

Detección de Patotipos de Cepas de *Escherichia coli* Causantes de Diarrea Infantil de Establecimientos de Salud de la Región Lambayeque-Perú, 2018

Detection of Patotypes of *Escherichia coli* Strains Causing Childhood Diarrhea in Health Establishments of the Lambayeque-Peru Region, 2018

Antero Enrique Yacarini-Martínez^{1,a,b,c,f}; Emma Vanesa Arriaga-Deza^{2,3,a,b,f}, Raúl Antonio Beltrán-Orbegoso^{4,d,e,f}

RESUMEN

Objetivo: Identificar patotipos de genes de virulencia de *Escherichia coli* de muestras diarreicas de niños menores de cinco años de la Región Lambayeque, en el periodo abril-setiembre 2018. **El estudio:** Estudio descriptivo y transversal. Se analizaron 75 cepas de *E. coli* de muestras diarreogénicas usando PCR Multiplex en tiempo real y primers para genes de patotipos de *E. coli*: *daaD*, *aggR*, *eaeA*, *stx*, *ipaH* y *st*. **Hallazgos:** Se detectó 34,66% (26/75) de genes de virulencia del total de cepas aisladas. El patotipo de *E. coli* Enterotoxigénica presentó mayor frecuencia, 18,67% (14/75) del total de cepas aisladas. También se detectó que el patotipo *E. coli* Enterotoxigénica se presentó en 53,86% (14/26) del total de cepas positivas. También en un 11,54% de cepas positivas (3/26) presentaron más de un patotipo. **Conclusión:** La epidemiología molecular ayudará a un mejor diagnóstico adecuado y oportuno de las diarreas infantiles en esta población vulnerable.

Palabras Clave: *Escherichia coli*; genes; factores de virulencia; diarrea. **Fuente:** DeCS-BIREME).

ABSTRACT

Objective. To identify pathotypes of virulence genes of *Escherichia coli* from diarrheal samples of children under five years of age in the Lambayeque Region, in the period April-September 2018. **The study:** Descriptive and cross-sectional study. 75 *E. coli* strains from diarrheogenic samples were analyzed using real-time Multiplex PCR and primers for *E. coli* pathotype genes: *daaD*, *aggR*, *eaeA*, *stx*, *ipaH* and *st*. **Findings:** 34.66% (26/75) of virulence genes were detected from the total isolates. The enterotoxigenic *E. coli* pathotype presented the highest frequency, 18.67% (14/75) of the

total isolates. It was also detected that the enterotoxigenic *E. coli* pathotype appeared in 53.86% (14/26) of the total positive strains. Also, in 11.54% of positive strains (3/26) they presented more than one pathotype. **Conclusion:** Molecular epidemiology will help a better, adequate and timely diagnosis of childhood diarrhea in this vulnerable population.

Keywords: *Escherichia coli*; genes; Virulence factors; diarrhea (**Source:** DeCS-BIREME).

INTRODUCCIÓN

A nivel mundial, las Enfermedades Diarreicas Agudas (EDAs), son un problema importante de salud de la población infantil, principalmente en los países en desarrollo donde se producen anualmente entre 4,6 a 6 millones de muertes constituyendo la segunda causa global de mortalidad infantil. Estas estadísticas se reflejan en que se produce un promedio de 3 episodios de diarrea por año en niños menores a 5 años y una tasa

1. Facultad de Medicina- Escuela de Medicina Humana. Universidad Católica Santo Toribio de Mogrovejo, Chiclayo, Perú.
2. Dirección de Investigación Hospital Regional Lambayeque, Chiclayo, Perú.
3. Universidad de San Martín de Porres. Chiclayo, Perú.
4. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Nacional de Trujillo, Trujillo, Perú.
- a. Licenciado en Biología-Microbiología-Parasitología.
- b. Maestro en Ciencias con mención en Microbiología.
- c. Doctor (c) en Ciencias Biológicas.
- d. Doctor en Medio Ambiente.
- e. Especialista en Biología Molecular y Genética.
- f. Docente Universitario.

global de mortalidad promedio de más de 10.000 niños por día^(1-3,5,6).

Este problema de salud pública que causa altos índices de mortalidad y morbilidad en el mundo tiene a *Escherichia coli*, como uno de los agentes etiológicos causante de cuadros diarreicos con diferentes características, sin embargo en muchos establecimientos de Salud existe una confusión en la definición de categoría patogénica de *E. coli*, a pesar que en las últimas reuniones internacionales en microbiología se reconoce y se define a *E. coli* Enteropatógena como aquella bacteria que posee dos genes específicos: el de la intimina (eae) y el de la fimbria (bfp), dejando a la serotipificación como un análisis referencial y no concluyente; creyendo de manera errónea que el serotipo justifica la patogenicidad de esta bacteria^(7,8,10,13).

A pesar de estudios que indican que *Escherichia coli* es un importante agente etiológico de diarrea, generalmente su búsqueda no se tiene en cuenta en el estudio de coprocultivo rutinario. En nuestro país, la búsqueda de patógenos entéricos bacterianos en muestras de heces se limita a el aislamiento de agentes etiológicos como *Salmonella spp.*, *Shigella spp.*, *Campylobacter spp.* y *E. coli* productora de toxina shiga^(2,5).

La *E. coli* diarreogénica (ECD) requiere diferenciación de *E. coli* comensal de la microbiota intestinal y se clasifica con base en criterios clínicos, epidemiológicos y moleculares. Actualmente están descritos seis tipos patogénicos: *E. coli* enterotoxigénica (ETEC), *E. coli* enteroinvasiva (EIEC), *E. coli* enteropatógena (EPEC), *E. coli* enterohemorrágica (ECEH), *E. coli* enteroagregativa (EAEC) y *E. coli* adherente difusa (DAEC)^(4,9,12,15).

La ETEC se asocia con la diarrea acuosa en los niños de países en vías de desarrollo y son la principal causa de diarrea de los viajeros adultos que visitan zonas endémicas⁽³⁾, STEC corresponde al grupo más importante de patógenos transmitidos por los alimentos, donde el cuadro de gastroenteritis puede complicarse con colitis hemorrágica o síndrome urémico hemolítico⁽⁴⁾, EPEC está relacionada con la diarrea infantil, induce una alteración histopatológica en el intestino conocida como lesión adherencia y eliminación⁽⁵⁾ mientras que EAEC está asociada a episodios de diarreas en la población infantil, provocando diversos cuadros desde diarreas agudas a persistentes. Es una de las poco estudiadas, con la característica principal de adhesión con la apariencia de pared de ladrillos apilados en cultivos de células epiteliales HEp-2⁽⁶⁾. EIEC causa diarrea acuosa y disentería en los seres humanos, está muy relacionada con *Shigella spp.*, por sus características genéticas, bioquímicas y de virulencia^(6,7).

Existen muy pocos estudios sobre esta problemática de salud en la Región Lambayeque, pese haberse reportado 1010 casos de diarrea aguda en niños^(18,20); por tanto en la presente investigación se identificó la presencia de los patotipos de *E. coli* enteropatógena en pacientes pediátricos con diarrea aguda, en base a las características epidemiológicas moleculares de los microorganismos que ocasionan estas infecciones diarreicas.

EL ESTUDIO

Diseño del estudio: Estudio descriptivo transversal.

Población: Cepas de *E. coli* diarrogénicas, aisladas de muestras de niños menores de cinco años, procedentes de establecimientos de salud de la Región Lambayeque, durante los meses abril a setiembre del 2018.

Criterios de selección

Muestra y muestreo: Cepas de *Escherichia coli* diarrogénicas, aisladas de muestras de niños menores de cinco años, procedentes de establecimientos de salud de la Región Lambayeque, remitidas a GERESAL, Hospital Regional Docente las Mercedes y Hospital Regional Lambayeque, Constituyendo un total de 60 cepas.

Criterios de Inclusión: Cepas de *Escherichia coli* aisladas de muestras de Diarrea aguda, persistente o disintérica de niños menores de cinco años.

Criterios de Exclusión: Cepas de *Escherichia coli* aisladas de muestras de Diarrea aguda, persistente o disintérica de niños menores de cinco años que hayan recibido algún tipo de tratamiento.

Aspectos éticos: Estudio como avance de tesis doctoral el cual fue aprobado por el Comité de Ética en Investigación del Hospital Regional Lambayeque con código: Cod_Inv: 0212-056-18CEI.

Análisis estadístico: Se emplearon tablas de frecuencias de cada gen así como de cada patotipo. Los datos se clasificaron por centro de salud de origen de la muestra, y se categorizaron por grupos de edad. Por último, se han utilizados gráficos de barras (%) para que la información sea más fácil de interpretar.

HALLAZGOS

Se analizaron 75 cepas aisladas entre los meses de abril a setiembre de 2018, procedentes de muestras diarreogénicas y que cumplieron con los criterios de inclusión y provenían de establecimientos de Salud de la Región Lambayeque.

Los primers o cebadores han sido diseñados para reconocer simultáneamente nueve genes de los seis patotipos de *E. coli* en una sola reacción: aggR (EAEC),

st, lt (ETEC), eae (EPEC), eae, stx1, stx2 (STEC), ipaH (EIEC), y daaD (DAEC). Luego del análisis por PCR-mRT se encontró que el 34,67% (26/75) presentaron cinco de los seis patotipos asociados a cuadros diarreogénicos.

En las cepas positivas para patotipos de *E. coli* se logró determinar que el 53,86% (14/ 26) de las cepas pertenecían al patotipo ETEC pues presentaron genes st, lt; el 15,38 % (4/26) pertenecía al patotipo EPEC, representado por el gen eaeA. La presencia del gen aggR indicó el patotipo EAEC en un 11,54 % (3/26). Los patotipos EIEC (ipaH) y DAEC (daaD) se encontraron cada uno en un 3,85% (1/26). Otro 11,54% (3/26) presentaron dos tipos de patotipos. (Tabla 1 y Figura 1). En 65,33 % de las cepas no se detectó ningún patotipo de *E. coli* evaluado.

Tabla 1. Patotipos de Escherichia coli encontrados en muestras diarreogénicas de niños menores de cinco años.

Patotipo	Gen	n	%
ETEC	st, lt	14	53,86
EPEC	eaeA	4	15,38
EAEC	aggR	3	11,54
EIEC	ipaH	1	3,84
DAEC	daaD	1	3,84
STEC	stx	0	0,00
EAEC+EPEC	aggR, eaeA	3	11,54
EAEC+DAEC	aggR, daaD		
EIEC +ETEC	ipaH, lt		
Total general		26	100

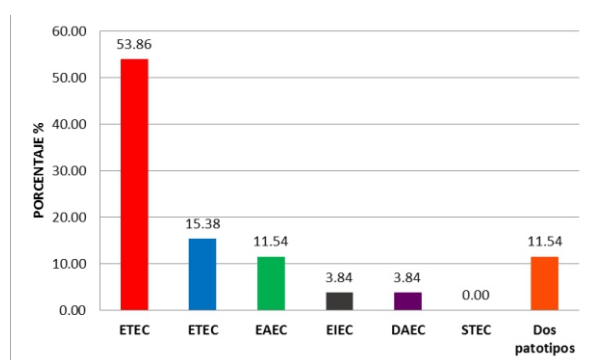


Figura 1

Distribución de patotipos de Escherichia coli encontrados en muestras diarreogénicas de niños menores de cinco años. Abril-septiembre 2018.

El patotipo ETEC, identificado por la presencia de genes st, lt, presentó una distribución interna particular (Tabla 2).

Tabla 2. Sub tipificación de patotipo ETEC según la presencia de gen st y gen lt.

Patotipo	Gen	N° de cepas
ETEC	st, lt	2
ETEC	St	6
ETEC	Lt	6
Total general	14	

DISCUSIÓN

La diarrea en niños menores de cinco años sigue siendo causa de muerte a nivel mundial, es causada por múltiples patógenos, sin embargo, la prevalencia de cada uno varía según el grupo etario, la zona geográfica y el escenario donde se registran los casos, ya sea comunitario u hospitalario^(18,20).

Los patógenos más relevantes en salud pública son los asociados con mayor carga de enfermedad, severidad, complicaciones y mortalidad. En nuestro medio, el Norovirus, Campylobacter y los diferentes patotipos de *E. coli* diarreogénicas (DEC) son los patógenos más prevalentes a nivel comunitario en niños^(5,6,8,20).

En la presente investigación se demostró que *E. coli* diarreogénica, en sus cinco patotipos, es una de los agentes causantes de diarreas en niños de la Región Lambayeque, encontrándose en el 34,67% (26/75) del total de cepas aisladas.

Además, se logró determinar que el 53,86% (14/ 26) de las cepas pertenecían al patotipo ETEC, pues presentaron genes st, lt; el 15,38 % (4/26) pertenecía al patotipo EPEC, representado por el gen eaeA. La presencia del gen aggR determinó el patotipo EAEC en un 11,54 % (3/26). Los patotipos EIEC (ipaH) y DAEC(daaD) se encontraron cada uno en un 3,85% (1/26) . Otro 11,54% (3/26) presentaron dos tipos de patotipos. Además, un 65,33 % de las cepas no se detectó ningún patotipo de *E. coli* evaluado.

Este estudio demostró la presencia de un patotipo más reportado en el estudio realizado por Ochoa et al. (2011) en donde se reportó la presencia de cuatro patotipos: EAEC, EPEC, ETEC y DAEC; precisando que la prevalencia promedio global de los principales patógenos en muestras de diarrea fue EAEC 9,9%, EPEC, 8,5%, ETEC 6,9% y DAEC 4,8%; sin embargo, cabe señalar algunas particularidades de cada estudio en niños con diarrea y deshidratación el patógeno más frecuente fue ETEC, responsable del 20,8% de todos los episodios, seguido de DAEC (15,0%).

Riveros et al. (2011), demostró mayor porcentaje del gene daaD como factor de virulencia del patotipo DAEC

sobretudo en niños de 3 a 5 años; lo cual se contrapone al presente estudio pues determinó que el patotipo ETEC se presentó en un 18,66% (14/ 75) del total de las cepas aisladas⁽¹²⁾.

Por otro lado en un estudio publicado por Yacarini et al, (2019), donde trabajaron con 106 cepas diarreogénicas de la región Lambayeque, aisladas en los meses enero 2014 a marzo 2015, se demuestra el hallazgo de 16,98% del patotipo DAEC, el 11,32% del Patotipo ETEC, el 7,55% del Patotipo EAEC, el 1,89% del Patotipo EPEC, el 0% de las cepas presentaron el Patotipo STEC y Patotipo EIEC y en un 62,26% de las cepas no se detectó ningún patotipo de *Escherichia coli* evaluado. Este estudio presenta al igual que el estudio de Riveros, et al. (2011) mayor presencia del patotipo DAEC, lo cual difiere en lo encontrado en el presente estudio; sin embargo, en similitud no reportó cepas con el patotipo STEC.

El patotipo ETEC presentó mayor frecuencia en el total de las cepas aisladas 18,66% (14/75), habiendo sido detectado mediante la presencia de los genes st, lt y la combinación de ambos.

La epidemiología molecular permitirá en las investigaciones futuras estudiar a profundidad los diferentes eventos de diarreas infantiles en la población vulnerable pediátricas con la finalidad de detectar la variabilidad genética de patotipos en cepas de *E. coli* diarreogénicas de distribución a nivel comunitario.

Agradecimientos: A la Dra. Theresa Ochoa Woodell, Jefa del Laboratorio de Infectología Pediátrica de la Universidad Peruana Cayetano Heredia, en el cual se realizó el procesamiento molecular en tiempo real. Al Biólogo David Durand Vara, Investigador Asociado de la Universidad Peruana Cayetano Heredia, por su ayuda profesional y técnica en el Laboratorio de Infectología Pediátrica de la mencionada Universidad.

Conflictos de interés: Los autores niegan conflictos de interés.

Financiamiento: Autofinanciado. El presente artículo es un avance de la Tesis del Programa de Doctorado en Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de Trujillo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Weiler N, Orrego M, Alvarez M, Huber C. Detección molecular de *Escherichia coli* diarreogénicas en pacientes pediátricos con síndrome diarreico agudo. Paraguay. Mem. Inst. Investig. Cienc. Salud. 2017; 15(1): 16-21
- Alvarado Pineda R. Enfermedad Diarreica asociada a *Escherichia coli* Enteropatógena Clásica (EPEC), Enteroinvasiva (EIEC) en pacientes pediátricos en dos Hospitales de Lima. Tesis de Maestría en Microbiología. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima. 2008
- Yacarini-Martínez, Antero Enrique et al. Genes de virulencia de *Escherichia coli* detectados en muestras diarreicas de niños de la Región Lambayeque-Perú. Horizonte Médico (Lima), [S.l.], v. 19, n. 1, p. 7-12, mar. 2019. ISSN 2227-3530. Disponible en: <http://www.horizontemedico.usmp.edu.pe/index.php/horizontemed/article/view/716>. Fecha de acceso: 27 oct. 2020 doi: <https://doi.org/10.24265/horizmed.2019.v19n1.02>
- Contreras, C. Asociación de variabilidad genética y fenotípico de *Escherichia coli* enteropatógena (EPEC) con cuadros de diarrea en niños menores de un año. Tesis de Maestría en Biología Molecular. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima. 2010.
- 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. Biomédica, 2016; 36(Sup1), 118-127. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v36i0.2928>
- Ochoa T, Mercado E, Durand D, Rivera F, Mosquito S, Contreras C, Riveros M, Lluque A, Barletta F, Prada A, Ruiz J. Frecuencias y patotipos de *Escherichia coli* Diarrogénica en niños peruanos con y sin diarrea. Rev. Peruana de Medicina Experimental de Salud Pública, 2011; 28(1):13-20.
- Ochoa T, Riveros M. Enteropatógenos de Importancia En Salud Pública. Rev Perú Med Exp Salud Pública. 2015; 32(1):157-64.
- Farfán A, Ariza S, Vargas FA, Vargas L. Mecanismos de virulencia de *Escherichia coli* enteropatógena. Revista Chilena de Infectología. 2016; 33(4), 438-450. <https://doi.org/10.4067/s0716-10182016000400009>
- Sánchez S, Ropmecin P, Guachalla L, Iñiguez V. Genophenotypic characterization of AEEC *Escherichia coli* isolated from children with infectious diarrhea in La Paz: Epidemiology and diagnostic implications. Rev. chil. pediatr. [Internet]. 2006 Aug [cited 2020 Mar 06]; 77(4): 412-427. Available from: https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0370-41062006000400013&lng=en
<http://dx.doi.org/10.4067/S0370-41062006000400013>
- Silva-Díaz H, Bustamante-Canelo O, Aguilar-Gamboa F, Mera-Villasis K, Ipanaque-Chozo J, Seclén-Bernabé E, et al. Enteropatógenos predominantes en diarreas agudas y variables asociadas en niños atendidos en el Hospital Regional Lambayeque, Perú. Horiz Med. 2017; 17(1): 38-44.

Correspondencia

Antero Enrique Yacarini Martínez
Teléfono: 985 147 052
Correo: eyacarini19@gmail.com

Revisión de pares

Recibido: 10/06/2020
Aceptado: 15/06/2020