E.; Tessema, T. S. Escherichia Coli O157:H7: Distribution, Molecular Characterization, Antimicrobial Resistance Patterns and Source of Contamination of Sheep and Goat Carcasses at an Export Abattoir, Mojdo, Ethiopia. *BMC Microbiol.* **2019**, 2019 (327), 1–14.  
<https://doi.org/10.21203/rs.2.9605/v1>.
- (5) Rodríguez-Angeles, M. G. Principales Características y Diagnóstico de Los Grupos Patógenos de Escherichia Coli. *Salud Publica Mex.* **2016**, 44 (5), 464–475.  
<https://doi.org/10.1590/s0036-36342002000500011>.
- (6) King, L. A.; Loukiadis, E.; Mariani-Kurkdjian, P.; Haeghebaert, S.; Weill, F. X.; Baliere, C.; Ganet, S.; Gouali, M.; Vaillant, V.; Pihier, N.; Callon, H.; Novo, R.; Gaillot, O.; Thevenot-Sergentet, D.; Bingen, E.; Chaud, P.; de Valk, H. Foodborne Transmission of Sorbitol-Fermenting Escherichia Coli O157:[H7] Via Ground Beef:

- An Outbreak in Northern France, 2011. *Clin. Microbiol. Infect.* **2015**, *20* (12), O1136–O1144. <https://doi.org/10.1111/1469-0691.12736>.
- (7) Víctor Carhuapoma, D.; Nicasio Valencia, M.; Rufino Paucar, C.; Mayhua, P. H. M.; Rodrigo Huamán, J.; Lizana-Hilario, E. Effect of E. Coli and Salmonella Spp on the Growth and Mortality of Baby Alpacas (Vicugna Pacos). *Rev. Investig. Vet. del Peru* **2019**, *30* (2), 946–953. <https://doi.org/10.15381/rivep.v30i2.16068>.
- (8) Siemens. MicroScan Microbiology Portfolio. MicroScan ® Microbiology Systems de Siemens Healthcare Diagnostics Identifica Resistencias Que Otros No. *Siemens Healthc. Diagnostics, México*.
- (9) Ríos-Muñiz, D.; Cerna-Cortés, J. F.; Morán-García, N.; Meza-Segura, M.; Estrada-García, T. Escherichia Coli Enterotoxigénica y Enteroagregativa: Prevalencia, Patogénesis y Modelos Múridos. *Gac. Med. Mex.* **2019**, *155* (4), 410–416. <https://doi.org/10.24875/GMM.19004716>.
- (10) Cavero, T.; Praga, M. Síndrome Hemolítico Urémico. **2019**.
- (11) García López, E.; Rubio Lozano, M. S.; Alonso Morales, R. A.; Gayosso Vazquez, A.; Miranda Castro, S. P.; Nicoli Tolosa, M.; Núñez Espinosa, J. F. Amplificación Múltiple de ADN Para La Detección de Escherichia Coli O157: H7 y Salmonella Spp. En Canales de Bovino: Multiplex DNA Amplification to Detect Escherichia Coli O157:H7 and Salmonella Spp. in Bovine Carcasses. *CYTA - J. Food* **2019**, *7* (1), 31–36. <https://doi.org/10.1080/11358120902850651>.
- (12) Michelli, E.; Millán, A.; Rodulfo, H.; Michelli, M.; Luiggi, J.; Carreño, N.; de Donato, M. Identificación de Escherichia Coli Enteropatógena En Niños Con

- Síndrome Diarreico Agudo Del Estado Sucre, Venezuela. *Biomedica* **2016**, *36*, 118–127. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v36i0.2928>.
- (13) Rica, C.; Rica, C.; Rica, C. Síndrome Urémico Hemolítico En Pediatría Hemolytic Uremic Syndrome in Pediatrics. **2019**, *4*, 55–66.
- (14) Muñoz, Verónica Alencastro, Cristina Zhindón, María Ordoñez, D. Tratamiento de Disentería Amebiana. *Rev. Cient. Mundo la Investig. y el Conoc.* **2019**, *3* (3). [https://doi.org/10.26820/recimundo/3.\(3.Esp\).noviembre.2019.38-51](https://doi.org/10.26820/recimundo/3.(3.Esp).noviembre.2019.38-51).
- (15) Mariani-Kurkdjian, P.; Bonacorsi, S. Diagnostic Des Infections à Escherichia Coli Entérohémmorragique. *Rev. Francoph. des Lab.* **2016**, *2016* (486), 45–52. [https://doi.org/10.1016/S1773-035X\(16\)30327-6](https://doi.org/10.1016/S1773-035X(16)30327-6).
- (16) Lara-Duran, J. A.; Silva-Vega, M.; Bañuelos-Valenzuela, R.; Delgadillo-Ruiz, L.; Delgadillo-Ruiz, O. Incidencia de Escherichia Coli O157:H7 En Heces de Rumiantes Lactantes Con Síndrome Diarreico. *Rev. MVZ Cordoba* **2019**, *24* (3), 7339–7345. <https://doi.org/10.21897/rmvz.1232>.
- (17) Alegre, M. L. A.; Marin, C. V.; de Rosa, M.; Segovia, F. Thrombotic Microangiopathy and Systemic Lupus Erythematosus | Microangiopatía Trombótica y Lupus Eritematoso Sistémico. *Rev. Nefrol. Dial. y Traspl.* **2018**, *38* (2), 139–147.
- (18) Hoang, H. A.; Nhung, N. T. T. Development of a Bacteriophage-Based Method for Detection of Escherichia Coli O157:H7 in Fresh Vegetables. *Food Saf.* **2018**, *6* (4), 143–150. <https://doi.org/10.14252/foodsafetyfscj.2018010>.
- (19) Bauwens, A.; Marejková, M.; Middendorf-Bauchart, B.; Prager, R.; Kossow, A.; Zhang, W.; Karch, H.; Mellmann, A.; Bielaszewska, M. Sorbitol-Fermenting

- Enterohemorrhagic Escherichia Coli O157:H- Isolates from Czech Patients with Novel Plasmid Composition Not Previously Seen in German Isolates. *Appl. Environ. Microbiol.* **2017**, 83 (23), 1–37. <https://doi.org/10.1128/AEM.01454-17>.
- (20) Berry, E. D.; Wells, J. E.; Varel, V. H.; Hales, K. E.; Kalchayanand, N. Persistence of Escherichia Coli O157:H7 and Total Escherichia Coli in Feces and Feedlot Surface Manure from Cattle Fed Diets with and without Corn or Sorghum Wet Distillers Grains with Solubles. *J. Food Prot.* **2017**, 80 (8), 1317–1327. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-17-018>.
- (21) Al-Nabulsi, A.; Osaili, T.; Sawalha, A.; Olaimat, A. N.; Albiss, B. A.; Mehyar, G.; Ayyash, M.; Holley, R. Antimicrobial Activity of Chitosan Coating Containing ZnO Nanoparticles against E. Coli O157:H7 on the Surface of White Brined Cheese. *Int. J. Food Microbiol.* **2020**, 334 (July), 108838. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2020.108838>.
- (22) Zotta, C. M.; Lavayén, S.; Deza, N.; Cepeda, M.; Zolezzi, G.; Morvay, L.; Chinen, I.; Rivas, M. Infecciones Por Escherichia Coli Productora de Toxina Shiga O121:H19 En Pacientes Atendidos En Mar Del Plata. *Acta bioquímica clínica Latinoam.* **2019**, 53 (2), 193–201.