

**UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD MULTIDISCIPLINARIA ORIENTAL
DEPARTAMENTO DE MEDICINA
CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO**



TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

**INCIDENCIA DE *ESCHERICHIA COLI ENTEROHEMORRÁGICA (O157; H7)*
EN LA POBLACIÓN INFANTIL DE 0 A 5 AÑOS CON CUADRO DIARREICO
QUE ASISTEN AL SERVICIO DE REHIDRATACIÓN ORAL DEL HOSPITAL
NACIONAL SAN JUAN DE DIOS DE LA CIUDAD DE SAN MIGUEL EN EL
PERÍODO DE JULIO A SEPTIEMBRE DE 2006**

PRESENTADO POR:

**YECENIA MARITZA GARCÍA ZAMORA.
YESENIA LORENA RODRÍGUEZ ARGUETA.
NORIS EUGENIA GUEVARA MOON CLARÁ.**

DOCENTE DIRECTOR:

LIC. LORENA PATRICIA PACHECO HERRERA

NOVIEMBRE DE 2006

SAN MIGUEL, EL SALVADOR, CENTRO AMÉRICA

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
AUTORIDADES

DOCTORA. MARÍA ISABEL RODRÍGUEZ
RECTORA

INGENIERO. JOAQUÍN ORLANDO MACHUCA GÓMEZ
VICERRECTOR ACADÉMICO

DOCTORA. CARMEN ELIZABETH RODRÍGUEZ DE RIVAS
VICERRECTORA ADMINISTRATIVA

LICENCIADA. ALICIA MARGARITA RIVAS DE RECINOS
SECRETARIA GENERAL

LICENCIADO. PEDRO ROSALIO ESCOBAR
FISCAL GENERAL

FACULTAD MULTIDISCIPLINARIA ORIENTAL

LICENCIADO. MARCELINO MEJIA GONZALEZ

DECANO

LICENCIADO. NELSON DE JESUS QUINTANILLA

VICEDECANO

LICENCIADA. LOURDES ELIZABETH PRUDENCIO

SECRETARIA

**DEPARTAMENTO DE MEDICINA
AUTORIDADES**

**DOCTORA. LIGIA JEANNET LÓPEZ LEIVA
JEFE DEL DEPARTAMENTO**

**LICENCIADA. LORENA PATRICIA PACHECO HERRERA
COORDINADORA DE LA CARRERA DE LICENCIATURA EN
LABORATORIO CLÍNICO**

**LICENCIADA. ELBA MARGARITA BERRÍOS CASTILLO
COORDINADORA GENERAL DE PROCESOS DE GRADUACIÓN**

ASESORES

**LICENCIADA. LORENA PATRICIA PACHECO HERRERA
DOCENTE DIRECTOR**

**LICENCIADA. ELBA MARGARITA BERRIOS
ASESORA DE METODOLOGIA**

**INGENIERO. SANDRA NATZUNINN FUENTES SANCHEZ
ASESOR DE ESTADISTICA.**

DEDICATORIA

A DIOS TODO PODEROSO:

Por guiarnos y habernos permitido finalizar nuestros estudios universitarios y dirigirnos por el camino del bien.

A NUESTROS ASESORES:

LICENCIADA. LORENA PATRICIA PACHECO HERERA

LICENCIADA. ELBA MARGARITA BERRIOS

Con mucho cariño y respeto por su atención, dedicación y paciencia durante el desarrollo de la investigación.

A NUESTROS FAMILIARES Y AMIGOS:

De manera muy especial por brindarnos su compañía y cariño.

A BONERGE BALMORE BERMUDEZ CAMPOS:

De manera muy especial por su colaboración durante la realización del estudio de investigación

LORENA, MARITZA Y NORIS

DEDICATORIA

A MIS PADRES:

Sandra Maritza Zamora y Miguel Ángel García, que dios los bendiga por ser las personas mas especiales en mi vida quienes me apoyaron en las buenas y en las malas dándome amor y comprensión y todo lo necesario para alcanzar mis metas; les agradezco con todo mi corazón ya que solo a ellos les debo lo que ahora soy.

A MIS HERMANOS:

Miguel Armando García y Marina Cecilia García, quienes me dieron su apoyo incondicional sin importar las adversidades.

A LA LICENCIADA. LORENA PATRICIA PACHECO HERRERA;

Por habernos dedicado de su valioso tiempo para poder llevar a cabo nuestro trabajo de investigación.

A LA LICENCIADA GUADALUPE DE RUBIO:

De una manera muy especial por habernos colaborado con su alto nivel de conocimiento

Yecenia Maritza Garcia

DEDICATORIA

A DIOS TODOPODEROSO:

Por haberme permitido obtener este triunfo así como también iluminar mis pensamientos a lo largo de mis estudios universitarios.

A MIS PADRES:

Julio César Argueta Benitez y Elsa Gladis Rodríguez de Argueta por su apoyo económico e incondicional con mucho cariño y respeto.

A MI ABUELO;

José Napoleón Rodríguez, a quien recordaré y extrañaré a lo largo de mi vida.

A LA LICENCIADA. LORENA PATRICIA PACHECO HERRERA:

De manera muy especial por su orientación en la realización de este trabajo.

A LA LICENCIADA. GUADALUPE DE RUBIO:

Por su apoyo y orientación en la elaboración de este trabajo.

Yesenia Lorena Rodríguez Argueta

DEDICATORIA.

A DIOS PADRE CELESTIAL EL TODO PODEROSO:

Por guiarme en el camino de la sabiduría e iluminación a lo largo de mis estudios universitarios.

A MI MADRE:

Noris Martha clara Vigil, con infinito amor por su comprensión, apoyo moral y económico brindado a lo largo de mi vida.

A MI ABUELA:

Maura Ernestina Vigil, con mucho cariño incondicional a la que quiero y respeto.

A LA LICDA. LORENA PATRICIA PACHECO HERRERA.

De manera muy especial por haberme orientado oportunamente en la realización de este trabajo.

A LA LICDA. GUADALUPE DE RUBIO:

De manera muy especial por habernos apoyado y orientados por medio de sus conocimientos en la realización de nuestra investigación.

Noris Eugenia Guevara Moon Clará

**INCIDENCIA DE *ESCHERICHIA COLI ENTEROHEMORRÁGICA (O157;H7)*
EN LA POBLACIÓN INFANTIL DE 0 A 5 AÑOS CON CUADRO DIARREICO
QUE ASISTEN AL SERVICIO DE REHIDRATACIÓN ORAL DEL HOSPITAL
NACIONAL SAN JUAN DE DIOS DE LA CIUDAD DE SAN MIGUEL, EN
EL PERÍODO DE JULIO A SEPTIEMBRE DE 2006**

ÍNDICE

| CONTENIDO | PÁG. |
|--|------|
| RESUMEN..... | xv |
| INTRODUCCIÓN | xvii |
| CAPÍTULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA | |
| 1.1. Antecedentes del problema..... | 21 |
| 1.2. Enunciado del problema..... | 24 |
| 1.3 Objetivos de la investigación | |
| 1.3.1 Objetivo general..... | 25 |
| 1.3.2 Objetivos específicos..... | 25 |
| CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO | |
| 2.1. <i>Escherichia coli</i> . Generalidades..... | 27 |
| 2.2. Clasificación de la <i>Escherichia coli</i> | 27 |
| 2.2.1. <i>Escherichia coli</i> Enterotoxígena..... | 28 |
| 2.2.2. <i>Escherichia coli</i> Enteroinvasiva..... | 28 |
| 2.2.3. <i>Escherichia coli</i> Enteropatógena..... | 29 |
| 2.2.4. <i>Escherichia coli</i> Enteroagregativa..... | 29 |
| 2.2.5. <i>Escherichia coli</i> Enteroadherente-Difusa..... | 30 |
| 2.3. <i>Escherichia coli</i> Enterohemorrágica (O157;H7) | 30 |
| 2.3.1 Características microscópicas..... | 31 |
| 2.3.2 Factores de virulencia..... | 31 |
| 2.3.2.1. Pili..... | 31 |
| 2.3.2.2. Toxina..... | 32 |
| 2.3.3. Factores de riesgo..... | 33 |
| 2.3.4. Cuadro Clínico..... | 33 |

| | |
|--|----|
| 2.3.4.1. Síndrome Urémico Hemolítico..... | 34 |
| 2.3.4.2. Púrpura Trombocitopénica Trombótica..... | 37 |
| 2.3.5. Incidencia..... | 37 |
| 2.3.6. Diagnóstico..... | 37 |
| 2.3.6.1. MacConkey con sorbitol..... | 38 |
| 2.3.6.2. Medios Cromogénicos y Fluorogénicos..... | 39 |
| 2.3.6.3. Enzima Glutamato Descarboxilasa..... | 39 |
| 2.3.7. Métodos confirmatorios para la determinación de <i>Escherichia coli</i> | 41 |
| 2.3.7.1. Identificación de genes de Virulencia..... | 41 |
| 2.3.7.2. Identificación de citotoxinas..... | 42 |
| 2.3.7.3. Análisis del perfil plasmídico..... | 43 |
| 2.3.8. Medidas Preventivas..... | 44 |
| 2.3.9. Tratamiento..... | 45 |
| 2.4. Definición de términos básicos..... | 47 |

CAPÍTULO III: SISTEMA DE HIPÓTESIS

| | |
|--|----|
| 3.1. Hipótesis de trabajo..... | 52 |
| 3.2 Hipótesis nula | 52 |
| 3.3 Hipótesis alternativa..... | 52 |
| 3.4. Operacionalización de las variables | 53 |

CAPÍTULO IV: DISEÑO METODOLÓGICO

| | |
|--|----|
| 4.1. Tipo de investigación..... | 55 |
| 4.2. Población..... | 56 |
| 4.3. Criterios de inclusión y exclusión..... | 56 |
| 4.4. Técnicas de obtención de información..... | 57 |
| 4.5. Técnicas de campo..... | 57 |
| 4.6. Técnicas de Laboratorio..... | 57 |

| | |
|--|----|
| 4.7. Instrumentos..... | 59 |
| 4.8. Equipo, Material y Reactivos..... | 59 |
| 4.9. Procedimiento..... | 60 |

CAPÍTULO V: PRESENTACIÓN DE LOS RESULTADOS

| | |
|--|----|
| 5.1 Tabulación, Análisis e interpretación de los resultados..... | 64 |
| 5.2 Comprobación de la hipótesis alternativa..... | 68 |

CAPÍTULO VI: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

| | |
|--------------------------|----|
| 6.1 Conclusiones..... | 85 |
| 6.2 Recomendaciones..... | 87 |

8. BIBLIOGRAFIA.....89

9. ANEXOS

| | |
|--|-----|
| 1 Cronograma de la investigación..... | 93 |
| 2 Cronograma específico de la ejecución..... | 94 |
| 3 Morfología de <i>Escherichia coli</i> | 95 |
| 4 Estructura antigénica de <i>Escherichia coli</i> | 96 |
| 5 Flagelos de <i>Escherichia coli</i> | 97 |
| 6 Pilis de <i>Escherichia coli</i> | 98 |
| 7 Componentes del medio MacConkey con sorbitol..... | 99 |
| 8 Medio de cultivo MacConkey con sorbitol..... | 100 |
| 9 Características macroscópicas de <i>Escherichia coli</i> | 101 |
| 10 Medio de MacConkey sorbitol con cefixime..... | 102 |

| | |
|---|-----|
| 11 Medios de cultivos utilizados en la investigación..... | 103 |
| 12 Marcha bacteriológica para <i>Escherichia coli</i> | 104 |
| 13 CromoCen ECCS..... | 105 |
| 14 Preparación de medios de cultivo (pruebas bioquímicas)..... | 106 |
| 15 Medios cromogénicos y fluorogénicos..... | 107 |
| 16 Pruebas bioquímicas..... | 108 |
| 17 Medios de cultivo (MIO y Rojo de metilo)..... | 109 |
| 18 Urea..... | 110 |
| 19 Preparación de medios de cultivo..... | 111 |
| 20 Siembra de los coprocultivos..... | 112 |
| 21 Colonias de <i>Escherichia coli</i> | 113 |
| 22 Aislamiento de bacterias en MacConkey sorbitol y CromoCen ECCS..... | 114 |
| 23 Crecimiento de <i>Escherichia coli</i> en MacConkey sorbitol y CromoCen ECCS.... | 115 |
| 24 Pruebas bioquímicas realizadas..... | 116 |
| 25 Interpretación de las pruebas bioquímicas..... | 117 |
| 26 Realización de la prueba de oxidasa..... | 118 |
| 27 Cuestionario..... | 119 |

RESUMEN

Por medio de la investigación realizada a 57 niños/as de cero a cinco años con cuadro diarreico que asistieron al servicio de Rehidratación Oral en el Hospital Nacional San Juan de Dios de la ciudad de San Miguel en el período comprendido de julio a septiembre de 2006; Se comprobó que la *Escherichia coli O157:H7* no es la principal causante de cuadro diarreico en la población infantil ya que no se presentó caso alguno.

Para el arreglo de los datos se utilizaron tablas de frecuencias donde se comprobó que el 100% de niños/as que presentaron diarrea no fue por *Escherichia coli O157:H7*; razón por la cual se rechazó la hipótesis de investigación que enuncia lo siguiente: La población infantil de 0 – 5 años que asisten al servicio de Rehidratación Oral en el Hospital Nacional San Juan de Dios que presentan cuadro diarreico se debe a *Escherichia coli enterohemorrágica O157:H7*; por lo que se acepta la hipótesis nula que establece lo contrario.

Se aplicó un diseño factorial en un arreglo de bloques al azar y un análisis de varianza a los resultados obtenidos en los coprocultivos realizados a la población infantil. Donde se comprobó que existen otras bacterias como la *Escherichia coli* y la *Shigella* que provocan diarrea en los niños/as de cero a cinco años, donde la *Escherichia coli* fue la que se aisló con mayor frecuencia presentando una media de 5.6 y un alto grado de significación; la *Shigella* se presentó en una menor proporción con una media de 0.3 no presentando significación alguna.

Por lo antes mencionado se aceptó la hipótesis alternativa que plasma lo siguiente: La población infantil de 0 – 5 años que asisten al servicio de Rehidratación Oral del Hospital Nacional San Juan de Dios de la ciudad de San Miguel presentan cuadro diarreico debido a bacterias como la *Shigella* y *Salmonella* y otros tipos de *Escherichia coli*.

En el estudio se observó que el sexo y la edad no son factores predisponentes para que los niños/as presenten diarrea por alguna de las bacterias antes mencionadas ya que estas pueden afectar ya sea al sexo femenino como al sexo masculino y a cualquier edad.

Al final se obtuvo un 63.16% de casos positivos a *Escherichia coli* y *Shigella* y un 36.84% de niños/as que no presentaron ninguna bacteria patógena

INTRODUCCIÓN

La *Escherichia coli* forma parte de la flora habitual del intestino del hombre y de los animales; dentro de esta especie bacteriana existen diversos serotipos capaces de producir enfermedad tanto en las personas como en los animales. La *Escherichia coli enterohemorrágica O157:H7* es uno de tantos serótipos patógenos para la humanidad y afecta principalmente a la población infantil y personas inmunocomprometidas produciendo una serie de complicaciones como el Síndrome Urémico Hemolítico el cual es capaz de producir daños severos e incluso la muerte.

La patogenia de esta bacteria es debido a la liberación de toxinas las cuales se adhieren al intestino provocando una serie de signos y síntomas en la persona afectada.

La inclinación por este estudio se centró en determinar la incidencia de *Escherichia coli enterohemorrágica O157:H7* en la población infantil de 0 a 5 años con cuadro diarreico que asisten al servicio de Rehidratación Oral del Hospital Nacional San Juan de Dios de la ciudad de San Miguel en el periodo de julio a septiembre de 2006.

En este documento se presentan los resultados de la investigación; para ello se ha estructurado en seis capítulos los cuales se describen a continuación:

En el capítulo uno se presenta el planteamiento del problema que comprende los antecedentes de cómo el fenómeno se ha estado desarrollando durante el último trimestre del año 2006, también se enuncia en forma de interrogante el problema al cual se le dió respuesta a medida se realizó el estudio . Por otra parte la investigación tuvo como objetivo general; determinar la incidencia de *Escherichia coli enterohemorrágica O157:H7* en la población infantil con cuadro diarreico que asisten al servicio de

Rehidratación Oral del Hospital Nacional San Juan de Dios de la ciudad de San Miguel en el periodo de julio a septiembre de 2006.

El capítulo dos incluye el marco teórico donde se sustentan las bases teóricas de esta investigación en el cual se describen las características bacterianas de *Escherichia coli* *enterohemorrágica* O157:H7 (generalidades, morfología, estructura, toxinas, entre otros) y la definición de términos básicos que facilitan la comprensión del lector.

El capítulo tres comprende el sistema de hipótesis que establece la asociación de los hechos y guía así el cuestionamiento científico que dirigió la investigación y su relación con las variables para la operacionalización.

En el capítulo cuatro se encuentra el diseño metodológico en el que se describe el tipo de investigación, las técnicas de recolección de datos, la instrumentación y procedimientos a seguir para un buen desarrollo sistemático del estudio y comprobación de las hipótesis.

En el capítulo cinco se dan a conocer los resultados de la investigación a través de la tabulación, análisis e interpretación de los datos, lo cual ayudó a comprobar las diferentes hipótesis del objeto en estudio.

En el capítulo seis se presentan las conclusiones y recomendaciones a las cuales se llegó, fundamentando los resultados y sugerir como se pueden desarrollar acciones prácticas en pro de la salud salvadoreña.

Seguidamente se mencionan los medios bibliográficos, documentos, direcciones electrónicas, libros y revistas de donde se obtuvo información para esta investigación, y por último se muestra una serie de anexos los cuales sirven para reforzar y proporcionar

una mejor orientación de los elementos y argumentos que contribuyen a la comprensión del trabajo de investigación

CAPÍTULO I

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1 ANTECEDENTES DEL OBJETO EN ESTUDIO

Desde principios de la década de los años 40, se han ido descubriendo cepas de *Escherichia coli* con capacidad enteropatógena, al observar que cepas de *Escherichia coli* de determinados serotipos se asociaban a brotes epidémicos de enteritis grave en lactantes.

“Estas cepas se han venido conociendo bajo la denominación de *Escherichia coli enteropatógena clásica*. Posteriormente se descubrió un grupo de cepas de dicha bacteria con serotipos diferentes a los anteriores, que causan enteritis por un mecanismo invasor rigurosamente idéntico al de la *Shigella*.”¹

Desde finales de los años 60 también se conocen otros serotipos que producen enteritis por liberación de enterotoxinas de dos tipos: termoestables y termolábiles; y recibió el nombre de *Escherichia coli enterotoxígena*.

A estos grupos de *Escherichia coli* patógenos se añadió otro grupo que causa enteritis por producción de una toxina denominada verotoxina, que posteriormente se le ha denominado Shiga toxina y es diferente de las toxinas conocidas hasta entonces.

El descubrimiento del colibacilo como causa de enteritis hemorrágica se efectuó en los Estados Unidos y Canadá a principios de los años 80, al estudiar dos brotes de enteritis que producía graves complicaciones, demostrando que su causa era una cepa de *Escherichia coli* del serotipo 0157:H7 que producía una verotoxina con intensa actividad citotóxica.

¹ www.diseaseinfo/escheriacoli/i-g.htm. (consultado 08/03/06)

“El primer brote confirmado de *E. coli* O157; H7 verotoxígeno ocurrió en 1983. El más grave de todos ocurrió en 1985 en una residencia en Canadá y en él se vieron afectados 55 de los 169 residentes, y murieron 19 personas.”²

Entre 1986 y 1988 se realizó un estudio epidemiológico en niños para definir el rasgo distintivo del Síndrome Urémico Hemolítico en pacientes en que *E. coli* O157;H7 fue aislado en materia fecal ; en una población de estudio de 226 niños; 60 de ellos desarrollaron Síndrome Urémico Hemolítico en 1986 ; 86 en 1987 y 80 en 1988, la edad promedio de los niños fue de tres años y el 72% fueron menores de 5 años.

Las características de este bacilo han despertado gran interés; en primer lugar se trata de un grupo de cepas que dan lugar a un cuadro clínico de enteritis hemorrágica, afebril asociada con frecuencia a dos graves complicaciones como son: el Síndrome Urémico Hemolítico y la Púrpura Trombocitopénica Trombocítica. La segunda característica es que causan brotes epidémicos importantes.

Actualmente en nuestro país no existe un estudio sobre los casos diarreicos producidos por *Escherichia coli* enterohemorrágica (O157;H7), por lo que este estudio se realizará con el objeto de investigar si esta bacteria está causando diarrea en niños menores de cinco años.

NUMERO DE CASOS DE DIARREA DEL AÑO 2003 A 2006

| AÑO | NÚMERO DE CASOS | CAUSAS BACTERIANAS |
|--------------------------|------------------------|---------------------------|
| 2003 | 810 | 105 |
| 2004 | 823 | 115 |
| 2005 | 912 | 175 |
| 2006(01-01-06 A15-04-06) | 386 | 58 |

² Idem

INCIDENCIA DE RIESGO DE ENFERMEDADES DIARREICAS POR MUNICIPIO SIBASI SAN MIGUEL SEMANA 1 A 10 DEL 2006

| BAJO (0- 346 POR 100,000 HABITANTES) | MEDIO (347-561 POR 100,000 HABITANTES) | ALTO (562 A MAS POR 100,000 HABITANTES) |
|---|---|--|
| YAYANTIQUÉ | SESORI | SAN MIGUEL |
| | MONCAGUA | QUELEPA |
| ULUAZAPA | CHIRILAGUA | CHAPELTIQUE |
| | YUCUAIQUIN | EL CARMEN |
| | COMACARAN | |

MUERTES POR DIARREA EN LA POBLACION INFANTIL MENORES DE CINCO AÑOS, SIBASI SAN MIGUEL SEMANA 1 A 10, AÑO 2006.

| SEXO | EDAD | MUNICIPIO | FECHA DE FALLECIMIENTO |
|-------------|-------------|------------------|-------------------------------|
| F | 8m | SAN MIGUEL | 9-02-06 |
| F | 6m | SAN MIGUEL | 10-02-06 |
| M | 7m | QUELEPA | 28-02-06 |

1.2 ENUNCIADO DEL PROBLEMA.

Con el pasar de los años los cuadros diarreicos han surgido por una diversidad de bacterias siendo una de ellas la *Escherichia coli enterohemorrágica 0157; H7*, la cual no ha sido investigada en nuestro medio por el alto costo de los reactivos y la falta de capacitación del personal de laboratorio.

A partir de lo anteriormente establecido el problema se enuncia de la siguiente manera:

¿Es la *Escherichia coli (0157;H7)* la bacteria que produce con mayor frecuencia cuadro diarreico en la población infantil de 0 a 5 años con cuadro diarreico que asisten al servicio de Rehidratación Oral en el Hospital Nacional San Juan de Dios de la ciudad de San Miguel en el período de Julio a Septiembre de 2006?

¿A que edad la población infantil se ve más afectada por *Escherichia coli enterohemorrágica 0157; H7*?

1.3 OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN.

1.3.1 OBJETIVO GENERAL:

Determinar la incidencia de *Escherichia coli enterohemorrágica 0157; H7* en la población infantil de 0 a 5 años con cuadro diarreico que asisten al servicio de Rehidratación Oral del Hospital Nacional San Juan de Dios de la ciudad de San Miguel en el período comprendido de Julio a Septiembre de 2,006.

1.3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- ✓ Aislar *Escherichia coli enterohemorrágica 0157; H7* utilizando el Medio de MacConkey y MacConkey Sorbitol.

- ✓ Comparar los resultados obtenidos a partir del MacConkey Sorbitol con el Cromocen ECCS para el aislamiento de *Escherichia coli enterohemorrágica 0157, H7*.

- ✓ Determinar el porcentaje de la población infantil con cuadros diarreicos producido por *Escherichia coli enterohemorrágica 0157; H7*.

- ✓ Dar a conocer los resultados obtenidos al personal médico y de Laboratorio.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2. MARCO TEÓRICO

2.1 *ESCHERICHIA COLI*, GENERALIDADES

La *Escherichia coli* fué aislada por primera vez en 1885 por el pediatra *Theodore Escherich*, quien la denominó bacteria *Coli Comune* para determinar su aparición universal en el intestino de individuos sanos.

La *Escherichia coli* es un componente normal de la flora intestinal de los animales y el hombre; existe una amplia gama de variedades del germen, la mayoría de los cuales son saprófitos y algunas variedades tienen características enteropatógenas (ver anexo 3)

“La *Escherichia coli* es un bacilo gramnegativo, móvil, facultativo, oxidasa negativa, reductor de nitritos, no esporulados, fermenta la glucosa con producción de ácido y gas. Tienen cerca de 150 antígenos O (somático) diferentes y gran número de antígenos K (de superficie) y H (Flagelar) que se designan por números.”³ (ver anexo 4)

“Por lo general la *E. coli* ocasiona reacciones positivas al indol, lisina descarboxilasa y fermentación del manitol, y produce gas a partir de la glucosa. Más del 90% de las *E. coli* son B-glucoronidasa positiva a excepción de la *E coli O157; H7*”⁴

2.2 CLASIFICACIÓN DE LA *ESCHERICHIA COLI*.

En 1920 se identificaron por primera vez variedades de *Escherichia coli* como agentes patógenos asociados a cuadros de diarrea humana. A partir de esa fecha, el germen ha sido aislado frecuentemente asociado a cuadros gastroentéricos del hombre y

³ www.personal.ksu.edu. (consultado 04/03/06)

⁴ Jawetz. Microbiología Médica. Pag.271

los animales. En la actualidad las variedades patógenas de *E. coli* se clasifican en seis grupos diferentes de acuerdo a su forma de acción.

2.2.1 *ESCHERICHIA COLI ENTEROTOXIGÉNICA (ECET)*

Las cepas de ECET son las causas más importantes de diarrea del viajero en quienes visitan los países en desarrollo. Estas cepas también producen diarrea en los lactantes nativos de esos países, en los que es una de las principales causa de morbilidad y mortalidad durante los primeros dos años de vida.

“Esta cepa coloniza el intestino delgado, posee fimbrias que le permiten adherirse fuertemente y suministrar la toxina al epitelio. Produce dos toxinas: una termolábil y otra termoestable, o ambas a la vez; estas toxinas aumentan la secreción de agua y electrolitos, pero sin producir lesión ni destrucción celular.”⁵

La transmisión se efectúa al consumir alimentos y agua contaminada por casos humanos y alimentos no cocinados.

2.2.2 *ESCHERICHIA COLI ENTEROINVASIVA (ECEI)*

Esta cepa coloniza el cólon, las propiedades de colonizar, invadir y destruir los enterocitos del cólon se codifican genéticamente por ADN cromosomal y por plásmidos.

Elabora una toxina que se presenta con mayor intensidad en un medio bajo en hierro. Se adhiere al epitelio intestinal y causa muerte celular y una rápida respuesta inflamatoria. Se comporta como *Shigella* en cuanto a su capacidad de invadir el epitelio intestinal, pero no produce toxina Shiga.

⁵ www.cinepharmacie.univ.fcomte.fr (consultado 04/08/06)

Produce diarrea con sangre, como sucede con otros agentes invasivos puede ir precedida por una diarrea acuosa inicial; en general produce una disentería muy parecida a la de *Shigella*; los brotes ocasionales suelen estar relacionados con alimentos o agua contaminada.

2.2.3 *ESCHERICHIA COLI ENTEROPATÓGENA (ECEP)*

Representa la primera categoría de *E. coli* identificada como causa de diarrea en niños menores de un año y en neonatos, a partir de la década de los años 50.

Produce un cuadro de diarrea acuosa que según su intensidad puede acompañarse de desequilibrio hidromineral o ácido- básico. Con frecuencia el episodio de diarrea aguda se prolonga o evoluciona a diarrea persistente.

Los reservorios son lactantes enfermos y portadores adultos, y la transmisión ocurre por vía fecal-oral.

2.2.4 *ESCHERICHIA COLI ENTEROAGREGATIVA (ECE)*

Esta cepa coloniza el cólon; se adhiere a las células epiteliales del cólon con fimbrias de adherencia. “Produce toxina termolábil y termoestable pero se desconoce el papel que desempeña en la patogenia”⁶

La *Escherichia coli enteroagregativa* produce una diarrea acuosa mucoide prolongada (mayor de 14 días) en lactantes y niños de los países en desarrollo.

⁶ Idem

2.2.5 *ESCHERICHIA COLI ENTEROADHERENTE – DIFUSA (ECEAD)*

Produce diarrea acuosa; puede haber pérdida significativa de agua y electrolitos, se asocia con frecuencia a diarrea persistente. Este serotipo se ha aislado en algunos pacientes que presentan diarrea con sangre.

2.3 *ESCHERICHIA COLI ENTEROHEMORRÁGICA (O157;H7)*

Escherichia coli enterohemorrágica se reconoció por primera vez a principios del decenio de 1980, cuando se relacionaron los brotes de Síndrome Urémico Hemolítico con un solo tipo de *Escherichia coli*, O157;H7. Desde entonces, la enfermedad por *Escherichia coli enterohemorrágica* es una causa importante de diarreas sanguinolentas. A partir de ese año, se ha identificado a este germen con innumerables brotes de cuadros diarreicos tanto en Estados Unidos como en otros países de Europa y América, lo que demuestra que la bacteria se encuentra ampliamente diseminada.

Los brotes están relacionados con el consumo de jugo no pasteurizado y hamburguesas insuficientemente cocidas.

“*Escherichia coli enterohemorrágica* puede sobrevivir en las heces de bovinos por un período largo y mantener la habilidad para producir toxinas; a 37°C sobrevivió por 42 – 49 días, a 22°C por 49 – 52 días y a 45°C por 63 – 70 días a pesar que el porcentaje de humedad sea bajo; esto permite concluir que las heces de bovino son un vehículo potencial de transmisión de *Escherichia coli* O157;H7 para ganado, alimentos y ambiente. Si se fertiliza el suelo con abono contaminado con *Escherichia coli* O157;H7 el consumo de lechuga y vegetales facilitaría la transmisión del microorganismo.”⁷

⁷ www.steve.gb.com (consultado 04/03/06)

Las cepas del serotipo O157:H7 tienen características que las diferencian del resto de las *Escherichia coli* y facilitan su cultivo y detección. Así, la *Escherichia coli* del serotipo O157:H7, a diferencia de la mayoría (90%) de las cepas de *Escherichia coli*, no fermenta el sorbitol y es betaglucuronidasa negativo. Además, crece en presencia de telurito y cefixima.

2.3.1 CARACTERÍSTICAS MICROSCÓPICAS.

Son bacilos gram negativos poco exigentes en sus necesidades nutritivas y relativamente resistentes a los agentes externos. La bacteria se presenta como bastones gramnegativos, son pequeños, oblongos, finos; con unas dimensiones de 0.5 x 1.0 a 3.0 micras y se mueve por medio de flagelos peritricos. (ver anexo 5)

2.3.2 FACTORES DE VIRULENCIA.

2.3.2.1 PILI.

Los Pili (llamados también fimbrias) son frecuentes en la superficie de las cepas de *Escherichia coli*. Algunas de estas estructuras influyen en la virulencia como mediadoras de la fijación bacteriana a las superficies bacterianas epiteliales humanas. (ver anexo 6)

“Los Pili que posee la *Escherichia coli* enterohemorrágica (O157;H7) son el Antigenos de Factor de Colonización o Pili Formadores de Haces los cuales le permiten una adherencia laxa al enterocito la cual se encuentra codificada por un plásmido.”⁸

⁸ Sherris, Microbiología Médica. Pag.378

2.3.2.2 TOXINA

La toxina Shiga, recibe su nombre en honor del microbiólogo que descubrió a *Shigella dysenteriae*; esta toxina se consideró inicialmente limitada a esa especie en la actualidad se reconoce que existen en dos formas moleculares liberadas, por lo menos, por múltiples cepas de *E. coli* y *Shigella* cuando experimentan lisis. Las cepas de *E. coli enterohemorrágica* producen una o más toxinas Shigoides o Verotoxinas, Shiga por un bacteriófago.

Luego de la ingestión oral de alimentos o agua contaminada, la *E. Coli O157:H7* alcanza el intestino y se adhiere firmemente a las células epiteliales de la mucosa intestinal. La adhesión a través de una proteína externa de membrana de 97 kDa llamada intimina, produce una lesión característica de adhesión destinada a prevenir la expulsión del microorganismo. “La rotura consecuente del borde en cepillo es suficiente para ocasionar diarrea sanguinolenta. Sumado a esto, *E. Coli O157:H7* puede producir grandes cantidades de Shigatoxina, la cual atraviesa las células epiteliales gastrointestinales, probablemente a través de la vía transcelular, para luego arribar la circulación general”⁹

“ La forma de transporte de la toxina desde el intestino hacia los diferentes órganos es aún desconocida. Un reciente estudio observó in vitro una rápida unión de la Shigatoxina a los leucocitos polimorfonucleares, no así a los hematíes, monocitos, plaquetas y lipoproteínas. Como consecuencia de ello, al menos in vitro, los polimorfonucleares cargados de toxina transfieren el ligando a las células epiteliales glomerulares lo cual promueve la muerte celular. Si el proceso demostrado in vitro, ocurriese in vivo podría explicar el rápido transporte plasmático de la toxina y su consecuente liberación en los órganos blanco, donde la toxina ejerce su efecto citopático. “⁹

⁹ Ibidem Pag.79

Los efectos usuales de la Shigatoxina son la inhibición de la síntesis proteica y la muerte celular. Las dosis sub-letales de Shigatoxina pueden también alterar la producción de mediadores vasoactivos provenientes del endotelio, tales como endotelina y óxido nítrico, los cuales a su vez pueden contribuir a los cambios microvasculares tales como la colitis hemorrágica y el Síndrome Urémico Hemolítico.

Un estudio reciente demostró que la Shigatoxina daña directamente las células del túbulo proximal y que este efecto aumenta ante la presencia de la interleucina-1 y lipopolisacáridos.

Es por ello que se ha especulado que la distribución gastrointestinal y renal del receptor Gb3 puede conducir a un daño tisular causando diarrea sanguinolenta e insuficiencia renal.

2.3.3 FACTORES DE RIESGO

Incluye a todas las personas, pero los niños y niñas menores de cinco años de edad, ancianos y personas inmunocomprometidos son los más susceptibles a contraer complicaciones graves, debido al consumo de alimentos contaminados como ensaladas, carne de res mal cocida, leche no pasteurizada, consumo de agua contaminada, embutidos, vegetales crudos.

“También ha sido demostrada la transmisión de persona a persona, particularmente en guarderías y la transmisión de animales a personas por contacto directo.”¹⁰

2.3.4 CUADRO CLÍNICO

El paciente puede estar afebril, presentar diarrea acuosa con sangre visible, dolor abdominal y puede complicarse con Síndrome Urémico Hemolítico, Púrpura

¹⁰ Idem

Trombocitopénica Trombótica, enteritis hemorrágica y anemia hemolítica.

El período de incubación es de 12 a 60 horas con una media de 48 horas, la dosis infecciosa es de 100 a 200 microorganismos. Los brotes transmitidos por alimentos por lo general tienen un período de incubación menores a 24 horas.

2.3.4.1 SÍNDROME URÉMICO HEMOLÍTICO

La enfermedad es producida por una bacteria: la *Escherichia coli enterohemorrágica* y se encuentra principalmente en carnes de vacuno, de porcino y de lácteos contaminados. Si la carne no está bien cocida, la bacteria sobrevive y entra a través de la vía digestiva, se anida en el cólon y libera una toxina que es como un veneno que destruye las células. La toxina pasa al torrente sanguíneo y daña los glóbulos rojos produciendo anemia hemolítica y a los riñones provocando uremia, y, en los casos más graves, ataca las células cerebrales. Los niños pueden tener convulsiones y entrar en coma.

Es una enfermedad que afecta principalmente al riñón, con otras alteraciones en la sangre, especialmente en los glóbulos rojos y plaquetas y en menor medida otros órganos como el hígado y el cerebro.

En el riñón produce una insuficiencia renal, es decir una falla en cumplir la función de eliminar los desechos que se producen diariamente y el agua que el niño ingiere con los alimentos.

En la sangre se produce una destrucción de los glóbulos rojos y las plaquetas que llevan a la anemia y los sangramientos, hechos característicos de estos pacientes.

En los otros órganos produce una vasculitis, es decir enfermedad de los vasos sanguíneos que pueden llegar a producir hemorragias en los órganos afectados.

A los adultos no les afecta mayormente, lo que indica que se va adquiriendo inmunidad con el paso del tiempo. Sin embargo, en los niños menores de 8 años el peligro es alto; entre un 7 y 10 por ciento de los infectados se enferma de Síndrome Urémico Hemolítico. Si bien la tasa de mortalidad se ha reducido, el drama son las secuelas, que pueden ir desde hipertensión arterial de por vida, hasta insuficiencia renal crónica, pasando por dificultades en el aprendizaje, entre otras.

Se presenta más frecuentemente en niños, entre 6 meses a 2 años, sin que se deba dudar del diagnóstico si aparece en edades mayores.

Habitualmente el niño ha tenido una diarrea con sangre y fiebre, al finalizar la diarrea y cuando el niño parece mejorar, bruscamente se pone muy pálido, se decae intensamente, presenta sangramientos como manchas violeta (moretones) o sanguinolentas en la piel y deja de producir orina.

“En las formas graves puede haber hemorragias importantes y en algunos casos la primera manifestación de la enfermedad pueden ser los signos de una hemorragia cerebral (convulsiones, coma).”¹¹

Producto de la falta de eliminación de líquidos, el niño puede también presentar hinchazón especialmente en párpados, manos y piernas.

El Síndrome Urémico Hemolítico es la causa más frecuente de insuficiencia renal aguda en niños lactantes (6 meses a 2 años) y preescolares (2 a 5 años). Sobre estas edades es rara su aparición, y en el adulto prácticamente no se le conoce, al menos en la

¹¹ www.wikipedia.org/wiki/escherichia. (consultado 16/03/06)

forma pediátrica. Se desconoce la razón que lleva al Síndrome Urémico Hemolítico a presentarse en niños de determinada edad, así como la predilección por el daño renal.

“La media de tiempo entre la exposición a la Shigatoxina de la *Escherichia Coli* y la enfermedad es de 3 días (rango de 1 a 8 días). La enfermedad típicamente comienza con calambres abdominales y diarrea no sanguinolenta. La diarrea puede volverse sanguinolenta en el 70% de los casos generalmente dentro de 1 a 2 días. En el 30 al 60 % de los casos se presentan vómitos, con fiebre asociada en el 30 % de los enfermos. El recuento de glóbulos blancos es usualmente elevado, el edema del intestino da paso a hemorragia de la submucosa, especialmente en la región del colon ascendente y transversal. Las ulceraciones o pseudomembranas son también comunes.”¹²

El diagnóstico de Síndrome Urémico Hemolítico se realiza generalmente 6 días después del comienzo de la diarrea. Luego de la aparición del Síndrome Urémico Hemolítico relacionado a *Escherichia Coli*, la Shigatoxina puede ser eliminada en heces por varias semanas luego de la resolución de los síntomas, particularmente en niños pequeños (menores de 5 años) que en un tercio de los casos pueden portar el microorganismo por más de 20 días.

Constituyen factores de riesgo para el desarrollo del Síndrome Urémico Hemolítico luego de la infección por *E. Coli* productora de Shigatoxina el uso de agentes antidiarreicos y antibióticos, la diarrea sanguinolenta, la presencia de fiebre, vómitos y leucocitosis, las edades extremas (en particular niños menores de 5 años) así como también el sexo femenino.

El 50 % de los pacientes que desarrollan el Síndrome Urémico Hemolítico requieren tratamiento dialítico, el 75% necesitan de transfusiones de glóbulos rojos y el 25 % presentan manifestaciones neurológicas tales como accidente cerebrovascular, convulsiones y coma.

¹² Idem

El Síndrome Urémico Hemolítico relacionado a la Shigatoxina es considerado erróneamente como una enfermedad benigna. En realidad el 3-5 % de los niños mueren en la fase aguda de la enfermedad y un porcentaje similar desarrolla insuficiencia renal crónica terminal.

2.3.4.2 PÚRPURA TROMBOCITOPÉNICA TROMBÓTICA

Es un trastorno de la sangre caracterizado por conteo de plaquetas y conteo de glóbulos rojos bajo (causado por descomposición prematura de las células), anomalías en la función renal y anomalías neurológicas. Una dolencia clínica similar con características compartidas es el síndrome urémico hemolítico.

2.3.5 INCIDENCIA

La incidencia real es desconocida pues pocos laboratorios pueden identificar estos organismos.

2.3.6 DIAGNÓSTICO

“La detección de *Escherichia coli enterohemorrágica O157; H7* se puede hacer por coprocultivo utilizando el medio de MacConkey con sorbitol. La *Escherichia coli enterohemorrágica O157:H7* es sorbitol negativo y a la vez beta-glucuronidasa negativa. Esta cepa es verotoxígena, la producción de toxina se puede confirmar por una prueba inmunológica demostrando la presencia de las verotoxinas en el sobrenadante del cultivo de los microorganismos, o bien por técnicas genéticas (PCR) que permiten la amplificación y caracterización de los genes de las verotoxinas en las cepas aisladas.”¹³

¹³ www.bvs.sld.cu/revistas/at/voli9-htm. (consultado 04/04/06)

2.3.6.1 MACCONKEY CON SORBITOL

El aislamiento de *Escherichia coli enterohemorrágica* en deposiciones utilizando el medio de cultivo selectivo MacConkey sorbitol, permite diferenciar cepas fermentadoras de sorbitol de las no fermentadoras. Este análisis bioquímico presuntivo es recomendado para aislar *E. coli O157;H7*. La sensibilidad del cultivo esta limitada por la capacidad del microbiólogo para reconocer las colonias, influye el periodo de la infección, cuando la muestra de heces es tomada dentro de los primeros días del comienzo de la diarrea, la recuperación del agente es del 100%, disminuye al 91.7% dentro de los 3 a 6 días y a 33% después de los 6 días. Cuando el Síndrome Urémico Hemolítico se manifiesta, la *E. coli O157;H7* se encuentra presente sólo en un 30 a 50% de los casos. Para el diagnóstico definitivo de *Escherichia coli enterohemorrágica*, debe confirmarse la producción de citotoxina ya que no todas las *E. coli O157; H7* la producen.

MODO DE ACCIÓN

La mezcla de las sales de bilis y la violeta cristalina inhiben en gran parte el crecimiento de la flora microbiana gram-positiva. La adición del suplemento del telurito del potasio y Cefixime aumenta la selectividad para *Escherichia coli O157: H7* y suprime la flora de acompañamiento restante.(ver anexo 7)

El Sorbitol, junto con el rojo neutral del indicador del pH, se utiliza para detectar colonias sorbitol-positivas las cuales son colonias de color rosado y las colonias sorbitol-negativas, por otra parte, forman colonias incoloras.(ver anexos 8,9 y 10)

2.3.6.2 MEDIOS CROMOGÉNICOS Y FLUOROGÉNICOS

“Los nuevos medios CromoCen se basan en la actividad enzimática de ciertos grupos microbianos, visualizados a través de sustratos cromogénicos y fluorogénicos, proporcionando al microbiólogo herramientas útiles para la identificación y recuento de microorganismos de interés, con mayor seguridad, alta sensibilidad y especificidad diagnóstica.”¹⁴ (ver anexos 11 y 12)

MODO DE ACCIÓN

La combinación de sustratos cromogénicos y fluorogénicos para la detección de la actividad B- galactosidasa y B-glucuronidasa, conjuntamente con la degradación del sorbitol, posibilitan la identificación de los coliformes y de *Escherichia coli* (O157;H7) diferenciando a esta última de otras bacterias

- ✓ *Escherichia coli* O157;H7 : colonias de color verde-azul (ver anexo 13)

- ✓ Microorganismos Gram positivos: inhibidos

2.3.6.3 ENZIMA GLUTAMATO DESCARBOXILASA

Se evaluó una prueba rápida, en el diagnóstico de *Escherichia coli*, en diferentes tipos de muestras infecciosas, así como su comparación con los métodos bioquímicos de identificación tradicionales. Se ha reportado que la enzima glutamato descarboxilasa (GAD) es muy específica (97-99 %) para la identificación de *Escherichia coli*, sin embargo su empleo en la actualidad es muy limitado. Se analizaron 461 muestras clínicas de diferente origen en un hospital pediátrico.

¹⁴ www./catalogodemediosdecultivo.htm. (consultado 23/05/06)

“En general, con mayor frecuencia *Escherichia coli* fue aislada en muestras de urocultivo, coprocultivo, vaginales y uretrales. La sensibilidad diagnóstica del método fue de 100 %. Todas las cepas enterotoxigénicas y enterohemorrágicas de *Escherichia coli* aisladas en muestras de heces fecales también dieron los resultados positivos a la prueba rápida.”¹⁵

Las ventajas de la aplicación de esta prueba, comparadas con otras pruebas convencionales y comerciales, están dadas por su bajo costo, su rapidez y su alta sensibilidad, especificidad y exactitud diagnósticas, lo que permite ahorro de personal, de materiales y del tiempo empleado en la identificación.

La enzima descarboxilasa de glutamato (GAD), que cataliza la α descarboxilación de ácido glutámico produciendo ácido γ -aminobutírico y dióxido de carbono, ha sido reportada anteriormente en *Escherichia coli*, presentando rangos de especificidad que varían de 97 a 99 %.

Fiedler y Reiske en 1990 describen un método rápido para la detección de esta enzima. En este método la solución hipertónica de cloruro de sodio y Tritón X se emplean como agentes líticos para la liberación de la enzima, esto posibilita que la reacción ocurra en un período no mayor de 4 h.

Otro importante beneficio de la prueba es el considerable ahorro de tiempo y reactivos, debido a que mientras el procedimiento de identificación tradicional necesita de al menos 72 h para el diagnóstico, las respuestas positivas de la reacción de Glutamato descarboxilasa fueron obtenidas en menos de 2 h de incubación, y dentro de ellos 95 % en menos de 1 h.

¹⁵ www.diseaseinfo/escherichiacoli-g.htm (consultado 27/05/06)

Por último, la factibilidad económica de la prueba permite su aplicación en cualquier laboratorio de microbiología por muy sencillo que sea.

“En resumen, las ventajas de la aplicación de esta prueba, comparadas con otras pruebas convencionales y comerciales, están dadas por su bajo costo, factibilidad de realizar en el laboratorio para la identificación de *Escherichia coli*, su rapidez y su alta sensibilidad, especificidad y exactitud diagnóstico.”¹⁶

2.3.7 MÉTODOS CONFIRMATORIOS PARA LA DETERMINACIÓN DE *ESCHERICHIA COLI O157;H7*.

2.3.7.1 IDENTIFICACIÓN DE GENES DE VIRULENCIA.

- ✓ **Hibridación con sondas genéticas:** Las técnicas utilizadas se orientan a identificar los genes de virulencia descritos para *Escherichia coli enterohemorrágica*, su sensibilidad y especificidad no es adecuada si se trabaja directamente con deposiciones. Las sondas genéticas fueron desarrolladas originalmente para la investigación e involucra el uso de una sofisticada tecnología de DNA recombinante.

- ✓ **Reacción de Polimerasa en cadena (PCR):** Orientada a la amplificación de genes de virulencia de *Escherichia coli enterohemorrágica* también a partir de colonias.

- ✓ **PCR múltiples:** Es una modificación de la técnica básica. Fué desarrollada para la detección rápida de genes que codifican Stx1, Stx2, y eae. Las técnicas de PCR son altamente sensibles y específicas cuando se usan sobre colonias, pero

¹⁶ Idem

el análisis directo de la muestra de heces tiene los mismos problemas de fondo y problemas inhibitorios vistos para otras aplicaciones de la PCR en este material.

2.3.7.2 IDENTIFICACIÓN DE CITOTOXINAS:

Existen diversas posibilidades para identificar presencia de citotoxinas ya sea directamente en muestras de heces o en colonias, con excelente sensibilidad y especificidad. La detección de citotoxina libre en heces es de utilidad por su sensibilidad para determinar su presencia en el momento de la toma de muestra al diagnosticarse un Síndrome Urémico Hemolítico, aun cuando ya no se aísle *Escherichia coli enterohemorrágica*.

- ✓ **Ensayo de citotoxicidad en cultivo de tejidos:** “Es una técnica laboriosa y que requiere tiempo e infraestructura que ni es accesible a la mayoría de los laboratorios de microbiología, pero se considera el estándar de oro para la detección de la shigatoxina. Se utilizan las líneas celulares Vero y HeLa, y es de sensibilidad elevada. La especificidad se logra aplicando la neutralización con antisueros policlonales o anticuerpos monoclonales. Tiene el inconveniente de ser lenta, cara y poco práctica para “screening”. Es útil para especímenes clínicos pero no para alimentos.”¹⁷

- ✓ **Técnica inmunoenzimática (ELISA/EIA):** Es un método para la detección de cepas de *Escherichia coli* que están expresando la producción de las citotoxinas, usando anticuerpos específicos y un sistema de detección. A pesar de las recomendaciones del fabricante, sólo debe usarse en colonias aisladas de *E. coli* o bien en un arrastrado del cultivo primario en agar MacConkey. Sus resultados no son confiables cuando se trabaja directamente con deposiciones, con un porcentaje no aceptable de falsos positivos. El enzimoimmunoensayo tiene buena

¹⁷ www.netropia.org/PDF%20%20medica/Enterobacteriaceae.pdf (consultado 30/05/06)

especificidad y sensibilidad, aunque menor que los cultivos celulares. Es rápido y simple, pero costoso. Es útil para especímenes clínicos y para alimentos después de una etapa de enriquecimiento.

- ✓ **Detección de anticuerpos:** “La detección de la respuesta inmune provee una valiosa información para determinar la etiología de la infección especialmente cuando el paciente acude tardíamente a la consulta y cuando el Síndrome Urémico Hemolítico ya se ha manifestado, instancia en la que ya no existe eliminación detectable del agente en las heces ni aún por PCR. A menos que se cuente con la información sobre los valores de anticuerpos en la población sana, los resultados obtenidos sobre una única muestra del paciente deben ser interpretados con precaución. Idealmente deben ser obtenidas dos muestras de suero, una en fase aguda y otra en fase convalescente.”¹⁸

2.3.7.3 ANÁLISIS DEL PERFIL PLASMÍDICO

Se basa en la extracción del DNA plasmídico y la separación en base a su tamaño, por electroforesis en gel de agarosa. Otra modalidad es realizar los perfiles de los fragmentos de restricción obtenidos por digestión enzimática de los plásmidos. Fue una de las primeras técnicas de subtipificación aplicadas al estudio de brotes por *Escherichia coli O157:H7*.

- ✓ **Bacteriofago λ - RFLP (análisis del polimorfismo de los fragmentos de restricción):** Se basa en la hibridación por “Southern blot” del DNA bacteriano dirigido con enzimas de restricción y la sonda conteniendo el DNA del fago λ marcada con fósforo. Esta técnica ha demostrado ser útil, con gran poder

¹⁸ Idem

discriminatorio, pero tiene la desventaja de ser muy laboriosa y utilizar reactivos marcados radiactivamente.

- ✓ **Ribotipificación:** Esta técnica se basa en la hibridación por “Southern blot” del DNA bacteriano dirigido con enzimas de restricción y la sonda para RNAe 16s y 23s marcada con dUTP-digoxigenina. Esta técnica es laboriosa y no posee poder discriminatorio entre los aislamientos de *Escherichia coli* O157:H7.

- ✓ **Electroforesis en campo pulsado:** Es una técnica que se basa en el uso de enzimas de restricción de corte poco frecuente que generan un número relativamente pequeño de fragmentos grandes de DNA. Es aplicada con fines epidemiológicos por su sensibilidad, ya que estudia el genoma en su totalidad.

2.3.8 MEDIDAS PREVENTIVAS

“Por la severidad de los brotes es necesario realizar estudios epidemiológicos de las fuentes de infección y aplicar las medidas de prevención y control más eficaces.”¹⁹

- La población debe ser informada de las medidas preventivas, haciéndose énfasis en el consumo de agua y alimentos seguros, y extremar las medidas higiénicas personales (lavado de manos, eliminación sanitaria de excreta, de pañales contaminados). El desarrollo de una “barrera sanitaria” es fundamental, con la participación de toda la población.
- Énfasis en el consumo de leche y derivados pasteurizados. Combatir el consumo de leche cruda.
- Vigilancia en los mataderos de ganado bovino para minimizar la contaminación de la carne por contenido intestinal de las reses.
- Las carnes deben ser bien cocinadas, sobre todo la carne molida para hamburguesas o tortas. Se recomienda un nivel de cocción hasta que desaparezca

¹⁹ www.medic.med.uth.tmc.edu/path/. (consultado 02/05/06)

el color rosado. Todo alimento “recalentado” debe ser llevado a punto de cocción.

- Se recomienda que los hornos de microondas tengan una potencia superior a 500w.
- Vigilancia de niveles adecuados de desinfección en los sistemas de abastecimiento de agua y de piscinas. La ebullición del agua es recomendable en lugares donde no es posible contar con sistemas confiables o donde el agua es almacenada a nivel domiciliar.
- Notificación a las autoridades sanitarias de los brotes.
- Desinfección concurrente de secreciones fecales y artículos contaminados.

Los contactos con diarrea deberían ser excluidos del manejo de alimentos y el cuidado de infantes o pacientes, hasta que la diarrea termine y se obtengan 2 informes negativos de heces para detectar el agente. Estas personas deben ser instruidas acerca del rol que juegan en la diseminación de la enfermedad y en las medidas de prevención fundamentales

5.3.9 TRATAMIENTO.

La detección precoz del agente etiológico en la etapa de la diarrea con sangre, ayuda a la toma de decisión para el uso de antimicrobianos, pero la evidencia acumulada indica que el uso de antimicrobianos podría facilitar el desarrollo del Síndrome Urémico Hemolítico y constituir un factor de riesgo independiente.

No existe un tratamiento específico para la infección por *Escherichia coli O157; H7* sino terapia de soporte y manejo de complicaciones como la anemia y la falla renal que requiere de diálisis por el desarrollo de la insuficiencia renal.

La recuperación es en general completa, si bien pueden producirse secuelas significativas en algunos pacientes incluyendo insuficiencia renal crónica que lleva a la necesidad de un trasplante.

En general los agentes antimicrobianos no han mostrado que modifiquen la enfermedad. El uso de antibióticos mas bien constituyen un factor de riesgo para la infección, incrementando la mortalidad porque elimina la flora normal competitiva incrementando el sobrecrecimiento de *Escherichia coli O157; H7*.

“Los estudios clínicos y de laboratorio indican que el uso de antimicrobianos en la etapa de diarrea, constituiría un factor de riesgo para el desarrollo del Síndrome Urémico Hemolítico. Los antimicrobianos como el clotrimoxazol y las quinolonas aumentan la producción y liberación de las citotoxinas. Por otra parte en Japón, existe una recomendación del Ministerio de Salud para tratar las infecciones por *Escherichia coli O157; H7* con fosfomicina y esta conducta se adoptó después de un brote masivo por *Escherichia coli O157;H7*.”²⁰

²⁰ www.escom.yu.dedul.biochemistry.com (consultado 02/06/06)

2.4 DEFINICIÓN DE TÉRMINOS BÁSICOS.

Adherencia: Proceso mediante el cual una bacteria se pega a la superficie de la célula huésped.

Anaerobio: Microorganismo que crecen y viven en ausencia completa o casi completa de oxígeno se hallan ampliamente difundidos en la naturaleza y en el cuerpo humano.

Anemia Hemolítica: Es una condición que se caracteriza por la presencia de un número inadecuado de glóbulos rojos sanguíneos (anemia) y es ocasionada por la destrucción prematura de los mismos. Existen muchos tipos específicos de esta enfermedad, los cuales se describen de manera individual.

Antígeno: Sustancia generalmente proteica, que da lugar a la formación de un anticuerpo con el que reacciona específicamente.

Bacteria: Cualquier microorganismo unicelular de la clase esquizomicetos el género presenta viables morfológicas y sus componentes pueden ser esféricos (cocos), alargados (bacilos), espirales (espiroquetas) o en forma de coma (vibrio)

Brotos: Manifestación súbita de una enfermedad o recrudescimiento de los síntomas de una enfermedad latente.

Cápsula: Cubierta membranosa que recubre ciertos microorganismos

Diarrea: Deposiciones líquidas y frecuentes

Enzima: Proteína producida por las células vivas que catalizan las reacciones químicas en la materia orgánica. La mayor parte son producidas en cantidades mínimas que catalizan las reacciones que tienen lugar en el interior de las células.

Enteritis: La enteritis es una inflamación del intestino delgado causada por una infección viral o bacteriana que frecuentemente también compromete al estómago (gastritis) y al intestino grueso (colitis).

Esterilización: Proceso físico o químico que destruye o remueve completamente todo tipo de vida microbiana incluyendo esporas.

Espacio periplásmico: Es el espacio entre la membrana interna y externa de una bacteria.

Etiología: Estudio de todos los factores que pueden intervenir en el desarrollo de una enfermedad, incluyendo la susceptibilidad del paciente, la naturaleza del agente patológico y la forma en que este invade el organismo afectado.

Facultativo: Son microorganismos que poseen la capacidad de sobrevivir en presencia y ausencia de aire.

Flagelos: Proyecciones en forma de pelo que se extienden desde ciertos microorganismos unicelulares ayudándolos en su movimiento.

Fibrina: Proteína filamentosa insoluble que proporciona su carácter semisólido al coágulo sanguíneo y esta producida por la acción de la trombina sobre el fibrinógeno en el proceso de la coagulación.

Fiebre: Fenómeno patológico, debido casi siempre a causas infecciosas y caracterizado por aumento de la temperatura, aceleración del pulso y de la respiración.

Fimbria: Filamento con forma de fibra o de dedo; fimbrias (plural) son un borde contiguo de estos filamentos.

Germen: Microbio patógeno causante de una enfermedad.

Huésped: Organismo que alberga y nutre a otros, generalmente un parásito.

Infección: Multiplicación de un agente infeccioso dentro del cuerpo.

Microorganismo: Cualquier microorganismo diminuto, habitualmente microscópico, capaz de realizar los procesos vitales, puede ser patógeno.

Patógeno: Cualquier microorganismo de producir una enfermedad.

Prevención: Cualquier acto dirigido a prevenir la enfermedad y promover la salud, cuyo objetivo es evitar la necesidad de atención primaria, secundaria o terciaria.

Saprófito: Germen que vive sobre un ser vivo o huésped sin provocar enfermedades por oposición a patógenos.

Síndrome: Conjunto de síntomas que caracterizan a una enfermedad.

Síntoma: Son las manifestaciones que presenta un proceso patológico.

Toxina: Sustancia de origen microbiano que daña o mata las células del organismo huésped.

Uremia: Aumento patológico de la tasa de urea en la sangre.

Vasculitis: Trastorno inflamatorio de los vasos sanguíneos característico de ciertas enfermedades sistémicas y reacciones alérgicas.

CAPÍTULO III

SISTEMA DE HIPÓTESIS

3. SISTEMA DE HIPÓTESIS

3.1 HIPÓTESIS DE TRABAJO

La población infantil de 0 a 5 años que asisten al servicio de Rehidratación Oral en el Hospital Nacional San Juan de Dios que presentan cuadro diarreico se debe a *Escherichia coli enterohemorrágica O157; H7*.

3.2 HPÓTESIS NULA.

La población infantil de 0 a 5 años que asisten al servicio de Rehidratación Oral en el Hospital Nacional San Juan de Dios que presentan cuadro diarreico, no se debe a *Escherichia coli enterohemorrágica O157; H7*.

3.3 HIPÓTESIS ALTERNATIVA.

La población infantil de 0 a 5 años que asisten al Servicio de Rehidratación Oral en el Hospital Nacional San Juan de Dios que presentan cuadro diarreico se debe a bacterias como *Salmonella*, *Shigella* y otros tipos de *Escherichia coli*.

6.4 DEFINICION CONCEPTUAL Y OPERACIONAL DE LAS VARIABLES.

VARIABLES: Determinación de *Escherichia coli enterohemorrágica* O157; H7 en la población infantil. Muestra de heces diarreicas



Definición Conceptual *Escherichia coli enterohemorrágica* O157; H7:
Son bacilos gramnegativos, pequeños, oblongos, finos con dimensiones de 0.5 x 1.0 a 30 micras y se mueve por medio de flagelos peritricos.

Definición Operativa Heces Diarreicas:
Es lo que resta del material digerido que penetra en el intestino grueso, esta formada por: alimentos, líquidos, secreciones gástricas.



Definición Operativa Aislamiento de bacterias a través de los medios de cultivo: MacConkey MacConkey con sorbitol, CromoCen ECCS, pruebas bioquímicas, la enzima glutamato descarboxilasa y la prueba de la oxidasa

Por medio de frascos estériles y bolsas pediátricas se toman las muestras de heces y se cultivan en los medios adecuados para dar a conocer los análisis e interpretación de datos.

CAPÍTULO IV

DISEÑO METODOLÓGICO

4. DISEÑO METODOLÓGICO

4.1 TIPO DE INVESTIGACIÓN

La investigación es de tipo analítica, de laboratorio, transversal y prospectiva.

- **Analítica:** Porque permitió observar el fenómeno y así estudiar, separar y analizar los elementos básicos que competen al problema de investigación para alcanzar así los objetivos planteados.

- **Transversal:** Porque la investigación se realizó en un período determinado en donde se abordó el fenómeno desde la identificación de factores condicionales para la asociación de las variables y no a partir de su desarrollo. Además porque se hizo un corte en el tiempo sin darle seguimiento a ninguno de los casos que formará parte de la investigación.

- **Prospectiva:** Porque a medida que se realizó la fase de ejecución se recopiló la información necesaria para el estudio.

- **De laboratorio:** Por que la investigación se hizo en el laboratorio del Hospital Nacional San Juan de Dios.

4.2 POBLACIÓN.

La población esta compuesta por la población infantil de 0 a 5 años que presentan cuadro diarreico que asisten al servicio de Rehidratación Oral del Hospital Nacional San Juan de Dios de la Ciudad de San Miguel.

4.2.1 MUESTREO

N= Población

n= Muestra

m= Número de cuadros diarreicos por mes

n= 175casos/12meses = 15 casos por mes

n= 15 casos x 3 meses = 45 niños/as

4.2.2 TIPO DE MUESTREO

No probabilística e intencional: por que se toman en cuenta todos los niños que presenten cuadro diarreico.

4.3 CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN.

4.3.1 CRITERIOS DE INCLUSIÓN.

Clasificaron para el estudio; todos los niños y niñas de 0 a 5 años que presentan cuadro diarreico y que asisten al servicio de Rehidratación Oral del Hospital Nacional San Juan de Dios de San Miguel.

4.3.2 CRITERIOS DE EXCLUSIÓN.

Toda la población infantil que no presento cuadro diarreico, que no se encuentre entre las edades de 0 – 5 años y que no asista al servicio de Rehidratación Oral del Hospital Nacional San Juan de Dios de San Miguel.

4.4 TÉCNICAS DE OBTENCIÓN DE INFORMACIÓN.

Las técnicas que permitieron obtener la información son:

- **DOCUMENTAL BIBLIOGRÁFICA:** Con éste se generó un mayor conocimiento del estudio obteniendo información bibliográfica necesaria de libros, diccionarios, enciclopedia entre otros.
- **DOCUMENTAL DE INFORMACIÓN ELECTRÓNICA:** Con ésta se complementaron las bases teóricas fundamentadas en información actualizada y relevante. Se obtuvo información de páginas Web y correos electrónicos.

4.5 TÉCNICAS DE TRABAJO DE CAMPO.

Las técnicas de trabajo de campo que se utilizaron fueron: la observación, mediante la cual se hizo un registro visual real y que consignó los acontecimientos de acuerdo al marco uniforme de la investigación y a la vez se hizo uso de fichas para la obtención de datos de los pacientes. (ver anexo 27)

4.6 TÉCNICAS DE LABORATORIO.

Las técnicas que se utilizaron en esta investigación sirvieron para facilitar el análisis real de los objetivos y así poder dar validez a las hipótesis planteadas, entre estas se mencionan:

TÉCNICAS DE PREPARACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO: Estas ayudaron para el aislamiento de *Escherichia coli enterohemorrágica O157; H7* (MacConkey sorbitol y Cromocen ECCS).

TÉCNICAS DE TOMA DE MUESTRA: Se utilizaron frascos estériles y bolsas pediátricas para recolectar la muestra de la población infantil con cuadro diarreico.

TÉCNICAS DE IDENTIFICACIÓN PRIMARIA.

- ✓ **MEDIO DE AGAR MAC CONKEY:** Para el aislamiento de *Escherichia coli*.
- ✓ **MEDIO DE AGAR MACCONKEY CON SORBITOL:** Para identificar si la bacteria es *Escherichia coli enterohemorrágica O157; H7* u otro tipo de *Escherichia coli*.
- ✓ **MEDIOS CROMOGÉNICOS Y FLUOROGÉNICOS (CROMOCEN ECCS):** Para la identificación si es o no *Escherichia coli enterohemorrágica O157; H7*.

TÉCNICAS DE IDENTIFICACIÓN COMPLEMENTARIAS.

- ✓ **ENZIMA GLUTAMATO DESCARBOXILASA:** para la identificación confirmatoria y final de *Escherichia coli O157;H7*
- ✓ **PRUEBA DE LA OXIDASA:** Para la identificación confirmatoria de la bacteria en estudio.

4.7 INSTRUMENTOS.

Entre los instrumentos que se utilizaron se encuentran las fichas bibliográficas e información electrónica.

4.8 EQUIPO, MATERIAL Y REACTIVOS.

Son todos aquellos que se utilizaron y facilitaron la realización de las técnicas para el aislamiento de la bacteria en estudio.

EQUIPO:

- Microscopio
- Estufa
- Olla de presión
- Refrigeradora
- Balanza granataria
- Incubadora.

MATERIAL:

- Guantes
- Asa bacteriológica
- Gradilla
- Mechero bunsen
- Lápiz graso
- Botes estériles para la recolección de muestras.
- Cinta testigo
- Cajas de petri
- Fósforos
- Erlenmeyer

- Desinfectante
- Tubo estériles para la oxidasa
- Papel filtro

REACTIVOS:

- Agua destilada
- Alcohol
- Lejía
- Reactivo de la oxidasa
- Enzima glutamato descarboxilasa

MEDIOS DE CULTIVOS:

- Agar MacConkey
- Agar MacConkey con sorbitol
- Medios Cromogénicos y Fluorogénicos (Cromocen ECCS)
- Pruebas bioquímicas

4.9 PROCEDIMIENTO.

La investigación se desarrollo en un período de siete meses, que comprendió la etapa de planificación del informe final.

La primera fase comprendió la elaboración del perfil y protocolo de la investigación cada una de estas con su defensa.

La ejecución de la investigación, se llevó a cabo de julio a septiembre de 2006 contando con la autorización y aprobación de las autoridades competentes tanto del Hospital Nacional “San Juan de Dios” como del laboratorio clínico de este nosocomio

en especial de la jefe de la sección de Bacteriología. Se realizó un esquema de rotación del grupo para el procesamiento de muestra. (Ver anexos 1 y 2)

El procedimiento a seguir con cada paciente fué el siguiente:

En primer lugar se prepararon los medios de cultivo a utilizar (MacConkey, MacConkey con sorbitol y el CromoCen ECCS y Pruebas Bioquímicas) (ver anexos 14 a 19)

Luego se recolectaron las muestras diarreicas de niños y niñas menores de cinco años haciendo uso de frascos estériles y bolsas pediátricas las cuales fueron debidamente rotuladas y a la vez se tomaron los datos de cada paciente, la recolección de las muestras se realizaron en el transcurso de la mañana; las muestras obtenidas en el servicio de Rehidratación Oral fueron procesadas en el laboratorio clínico del Hospital Nacional San Juan de Dios.

Se prosiguió con la siembra de las heces diarreicas en el medio de MacConkey (ver anexo 20) y se incubaron de 18 a 24 horas, luego se observó si hubo crecimiento de la bacteria en estudio, (ver anexo 21) si existía crecimiento, se procedió a inocular en pruebas bioquímicas (TSI, citrato, indol, movilidad, rojo de metilo y urea) y a la vez se sembraron en los medios de MacConkey con sorbitol y en el CromoCen ECCS (ver anexo 22 -25) los cuales se incubaron por 18 a 24 horas; si en el MacConkey con sorbitol se observaba crecimiento de colonias incoloras y en el CromoCen ECCS se observan colonias azules verdosas con bordes traslúcidos, sin fluorescencia se sospecha de *Escherichia coli enterohemorrágica O157;H7*.(ver anexos 10 y 13)

Como último paso se realizó la prueba de la oxidasa la cual consiste en colocar papel filtro en una caja de petri y sobre este las colonias sospechosas, se aplica una gota

de reactivo de oxidasa y de 15 a 30 segundos se observa el resultado por medio de un viraje de color. (ver anexo 26)

Luego se procedió a la tabulación e interpretación de los resultados, seguidamente de las conclusiones y recomendaciones.

CAPÍTULO V

PRESENTACIÓN DE LOS RESULTADOS.

PRESENTACIÓN DE LOS RESULTADOS.

Los resultados que se presentan a continuación fueron obtenidos durante la ejecución de la investigación que se llevó a cabo en los meses de julio a septiembre de 2006, para comprobar la existencia de *Escherichia coli O157;H7* en la población infantil de 0 – 5 años que asisten al servicio de Rehidratación Oral en el hospital Nacional San Juan de Dios de la Ciudad de San Miguel.

Para el análisis e interpretación de los resultados los datos se ordenaron en tablas de frecuencias donde se obtuvo el porcentaje de niños/as que presentaron cuadros diarreicos.

Seguidamente para el ordenamiento de los datos se hizo uso de un diseño factorial con un arreglo de bloques al azar realizándose un análisis de varianza mediante una serie de combinaciones para un orden lógico de los diferentes parámetros de la investigación; los datos estadísticos finales se obtuvieron mediante la prueba de Duncam.

Por último para obtener el porcentaje de casos positivos y negativos se realizó por medio de una tabla de frecuencias

CUADRO No 1

FRECUENCIA DE *ESCHERICHIA COLI O157;H7* EN LA POBLACION INFANTIL DE 0 – 5 AÑOS.

Para obtener el porcentaje de la población infantil se realizó por medio de frecuencias cuya fórmula es la siguiente.

$$\% = \frac{F \times B}{n}$$

Donde:

% = Porcentaje de niños/as

F = Frecuencia por edad

B = Representa el 100%

n = Total de niños/as

| EDAD (NIÑOS/AS) | FRECUENCIA (POSITIVOS A <i>ESCHERICHIA COLI O157;H7</i>) | % | FRECUENCIA (NEGATIVOS A <i>ESCHERICHIA COLI O157;H7</i>) | % |
|--------------------|---|----|---|--------|
| 0 – 1 | 0 | 0% | 19 | 33.33% |
| 2 – 3 | 0 | 0% | 30 | 52.63% |
| 4 – 5 | 0 | 0% | 8 | 14.03% |
| TOTAL | 0 | 0% | 57 | 100% |

FUENTE: Resultado de laboratorio y diario de campo

ANÁLISIS

En el cuadro No. 1 se muestran los resultados obtenidos durante la investigación de *Escherichia coli 0157; H7* en la población infantil.

Donde de los 57 niños/as de 0 – 5 años a los que se les realizó coprocultivo se obtuvo un 100% de casos negativos a *Escherichia coli 0157; H7*,

INTERPRETACIÓN

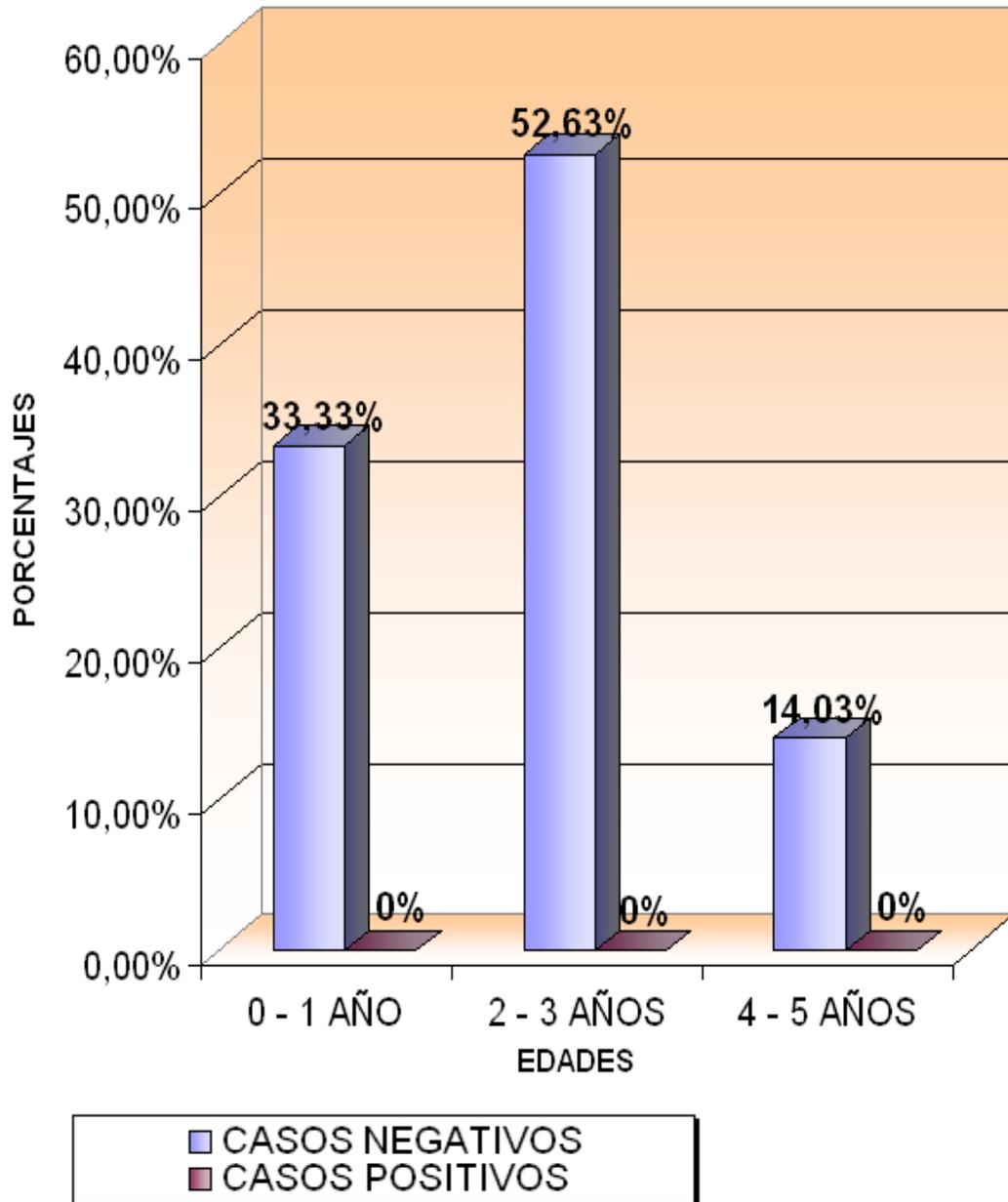
El cuadro anterior muestra que *Echerichia coli 0157; H7* no es la principal causante de diarrea en la población infantil de 0 – 5 años que asistieron al servicio de Rehidratación Oral del Hospital Nacional San Juan de Dios ya que no se presentó ningún caso positivo.

Por lo cual se acepta la hipótesis nula que establece lo siguiente: la población infantil de cero a cinco años que asisten al servicio de Rehidratación Oral del Hospital Nacional San Juan de Dios que presentan cuadro diarreico no se debe a *Echerichia coli 0157; H7*

Por lo tanto se rechaza la hipótesis de investigación que enuncia: la población infantil de cero a cinco años que asisten al servicio de Rehidratación Oral del Hospital Nacional San Juan de Dios que presentan cuadro diarreico de debe a *Echerichia coli 0157; H7*.

GRAFICO No1.

**FRECUENCIA DE *ESCHERICHIA COLI* ENTEROHEMORRAGICA O157;H7
LA POBLACION INFANTIL DE 0 A 5 AÑOS**



FUENTE: Cuadro No 1

COMPROBACIÓN DE LA HIPÓTESIS ALTERNATIVA
RESULTADOS OBTENIDOS EN LOS COPROCULTIVOS REALIZADOS A LA
POBLACIÓN INFANTIL

| EDADES | SEXO | <i>ESCHERICHIA COLI O157;H7</i> | SHIGELLA | ESCHERICHIA COLI | X | $\sum x$ |
|---------------|-------------|--|-----------------|-------------------------|----------|----------------------------|
| 0 - 1 | M | 0 | 1 | 5 | 2 | 26 |
| | F | 0 | 0 | 4 | 1.3333 | 16 |
| 2 - 3 | M | 0 | 0 | 10 | 3.3333 | 100 |
| | F | 0 | 1 | 10 | 3.6667 | 101 |
| 4 - 5 | M | 0 | 0 | 1 | 0.3333 | 1 |
| | F | 0 | 0 | 4 | 1.3333 | 16 |
| $\sum x$ | | 0 | 2 | 34 | | |
| X | | 0 | 0.3333 | 5.6666 | | |

El cuadro No. 2 presenta los resultados obtenidos en los coprocultivos realizados a la población infantil de 0 – 5 años que asistió al Servicio de Rehidratación Oral del Hospital Nacional San Juan de Dios en el período de Julio a Septiembre de 2006.

Para un mejor ordenamiento de los datos se utilizó el diseño Factorial en un arreglo de bloques al azar el cual consiste en una serie de combinaciones para un orden lógico de los resultados; obteniéndose una media aritmética (X) y una sumatoria de X ($\sum x$).

PASOS PARA EL FACTORIAL EN UN ARREGLO DE BLOQUES AL AZAR

1- Arreglos para suma de cuadrados.

| EIDADES | SEXO | | Yi |
|---------|------|----|----|
| | M | F | |
| 0 - 1 | 6 | 4 | 10 |
| 2 - 3 | 10 | 11 | 21 |
| 4 - 5 | 1 | 4 | 5 |
| Yj | 17 | 19 | 36 |

2- Suma de cuadrados

➤ Suma de cuadrados de la edad

$$ScA(\text{edad}) = \frac{\sum Y_i^2}{br} - \frac{Y^2}{abr}$$

Donde:

ScA = Suma de cuadrados de la edad

$\sum Y_i$ = Sumatoria del rango de edad

Y = Total de bacterias encontradas

a = Edad repetición (3)

b = Sexo repetición (2)

r = repetición en cada edad y sexo.

$$ScA(\text{edad}) = \frac{\sum Y_i^2}{br} - \frac{Y^2}{abr} = \frac{10^2 + 21^2 + 5^2}{2 \times 3} - \frac{36^2}{3 \times 2 \times 3} = \frac{566}{6} - \frac{1296}{18} =$$

$$94.33 - 72 = 22.33$$

➤ **Sumatoria del cuadrado del sexo**

$$ScB (\text{sexo}) = \frac{\sum Y_j^2}{ar} - \frac{Y^2}{abr}$$

Donde:

ScB = Sumatoria de cuadrados del sexo

$\sum Y_j$ = Sumatoria rango de sexo

a = Edad repetición (3)

b = Sexo repetición (2)

r = repetición en cada edad y sexo.

$$ScB (\text{sexo}) = \frac{\sum Y_j^2}{ar} - \frac{Y^2}{abr} = \frac{17^2 + 19^2}{3 \times 3} - \frac{36^2}{3 \times 2 \times 3} = \frac{650}{9} - \frac{1296}{18} =$$

$$72.22 - 72 = 0.22$$

➤ **Sumatoria de los cuadrados de la edad y el sexo**

$$ScAB = \frac{\sum Y_{ij}^2}{r} - \frac{Y^2}{abr} =$$

Donde:

ScAB = Sumatoria de cuadrados de la edad y el sexo

$\sum Y_{ij}$ = Sumatoria rango de la edad y el sexo

a = Edad repetición (3)

b = Sexo repetición (2)

r = repetición en cada sexo y edad.

$$Sc_{AB} = \frac{\sum Y_{ij}^2}{r} - \frac{Y^2}{abr} = \frac{6^2 + 4^2 + 10^2 + 11^2 + 1^2 + 4^2}{3} - \frac{36^2}{3 \times 2 \times 3} =$$

$$\frac{290}{3} - \frac{1296}{18} = 96.66 - 72 = \mathbf{24.66}$$

$$Sc_{AB} = 24.66 - (22.33 + 0.22) = 24.66 - 22.55 = \mathbf{2.11}$$

➤ **Suma del cuadrado del tratamiento**

$$S_{ctr} = Sc_A^2 + Sc_B^2 + Sc_{AB}$$

Donde:

S_{ctr} = Suma del cuadrado del tratamiento combinada edad por sexo

Sc_A = Suma de cuadrados de la edad

Sc_B = Sumatoria de cuadrados del sexo

Sc_{AB} = Sumatoria de cuadrados de la edad y el sexo

$$S_{ctr} = 22.33 + 0.22 + 2.11 = \mathbf{24.66}$$

➤ **Sumatoria de los bloques para las bacterias**

Donde:

Sc_{bl} : Suma del cuadrado de los bloques (bacterias)

$\sum YK^2$: Sumatoria de los diferentes tipos de bacterias

$$Sc_{Bl} = \frac{\sum YK^2}{ab} - \frac{Y^2}{abr} = \frac{0^2 + 2^2 + 34^2}{3 \times 2} - \frac{36^2}{3 \times 2 \times 3} = \frac{1160}{6} - \frac{1296}{18} =$$

$$193033 - 72 = \mathbf{121.33}$$

➤ **Suma del cuadrado total**

$$Sct = \sum\sum\sum Y_{ijk} - \frac{Y^2}{Abr} =$$

Donde:

ScT = Suma del cuadrado total

$\sum\sum\sum Y_{ijk}$ = Suma de todos los posibles errores

$$ScT = \sum\sum\sum Y_{ijk} - \frac{Y^2}{Abr} = 260 - \frac{36}{3 \times 2 \times 3}$$

$$260 - 372 = \mathbf{188}$$

➤ **Suma de cuadrado del error**

$$ScEE = ScT - (Sctr + ScBl)$$

Donde:

ScEE = Suma de cuadrado del error

ScT = Suma del cuadrado total

Sctr = Suma del cuadrado del tratamiento (sexo*edad)

ScBl = Sumatoria de los bloques (bacterias)

$$ScEE = ScT - (Sctr + ScBl) = 188 - (24.66 + 121.33)$$

$$188 + 1458.99 = \mathbf{42.01}$$

**ANALISIS DE VARIANZA DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS EN LOS
COPROCULTIVOS REALIZADOS A LA POBLACION INFANTIL**

| F de V | gl | Sc | Cm | fc | F α | |
|----------------------|----|--------|--------|-----------|------------|------|
| | | | | | 0.05 | 0.01 |
| Tratamiento | 5 | 24066 | 4.932 | 1.29(NS) | 3.20 | 5032 |
| Bloque (bacteria) | 2 | 121.33 | 60.665 | 15.88(**) | 3.98 | 7.21 |
| A (edad) | 2 | 22.33 | 11.165 | 2.92(NS) | 3.98 | 7.21 |
| B(sexo) | 1 | 0.22 | 0.22 | 0.06(NS) | 4.84 | 9.65 |
| A * B | 2 | 2.11 | 1.055 | 0.28(NS) | 3.98 | 7.21 |
| Error | 11 | 42.01 | 3.82 | | | |
| Total | 17 | 188 | | | | |

Para obtener un análisis lógico y ordenado de los datos se realizó un análisis de varianza de los resultados obtenidos en los coprocultivos realizados en la población infantil durante la ejecución de la investigación.

El análisis de varianza consta de seis componentes donde cada uno de ellos contiene un orden de los elementos.

El primero de ellos es el factor de variable (f de v) que esta formado por cuatro elementos importantes como lo es el tratamiento (combinación sexo, edad), bloque (bacterias), edad (A) y sexo (B).

El segundo corresponde a los grados de libertad (gl) que implica el número de repeticiones tanto del sexo (2) como de las edades (3).

El tercer componente compete a la suma de cuadrados (S_c) que no es más que el resultado de los elementos que forman el factor de variable.

El cuarto componente es el cuadrado medio (C_m) el cual se obtiene dividiendo la suma de los cuadrados entre cada grado de libertad; para luego el F calculado (f_c) que forma el quinto elemento, se obtiene dividiendo el cuadrado medio entre cuadrado medio final.

Por último los datos obtenidos en el f calculado se comparan con el f tabla al 1% y al 5% de esa forma se obtiene el grado de significación para cada resultado.

INTERPRETACIÓN:

El análisis de varianza se llevó a cabo mediante una serie de combinaciones en donde el tratamiento corresponde a la combinación del sexo y edad obteniéndose un F calculado con un grado de no significancia al ser comparado al F tabla al 5% y 1% lo que indica que no existe sexo ni edad específica para que los niños/as presenten cuadro diarreico.

El bloque corresponde a las bacterias que producen cuadro diarreico en la población infantil mostrando un alto grado de significación al compararse con el F tabla tanto al 5% como al 1% razón por la cual posteriormente se aplica la Prueba de Duncan para determinar cual es la bacteria que se aísla con mayor frecuencia en los coprocultivos de niños/as con cuadros diarreicos.

Luego se encuentra la edad (A) y el sexo (B) demostrándose estadísticamente que independientemente del sexo o la edad todos los niños/as son vulnerables a presentar cuadro diarreico.

PRUEBA DE DUMCAN

➤ Error típico de la diferencia

$$ETD = T_x \frac{2cmE}{r}$$

Donde:

ETD = Error típico de la diferencia

T_x = T tabla

cmE = Cuadrado medio del error

r = Número de repeticiones

$$ETD = T_x \frac{2cmE}{R} =$$

$$5\% = 2.201 \frac{2(3.82)}{6} = 2.4836$$

$$1\% = 3.106 \frac{2(3.82)}{6} = 3.5048$$

➤ Posición relativa en el arreglo de la media

ECO = *Escherichia coli*

ECO O157;H7 = *Escherichia coli O157;H7*

| <i>ECO</i> | <i>Shigela</i> | <i>ECO O157;H7</i> |
|------------|----------------|--------------------|
| 5.6666 | 0.3333 | 0 |

➤ **Factor de significación**

| | | |
|-----|------|------|
| R = | 2 | 3 |
| 5% | 1.00 | 1.05 |
| 1% | 1.00 | 1.05 |

➤ **Diferencia mínima significativa**

$$DMS = R \times ETD$$

Donde:

DMS = Diferencia mínima significativa

R = Factor de significación

ETD = Error típico de diferencia

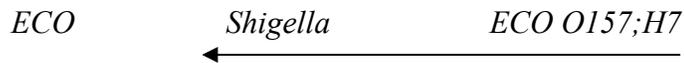
| | | |
|-----|--------|--------|
| R = | 2 | 3 |
| 5% | 2.4836 | 2.6078 |
| 1% | 3.5048 | 3.6800 |

➤ **Arreglo de media en orden de magnitud y prueba de significación**

| | | | |
|-------------------|------------|-----------------|--------------------|
| | <i>ECO</i> | <i>Shigella</i> | <i>ECO O157;H7</i> |
| X | 5.6666 | 0.3333 | 0 |
| <i>ECO</i> | 5.6666 | 1.8886 | 5.6666 (xx) |
| <i>Shigella</i> | 0.3333 | ----- | 0.3333 (NS) |
| <i>ECO O157;H</i> | 0 | ----- | ----- |

Resumen de comparaciones

- Con líneas: todos los no significativos



- Con letras: ordenar los datos por letras donde la letra “a” es la mayor

ECO 5.6666 a

Shigella 0.3333 b

ECO O157; H7 0 b

La prueba de Dumcan se aplicó por que durante la ejecución de la investigación se incluyeron tres elementos (bacterias), donde uno de ellos se encontró en mayor proporción y para determinar que elemento (bacteria) presentó mayor incidencia; se llevó a cabo dicha prueba la cual consta de seis pasos que se detallan a continuación.

En primer lugar se busca el error típico de la diferencia al 5% y 1% en la “T” tabla.

Luego la posición relativa en arreglo de la media que consiste en ordenar la media de los diferentes datos de mayor a menor.

En tercer lugar se obtiene el factor de significación de cada dato para saber si el resultado posee: alto grado de significación, significación relativa o no tiene significación este realiza comparado cada dato con la tabla del factor “R” al 5% y 1%.

El cuarto paso se tiene la diferencia mínima significativa (DMS) donde se multiplica el factor “R” (al 5% y 1%) por el error típico de la diferencia.

El quinto paso incluye el arreglo de media en orden de magnitud y prueba de significación es decir ordenar los datos de mayor a menor, a los resultados obtenidos se les realiza la prueba de significación.

Como último paso se tiene la prueba de comparaciones la cual se realiza de dos formas: con líneas y con letras, en la primera forma todos los datos que no son significativos se les traza una línea, la segunda implica un arreglo de letras donde la letra “a” es la máxima nota luego le sigue la “b,c,....” Y así sucesivamente según la cantidad de datos.

INTERPRETACIÓN

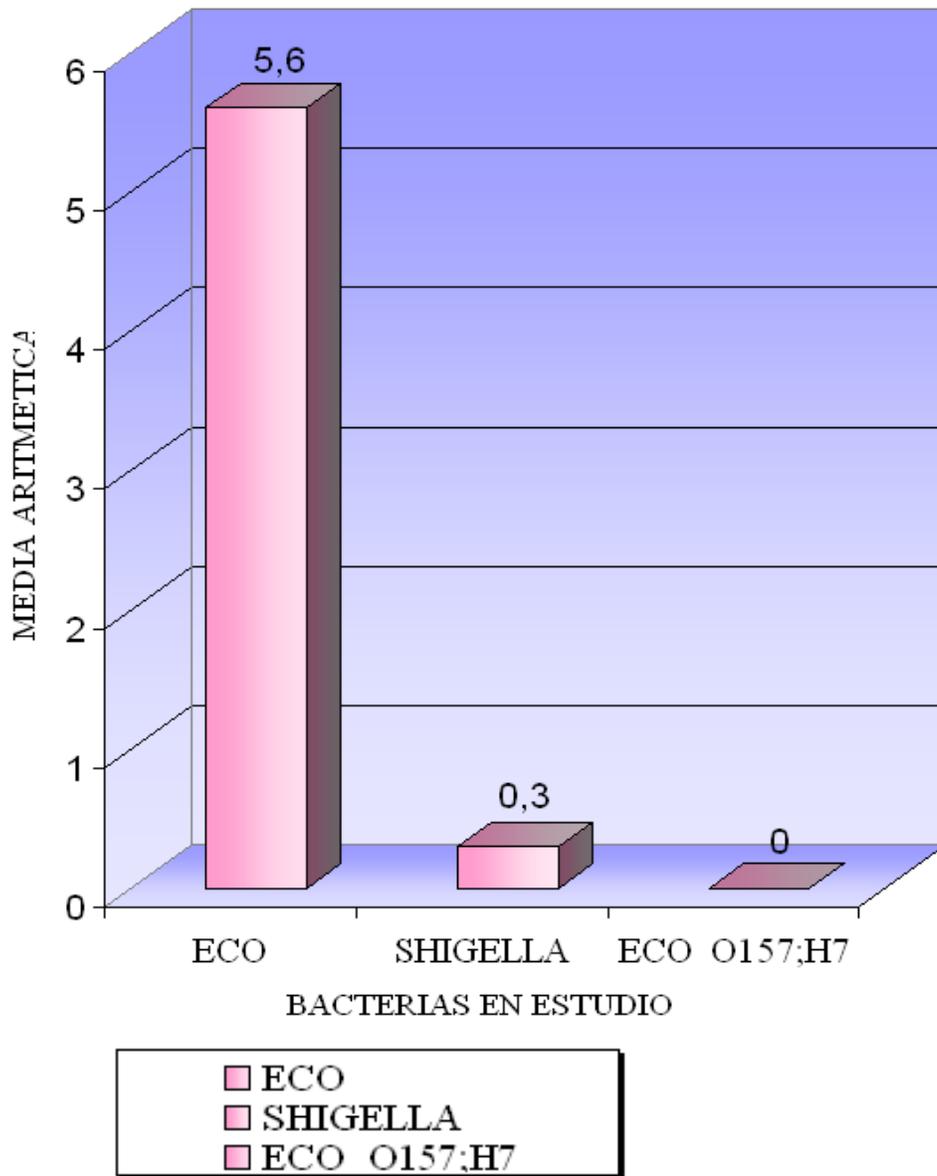
Al aplicar la prueba de Dumcan se comprueba estadísticamente que la *Escherichia coli* es la bacteria que con mayor frecuencia produce diarrea a la población infantil ya que presenta alta significancia; la *Shigella* es otra bacteria que produce cuadro diarreico a la población pero en menor proporción ya que no presentó significancia alguna.

Por tal razón se acepta la hipótesis alternativa que enuncia lo siguiente:

La población infantil de 0 – 5 años que asiste al servicio de Rehidratación Oral del Hospital Nacional San Juan De Dios de la Ciudad de San Miguel, que presenta cuadro diarreico se debe a bacterias como la, *Shigella* y *Salmonella* y otros tipos de *Escherichia coli*.

GRAFICO No 2

RESULTADOS OBTENIDOS EN LOS COPROCULTIVOS REALIZADOS EN LA POBLACION INFANTIL DE 0 A 5 AÑOS



FUENTE: Resultado de laboratorio y diario de campo

CUADRO No 3

FRECUENCIA DE *ESCHERICHIA COLI* Y *SHIGELLA* EN LA POBLACIÓN INFANTIL DE 0 – 5 AÑOS

| VARIABLES | | FRECUENCIA DE CASOS POSITIVOS | | | | FRECUENCIA DE CASOS NEGATIVOS | |
|--------------|------|-------------------------------|---------------|-----------------|-------------|-------------------------------|---------------|
| EDADES | SEXO | <i>ESCHERICHIA COLI</i> | % | <i>SHIGELLA</i> | % | NO BACTERIA PATOGENA | % |
| 0 – 1 | M | 5 | 8.77% | 1 | 1.75% | 6 | 10.53% |
| | F | 4 | 7.02% | 0 | 0 | 3 | 5.26% |
| 2 - 3 | M | 10 | 17.54% | 0 | 0 | 6 | 10.53% |
| | F | 10 | 17.54% | 1 | 1.75% | 3 | 5.26% |
| 4 - 5 | M | 1 | 1.75% | 0 | 0 | 2 | 3.51% |
| | F | 4 | 7.02% | 0 | 0 | 1 | 1.75% |
| TOTAL | | 34 | 59.64% | 2 | 3.6% | | 36.84% |

FUENTE: Resultado de laboratorio y diario de campo

ANALISIS

El cuadro No. 3 muestra el porcentaje de casos positivos (*Escherichia coli* y *Shigella*) y negativos (no se aisló bacteria patógena) que se obtuvieron en 57 pacientes muestreados durante la ejecución de la investigación.

De los 57 niños/as muestreados el 59.64% presentó diarrea por *Escherichia coli*, el 3.5% por *Shigella* y el 36.84% de la población infantil no aisló bacteria patógena.

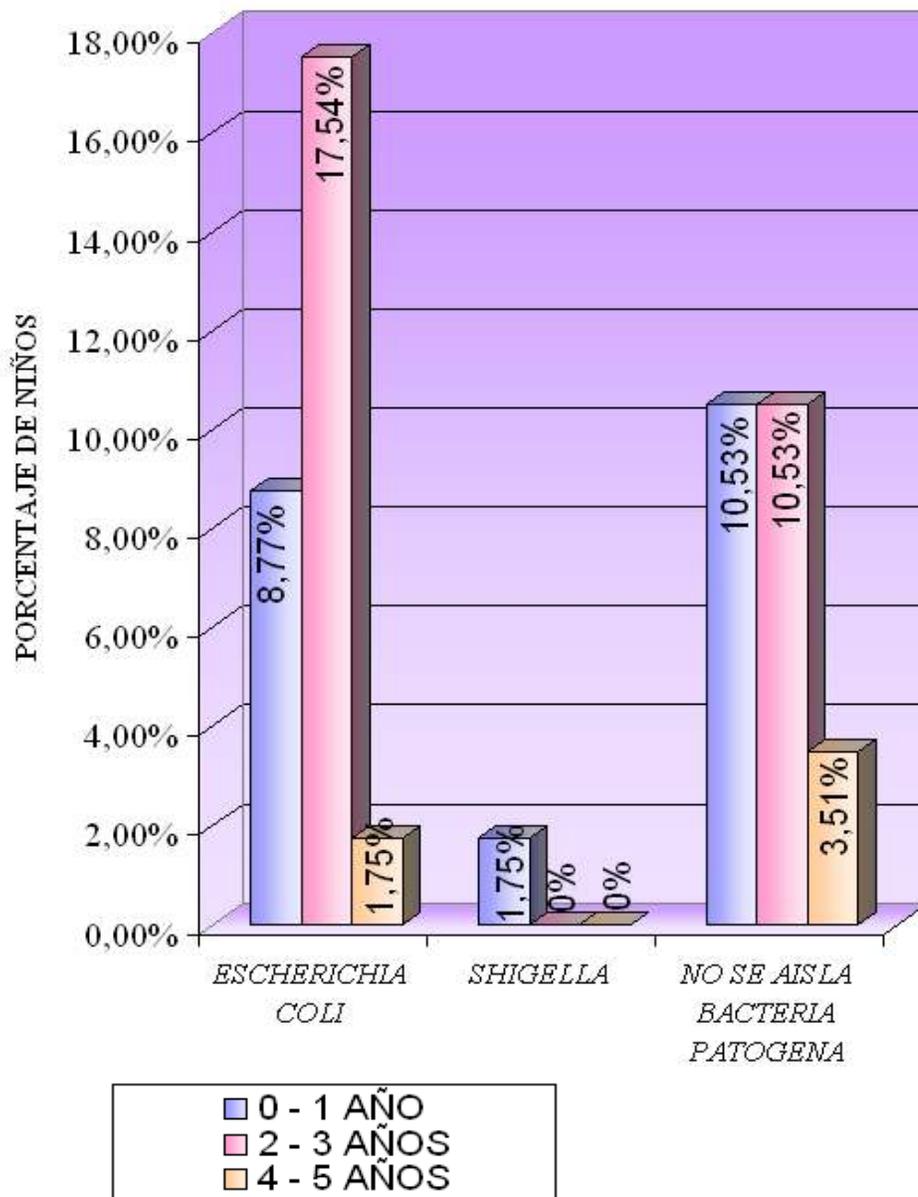
INTERPRETACION

El cuadro anterior muestra que el 59.64% de los cuadros diarreicos fueron causados por *Escherichia coli* presentando un alto grado de incidencia en comparación con la *Shigella* cuyo porcentaje es de 3.5%; por lo tanto se comprobó que la *Escherichia coli* es la que produce con mayor frecuencia diarrea en la población infantil.

El 36.84% de niños/as a los que se les realizó el coprocultivo no se les aisló bacteria patógena.

GRAFICO No 3

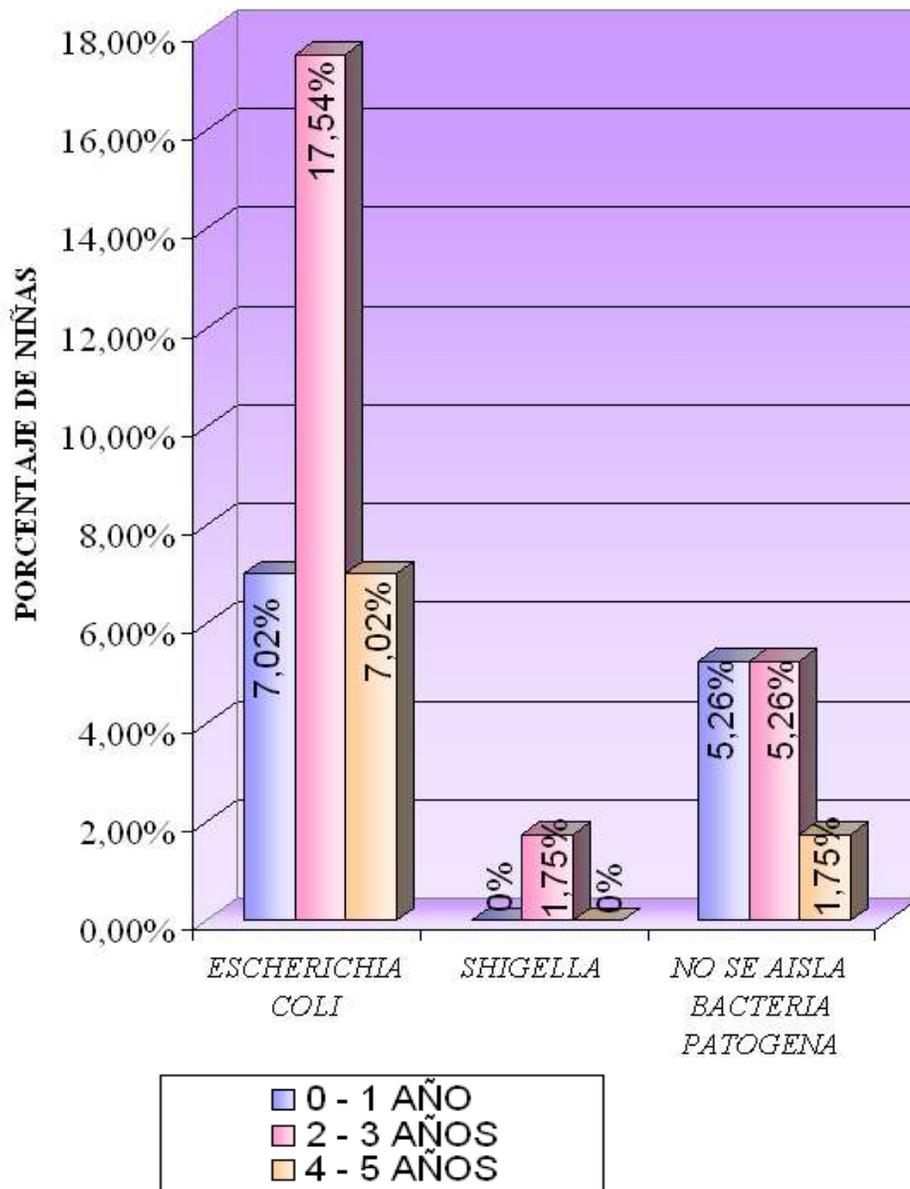
FRECUENCIA DE *ESCHERICHIA COLI* Y *SHIGELLA* EN LA POBLACION INFANTIL



FUENTE: Cuadro No 3

GRAFICO No 3

FRECUENCIA DE *ESCHERICHIA COLI* Y *SHIGELLA* EN LA POBLACION INFANTIL



FUENTE: Cuadro No 3

CAPÍTULO VI

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

6. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.

6.1 CONCLUSIONES

Con base al análisis e interpretación de los resultados y a todo el proceso de investigación se concluye que:

- ✓ La *Escherichia coli* O 157; H7 no es la principal causante de cuadros diarreicos en la población de 0 – 5 años que asisten al servicio de Rehidratación Oral en el Hospital Nacional San Juan de Dios de la ciudad de San Miguel.

- ✓ De las hipótesis planteadas se aceptó la hipótesis alternativa que establece lo siguiente: La población infantil de 0 – 5 años que asisten al servicio de Rehidratación Oral en el Hospital Nacional San Juan de Dios que presenta cuadro diarreico se debe a bacterias como la *Shigella*, *Salmonella* y otros tipos de *Escherichia coli*.

- ✓ También se aceptó la hipótesis nula que enuncia lo siguiente: La población infantil de 0 – 5 años que asisten al servicio de Rehidratación Oral en el Hospital Nacional San Juan de Dios que presentan cuadro diarreico, no se debe a *Escherichia coli* O 157; H7.

- ✓ Durante la investigación se concluyó que la *Escherichia coli* produce cuadro diarreico con mayor frecuencia en la población infantil de 0 – 5 años seguida en menor proporción por la *Shigella*.

- ✓ Que el sexo y la edad no son factores predisponentes para que los niños/as presenten cuadro diarreico.

6.1 RECOMENDACIONES.

Con el presente trabajo de investigación se comprobó que la *Escherichia coli enterohemorrágica 0157; H7* no es la principal causante de diarrea en la población infantil pero que existen otras bacterias como la *Escherichia coli* y la *Shigella* que son causantes de cuadro diarreico con mayor frecuencia en los niños/as de 0 – 5 años por lo cual se recomienda lo siguiente:

Al ministerio de Salud Pública:

- ✓ Que imparta campañas sobre la higiene a la población en general.
- ✓ Que promueva capacitaciones al personal de laboratorio sobre pruebas diagnosticas para el aislamiento de *Escherichia coli enterohemorrágica 0157; H7*.
- ✓ Que facilite los fondos necesarios para que cada hospital compre los medios de cultivo y reactivo adecuados para el aislamiento y la identificación de *Escherichia coli enterohemorrágica 0157; H7*.

Al laboratorio clínico del Hospital Nacional San Juan de Dios de la ciudad de San Miguel se le recomienda lo siguiente:

- ✓ Que le dé continuidad a la investigación de *Escherichia coli enterohemorrágica 0157; H7* ya que es una bacteria poco frecuente y un caso positivo es de mucha importancia epidemiológica.

- ✓ Se le sugiere que establezca medidas para una adecuada toma de muestra y de esta forma garantizar un control de calidad en las etapas del laboratorio.

BIBLIOGRAFÍA

LIBROS:

JAWATZ, MECNICK Y ADELBERG. Microbiología Médica, 17 edición, en español, México, Distrito Federal, Editorial EL MANUAL MODERNO, 844 págs.

KENNETH, J. RYAN Y C. GEORGE. Microbiología Médica, 4 edición, en español, México, Distrito Federal, Editorial. MC GRAWHILL interamericano 1060 págs.

KONEMAN, Elmer W. y otros. Diagnóstico Microbiológico. 5ª edición. Buenos Aires Argentina. Editorial MÉDICA PANAMERICANA. 1432 Págs.

MELLONI, Biagio Jhon y otros. Diccionario Médico Ilustrado de Melloni. Barcelona España, Editorial REVERTÉ S.A. 1993, 598

LOPEZ BELTRAN, José Francisco y SERPAS MONTOYA, Mario Vicente. Guía Metodológica para la elaboración de protocolo de investigación. UEI (Unidad de Investigación y Elaboración). El Salvador, 2001. 72 Págs.

PIURA LOPEZ, Julio. Introducción a la Metodología de la Investigación Científica. Centro de investigación y Estudios de Salud. 4ª. Edición. Managua, Nicaragua. 2000. 185 Págs

RIVERA, LOPEZ, Julio. Introducción a la Metodología de la Investigación Científica. 1ª edición en español, Managua, Nicaragua, Litográfica y Topográfica Rojas, 1998, 134 Págs.

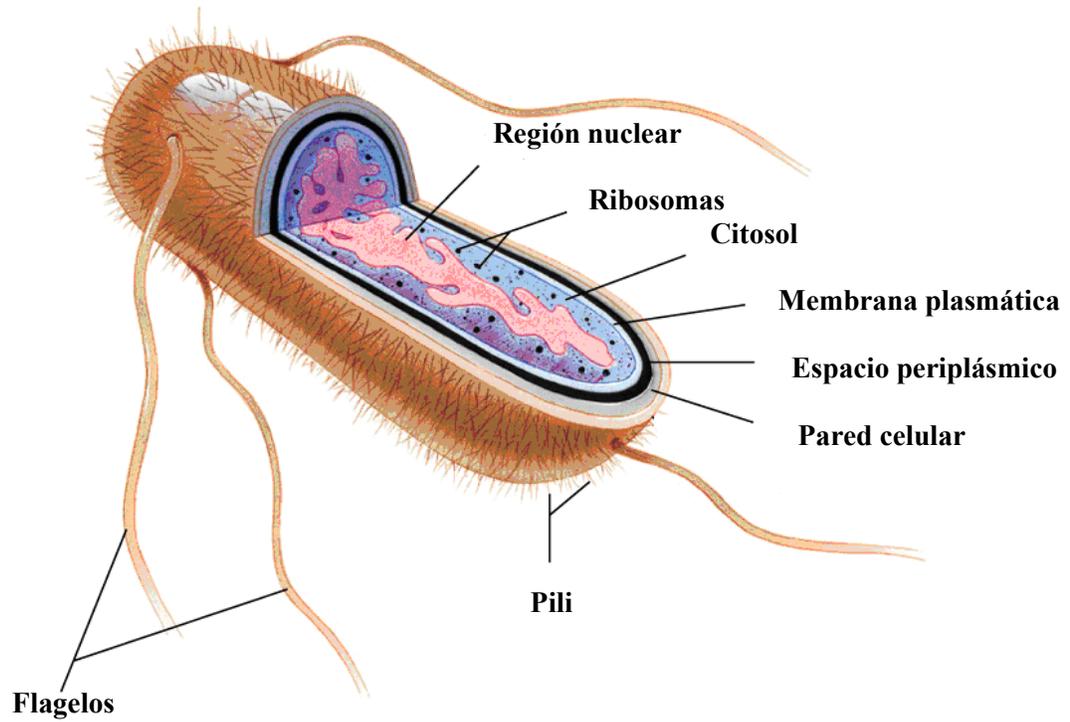
DIRECCIONES ELECTRÓNICAS.

- www.personal.ksu.edu (consultado 04/03/06)
- www.cinefarmacie.univ.fcomte.fr (consultado 04/03/06)
- www.steve.gb.com (consultado 04/03/06)
- www.biotex.cz (consultado 05/03/06)
- www.micro.msb.le.ac.uk (consultado 05/03/06)
- www.biocen.htm.com (consultado 05/03/06).
- www.diseaseinfo/escherichiacoli-g.htm (consultado 12/03/06)
- www.wikipedia.org/wiki/Escherichia-coli (consultado 16/03/06)
- www.Sisbib.unmsm.edu.ped/BVRevistas/rfmh-urp/v3n1/a12.htm-26 (consultado 28/03/06).
- www.bvs.sld.cu/revistas/act/vol9-htm (consultado 04/04/06)
- www.whfreeman.com/life/update/ (consultado 09/04/06)
- www.seimc.org/control/revi-Bacte/sarm.htm (consultado 21/04/06)
- www.edicion-micro.usal.es/Web/educativo/micro2/tema23.html (consultado 25/04/06).

- www.medic.med.uth.tmc.edu/path/.(consultado 09/05/06).
- www.Fsis.usda.gov/OA/topics/gb.htm. (consultado 16/05/06).
- www./Catálogodemediosdecultivo.htm(consultado 23/05/06)
- www.diseaseinfo/escherichiacoli-g.htm.(consultado 27/05/06).
- www.elhabanero.cubaweb.cu/com .(consultado 30/05/06).

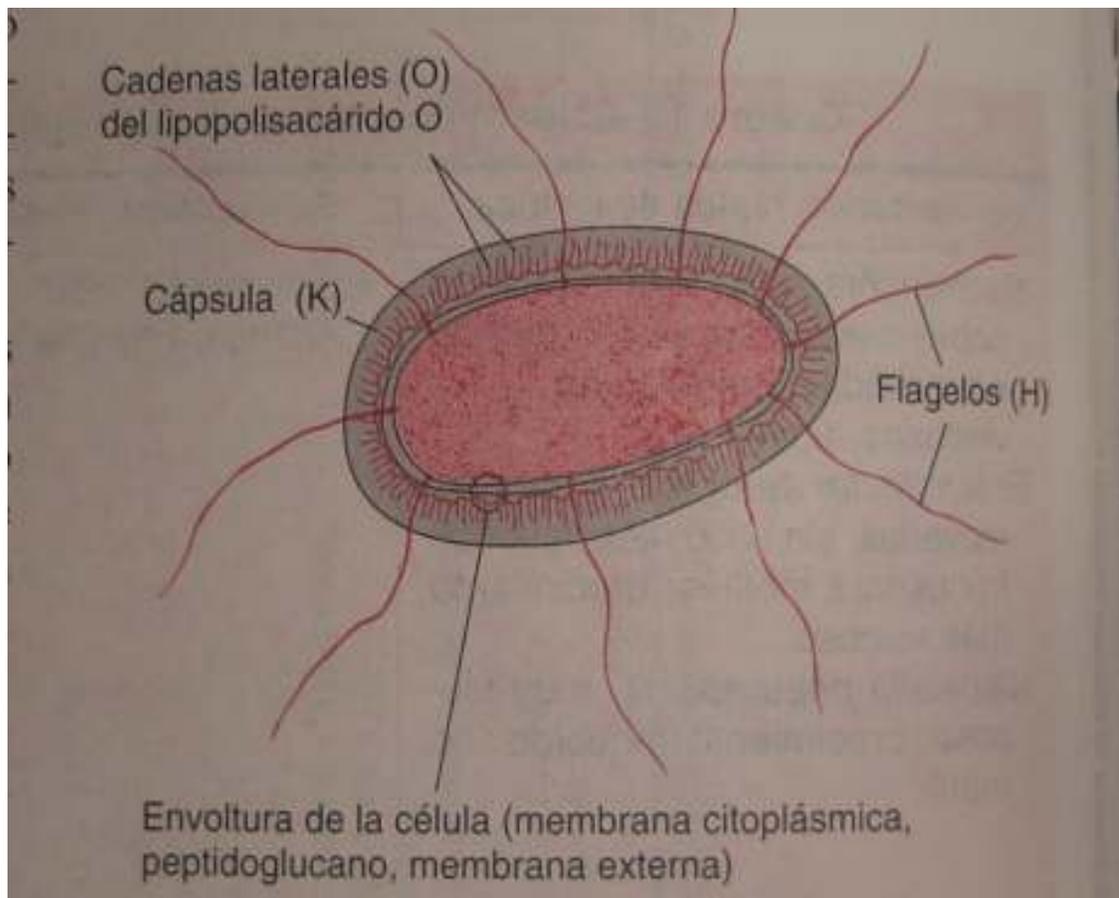
ANEXOS

ANEXO 3



La figura muestra la estructura de *Escherichia coli* que es un bacilo gram negativo el cual habita el intestino del humano como parte de la flora normal.

ANEXO 4



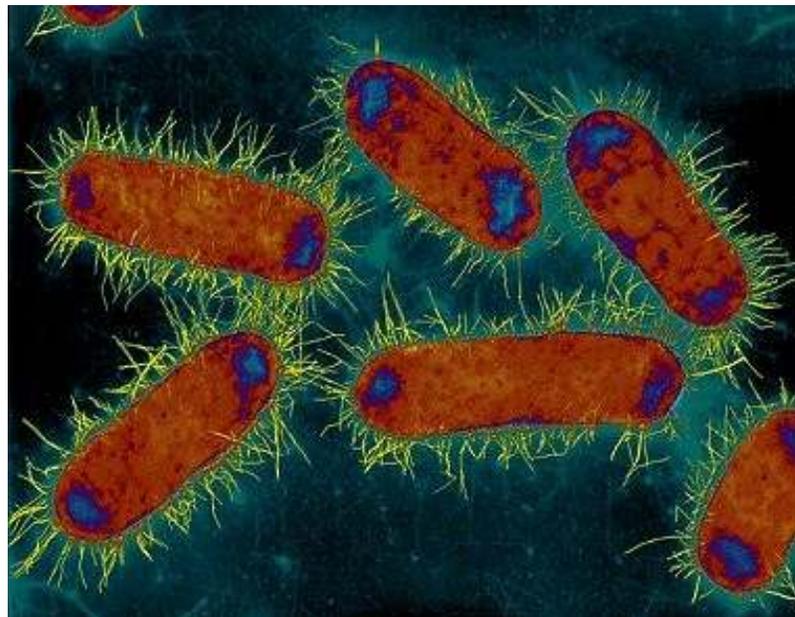
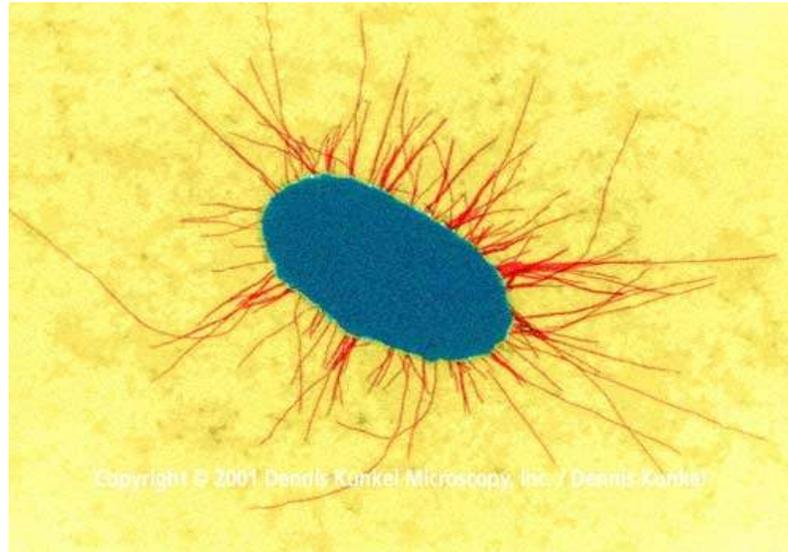
Esta figura muestra la estructura antigénica de *Escherichia coli*

ANEXO 5



En esta figura se observan los flagelos que posee *Escherichia coli*

ANEXO 6



En este anexo se observan los Pilis o fimbrias que posee *Escherichia coli* y que contribuyen a la adherencia a las células del huésped.

ANEXO 7

| MacConkey con Sorbitol | |
|--|---------|
| Resumen pancreático de la gelatina | 17.0 gm |
| Sorbitol | 10.0gm |
| Cloruro de sodio | 5.0gm |
| Resumen pancreático de la caseína | 1.5gm |
| Resumen péptico del tejido fino animal | 1.5gm |
| Mezcla de las sales de bilis | 1.5gm |
| Rojo neutral | 30.0mg |
| Violeta Cristalina | 1.0mg |
| Agar | 13.5gm |

PH final 7.1 +/- 0.2 en 25 grados de C.

En esta tabla se mencionan los componentes del MacConkey con sorbitol.

ANEXO 8



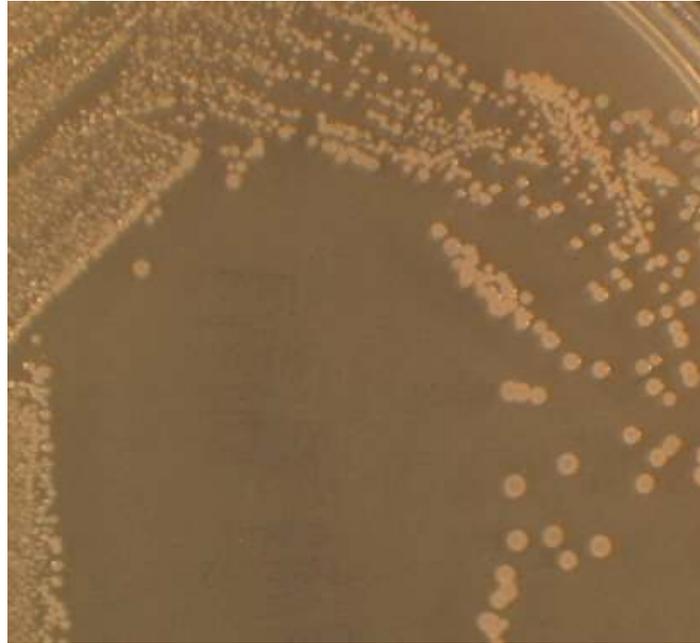
Este anexo muestra el MacConkey con sorbitol que permite el crecimiento de *Escherichia coli* O157:H7, observándose las colonias incoloras.

ANEXO 9



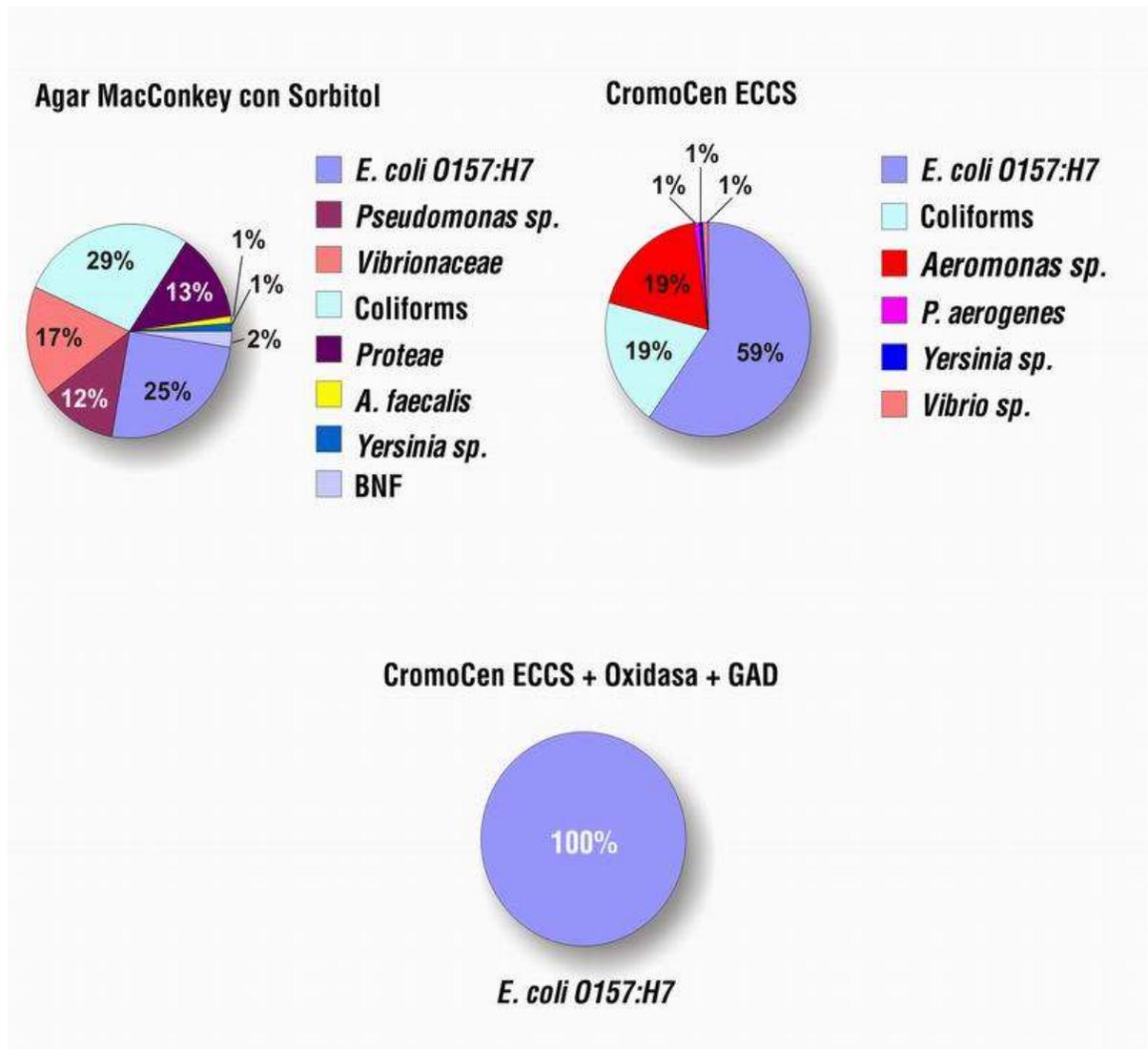
En esta figura se muestran las colonias incoloras de *Escherichia coli* O157; H7 en MacConkey con sorbitol.

ANEXO 10



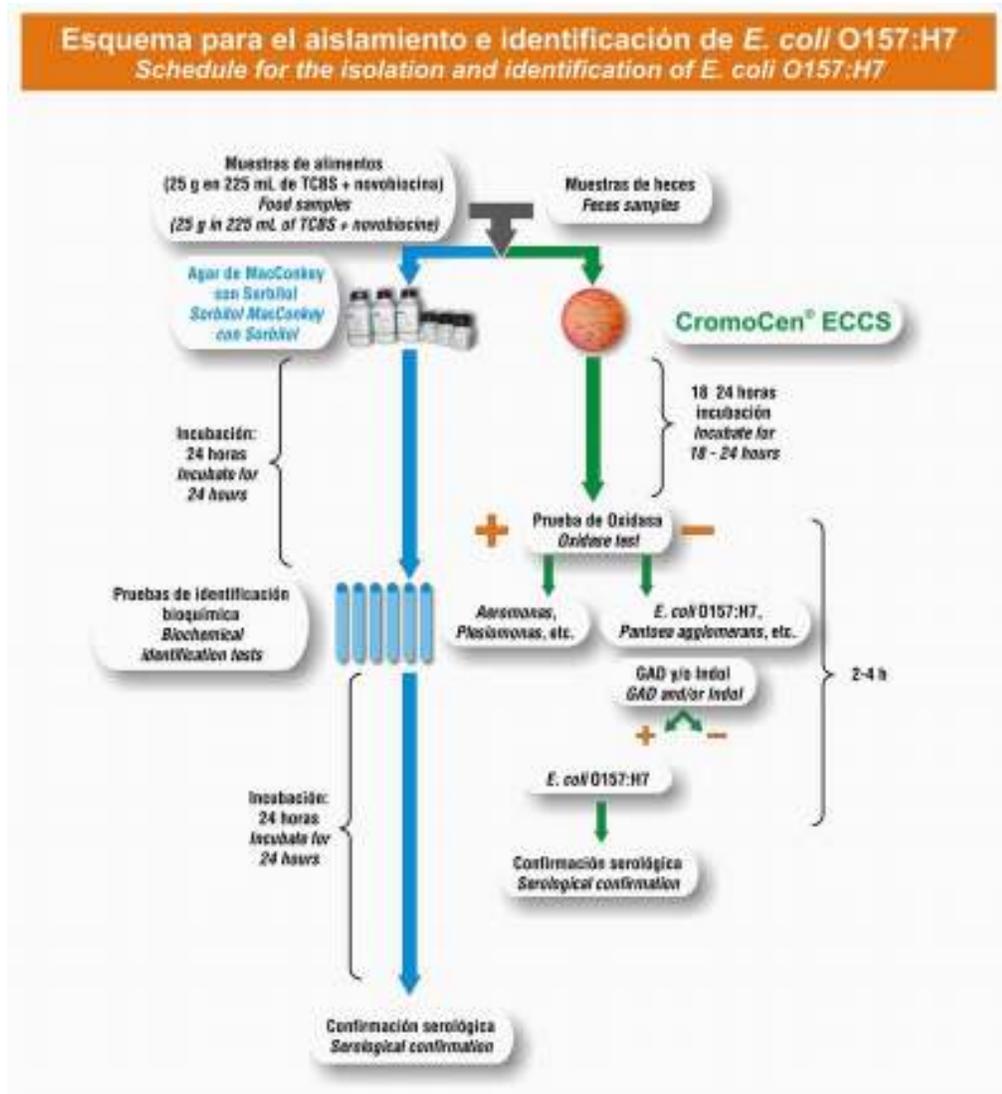
Esta figura muestra el crecimiento de *Escherichia coli* enterohemorrhagica 0157; H7 en el medio de MacConkey con sorbitol adicionandole cefixime.

ANEXO 11



En esta figura se muestra la sensibilidad del MacConkey con sorbitol y el CromoCen ECCS para la determinación de *Escherichia coli O157:H7*; los cuales acompañados de las pruebas de Oxidasa y Glutamato descarboxilasa son confirmatorios para la determinación de la bacteria.

ANEXO 12



En este esquema se muestran los pasos a seguir para el aislamiento de *Escherichia coli* O157; H7 y la identificación de esta haciendo uso de la prueba rápida Glutamato Descarboxylasa.

ANEXO 13

| Características Técnicas del Producto <i>Technical characteristics of the Product</i> | | | | |
|---|---|--|---|--|
| Microorganismos <i>Microorganisms</i> | Características de las colonias aisladas <i>Characteristics of isolated colonies</i> | Pruebas rápidas adicionales <i>Fast additional test</i> | Inoculación por el método de inundación de la superficie <i>Inoculation by Spread-plate method</i> | Inoculación por el método de estriado de placas <i>Inoculation by Streak-plate method</i> |
| <i>E. coli</i> O157:H7 | Azules verdosas, bordes traslúcidos, sin fluorescencia <i>Blue greenish translucent borders, without fluorescence</i> | GAD (+) Oxidasa (-) <i>GAD (+) Oxidase (-)</i> |  |  |
| Bacterias Gram-positivas <i>Gram-positive bacteria</i> | Inhibidas <i>Inhibited</i> | — | — | — |

GAD- prueba rápida de la enzima glutamato descarboxilasa
OXIDASA- prueba de la oxidasa en papel de filtro

GAD- glutamate decarboxylation rapid test
OXIDASE- oxidase test of filter paper

Esta figura muestran los medios cromogénicos y fluorogénicos que son útiles para el aislamiento de *Escherichia coli* O157; H7

ANEXO 14

Preparación de medios de cultivo

- ✓ MacConkey
- ✓ MacConkey con sorbitol

Pesar la cantidad de medio de cultivo a utilizar



Disolverlo en agua destilada



Llevarlo a ebullición



Autoclavear



Vertir en placas de petri, y guardarlas en el refrigerador.

ANEXO 15

Medios Cromogénicos y Fluorogénicos

✓ CromoCen ECCS

Pesar la cantidad de medio de cultivo a utilizar



Disolverlo en agua destilada



Llevarlo a ebullición



Verter en placas de petri, y guardarlas en el refrigerador.

ANEXO 16

Pruebas bioquímicas

- ✓ Tres Azúcares y Hierro (TSI)
- ✓ Citrato

Pesar la cantidad de medio de cultivo a utilizar



Disolverlo en agua destilada



Llevarlo a ebullición



Vertir en tubos con rosca



Autoclavear



Colocar los tubos en posición inclinada para la formación del bisel.

ANEXO 17

- ✓ MIO
- ✓ Rojo de Metilo

Pesar la cantidad de medio de cultivo a utilizar



Disolverlo en agua destilada



Llevarlo a ebullición



Vertir en tubos con rosca



Autoclavear



Dejar enfriar y colocarlos al refrigerador

ANEXO 18

✓ Urea

Autoclavear la cantidad de agua destilada a utilizar



Pesar la cantidad de medio de cultivo a utilizar



Disolverlo en el agua destilada previamente autoclaveada



Vertir en tubos con rosca

ANEXO 19

PREPARACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO



En primer lugar se pesa la cantidad de medio a utilizar



Dependiendo la cantidad de medio así sera el volumen de agua agregada



Se lleva a ebullición en la cocina, el MacConkey y MacConkey sorbitol se esterilizan pero el CromoCen no por que contiene inhibidores



Se vierte en las placas y se deja enfriar luego se colocan al refrigerador.

ANEXO 20

SIEMBRA DE LOS COPROCULTIVOS



Este anexo muestra la inoculación de las heces en el medio de MacConkey donde se toma la muestra con un asa estéril y luego se realizan tres estriados.

ANEXO 21

COLONIAS DE *ESCHERICHIA COLI*



En este anexo se observa el crecimiento de *Escherichia coli* en el medio de MacConkey.

ANEXO 22

AISLAMIENTO DE LAS BACTERIAS EN MACCONKEY SORBITOL Y CROMOCEN ECCS.



En este se muestran los aislamientos de *Escherichia coli* en el medio de MacConkey con sorbitol y en el CromoCen ECCS

ANEXO 23

CRECIMIENTO DE *ESCHERICHIA COLI* EL MACCONKEY CON SORBITOL Y CROMOCEN ECCS.



Se muestran las colonias de *Escherichia coli* en los dos medios utilizados durante la investigación.

ANEXO 24

PRUEBAS BIOQUÍMICAS REALIZADAS A *ESCHERICHIA COLI*



Este anexo muestra la inoculación de *Escherichia coli* en las pruebas bioquímicas (TSI, Citrato, Indol, Rojo de Metilo y la Urea)

ANEXO 25

INTERPRETACIÓN DE LAS PRUEBAS BIOQUÍMICAS



Este anexo muestra las reacciones de las pruebas bioquímicas las cuales permiten la interpretación de los resultados.

ANEXO 26

REALIZACIÓN DE LA PRUEBA DE OXIDASA



Se utiliza una caja de petri con papel Filtro



El reactivo que se utilizó fue la oxidasa



Se diluye reactivo de oxidasa en agua Destilada



Con un palillo se coloca la bacteria en estudio y se le coloca reactivo de oxidasa si no hay cambio de color es negativa pero si cambia a color purpura es positiva

ANEXO 27

**UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD MULTIDISCIPLINARIA ORIENTAL
DEPARTAMENTO DE MEDICINA
LIC. LABORATORIO CLINICO**

**FICHA DE REGISTRO DE LOS NIÑOS/AS DE 0 - 5 AÑOS QUE
PRESENTARON CUADRO DIARREICO**

FECHA: _____

REGISTRO: _____

NOMBRE: _____

EDAD: _____ **SEXO:** _____

SERVICIO: _____

RESULTADOS:

**HOSPITAL NACIONAL SAN JUAN DE DIOS
SAN MIGUEL.**

