



FACULTAD DE TECNOLOGIA MÉDICA

**“Susceptibilidad Antibiótica de Patógenos Gastrointestinales Aislados en
Coprocultivos - Hospital Nacional Arzobispo Loayza 2017”**

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE LICENCIADO EN
TECNOLOGÍA MÉDICA EN LA ESPECIALIDAD DE LABORATORIO Y**

ANATOMÍA PATOLÓGICA

AUTOR

Siguas Carhuaricra Luisa Andrea

ASESOR

More Flores Mario Marcelino

JURADOS

Cruz Gonzales Gloria Esperanza

Lagos Castillo Moraima Angélica

Guillen Oneeglio Lizardo Alfredo

Lima - Perú

2018

INDICE

<i>RESUMEN</i>	9
<i>Palabras claves: Coprocultivo, Susceptibilidad antibiótica</i>	9
<i>SUMMARY</i>	10
<i>INTRODUCCION</i>	11
<i>CAPÍTULO I PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA</i>	12
1.1 Identificación y Descripción del Problema	12
1.2 FORMULACIÓN DE LAS PREGUNTAS GENERALES Y ESPECÍFICAS	13
1.2.2 Problemas específicos	13
1.3 Objetivos Generales y Específicos.....	13
1.3.1 Objetivo General	13
1.3.2 Objetivos Específicos.....	13
1.4 Justificación.....	14
<i>CAPITULO II MARCO TEORICO</i>	15
2.1 ANTECEDENTES.....	15
2.2 Bases Teóricas.....	19
2.2.1 Susceptibilidad bacteriana.....	19
2.2.2 Prueba de susceptibilidad a antimicrobianos.	19

2.2.3 Enfermedades Diarreicas.	20
2.2.4 Diarreas Bacterianas.....	21
2.2.6 Etiología y patogenia.....	22
2.2.7 Métodos microbiológicos.....	37
2.2.8 Medios de Cultivos.	38
2.2.9 Antibióticos.	40
2.3 Hipótesis.....	40
2.4 Términos Básicos	40
<i>CAPITULO III MÉTODO</i>	<i>41</i>
3.1 TIPO Y DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN.....	41
3.2 POBLACIÓN Y MUESTRA:.....	41
3.2.1 Población.....	41
3.2.2 Muestra.....	41
3.3 Variables y Operacionalizacion	42
3.4 Recolección de datos e Instrumento.....	43
3.5 Procedimiento Materiales y equipos	44
3.6 Procesamiento de datos.	46
<i>CAPITULO IV RESULTADOS</i>	<i>47</i>
<i>CAPITULO V DISCUSION, CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....</i>	<i>51</i>
DISCUSION	51

CONCLUSIONES	56
RECOMENDACIONES	57
<i>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</i>	58

RESUMEN

El presente estudio tuvo como objetivo determinar la susceptibilidad antibiótica de patógenos gastrointestinales aislados en coprocultivos, este estudio fue realizado en el Hospital Nacional Arzobispo Loayza de enero a diciembre 2017. Se analizaron 501 muestras de coprocultivos positivos. La metodología empleada fue descriptiva, no experimental, de corte transversal y retrospectivo. Los resultados obtenidos fueron los siguientes: el orden de aislamientos de los microorganismos en los coprocultivos fue en primer lugar para *Shigella spp.* con 42,51%, seguido de *Campylobacter spp.* con 40,12% y *Salmonella spp.* 17,37%. Los serotipos de *Shigella* aislados en coprocultivos fueron los siguientes: *Shigella sonnei* con 63,38%, seguido de *Shigella flexneri* con 28,64%, *Shigella sp.* 6,57% y *Shigella boydii* con 1,41%. De los serotipos de *Salmonella* aislados en coprocultivos se obtuvo: *Salmonella sp.* 77,01%, seguido de *Salmonella Grupo C* con 20,69%, por último *Salmonella Grupo D* y *Salmonella Grupo B* con 1,15%.

Respecto a la susceptibilidad antibiótica a *Shigella* aislados en coprocultivos se obtuvo la siguiente sensibilidad: Ciprofloxacina 100%, susceptibilidad antibiótica a *campylobacter sp.* aislados en coprocultivos se obtuvo una sensibilidad: Eritromicina 92% y en cuanto a la susceptibilidad antibiótica a *Salmonella* aislados en coprocultivos se obtuvo sensibilidad: Cloranfenicol 59.5%. Conclusión: *Salmonella*, *Shigella* y *Campylobacter* son microorganismos que siguen siendo prevalentes en los coprocultivos de los pacientes con problemas diarreicos.

Palabras claves: Coprocultivo, Susceptibilidad antibiótica.

SUMMARY

The objective of this study was to determine the antibiotic susceptibility of gastrointestinal pathogens isolated in stool cultures, this study was conducted in the Hospital Nacional Arzobispo Loayza from January to December 2017. We analyzed 501 samples of positive stool cultures. The methodology used was descriptive, not experimental, cross-sectional and retrospective. The results were the following: the order of isolations of the microorganisms in the coprocultures was first for *Shigella spp.* with 42,51%, followed by *Campylobacter spp.* with 40,12% and *Salmonella spp.* 17,37%. The Shigella serotypes isolated in stool cultures were the following: *Shigella sonnei* with 63,38%, followed by *Shigella flexneri* with 28,64%, *Shigella sp.* 6,57% and *Shigella boydii* with 1,41%. Of the salmonella serotypes isolated in stool cultures obtained: *Salmonella spp.* 77,01%, followed by *Salmonella Group C* with 20,69%, finally *Salmonella Group D* and *Salmonella Group B* with 1,15%.

Regarding the antibiotic susceptibility to Shigella isolated in stool cultures, the following sensitivity was obtained: Ciprofloxacin 100%, antibiotic susceptibility to Campylobacter isolated in stool cultures, a sensitivity was obtained: 92% Erythromycin and in terms of antibiotic susceptibility to Salmonella isolated in stool cultures, sensitivity was obtained: Chloramphenicol 59.5%. Conclusion: Salmonella, Shigella and Campylobacter are microorganisms that are still prevalent in stool cultures of patients with diarrheal problems.

Key Words: Stool culture, Antibiotic susceptibility.

INTRODUCCION

La diarrea es una de las enfermedades más prevalentes en el mundo que responden a causas de infecciones gastrointestinales ocasionadas por agentes bacterianos. Esta enfermedad prevalece principalmente en países subdesarrollados en donde el hacinamiento, la falta de agua potable y la falta de higiene son factores que predisponen a la enfermedad.

El Perú es un país que no escapa de los factores antes mencionado y por lo que muchos niños y adultos padecen de diarrea. (Existen muy pocos estudios a nivel nacional de la etiología de enfermedades diarreicas tanto en niños como adultos)

En la presente investigación hemos querido llegar a conocer cuáles son los principales agentes bacterianos que se encuentran en los coprocultivos de los pacientes que asisten al Hospital Nacional Arzobispo Loayza, para ser diagnosticados y tratados por esta enfermedad. El conocimiento de los agentes bacterianos prevalentes permitirá un diagnóstico y tratamiento preciso de la etiología.

En el presente trabajo se ha considerado: Planteamiento del problema, Marco teórico, Método, Resultados, Discusión, Conclusiones, Recomendaciones, Referencias bibliográficas y Anexos.

CAPÍTULO I PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1 Identificación y Descripción del Problema

Las enfermedades diarreicas agudas continúan siendo uno de los principales problemas de salud pública en los países en desarrollo, convirtiéndose en la segunda mayor causa de muerte en niños menores de cinco años (OMS 2017).

La diarrea suele ser un síntoma de una infección del tracto digestivo, que puede ser producida por diversos microorganismos: parásitos, víricos o bacterianos. La infección se transmite por alimentos o agua de consumo contaminado, o también de una persona a otra como resultado de una higiene deficiente.

La diarrea de origen bacteriano puede presentar mucus, sangre o pus, y presencia de leucocitos en la observación microscópica, cuando es causada por *Shigella* en especial. Puede presentar alteraciones morfológicas e inflamatorias a nivel del colon, fiebre y extensión extraentérica de entidad y frecuencia variable.

Los microorganismos responsables son, *Salmonella*, *Campylobacter*, *Shigella*, , *E. coli* enteroinvasiva, *E. coli* enterotoxigénica, *E.coli* enteropatógena y *Yersinia enterocolitica*.

El presente estudio tiene como objetivo determinar la susceptibilidad antibiótica de los patógenos gastrointestinales aislados con mayor frecuencia en coprocultivos en pacientes del HNAL, y así dar a conocer el perfil de sensibilidad y resistencia que presentan estos tipos de bacterias en la actualidad.

1.2 FORMULACIÓN DE LAS PREGUNTAS GENERALES Y ESPECÍFICAS

- ¿Cuál es la susceptibilidad antibiótica de los patógenos gastrointestinales aislados en coprocultivos en pacientes del HNAL 2017?

1.2.2 Problemas específicos

- ¿Cuál es la frecuencia de *Campylobacter spp.* aislado en coprocultivos en el HNAL 2017?
- ¿Cuál es la frecuencia de *Shigella spp.* según su serotipo aisladas en coprocultivos en el HNAL 2017?
- ¿Cuál es la frecuencia de *Salmonella spp.* según su serotipo aisladas en coprocultivos en el HNAL 2017?
- ¿Cuál es la susceptibilidad a los antimicrobianos de *Campylobacter spp.* aislados en coprocultivos en el HNAL 2017?
- ¿Cuál es la susceptibilidad a los antimicrobianos de *Shigella spp.* aislados en coprocultivos en el HNAL 2017?
- ¿Cuál es la susceptibilidad a los antimicrobianos de *Salmonella spp.* aislados en coprocultivos en el HNAL 2017?

1.3 Objetivos Generales y Específicos

1.3.1 Objetivo General

- Determinar la susceptibilidad antibiótica de los patógenos gastrointestinales aislados de coprocultivos en pacientes del HNAL 2017.

1.3.2 Objetivos Específicos

- Determinar la frecuencia de *Shigella spp.* según su serotipo aisladas en coprocultivos en el HNAL 2017.

- Determinar la frecuencia de *Salmonella spp* según su serotipo aisladas en coprocultivos en el HNAL 2017.
- Determinar la frecuencia de *Campylobacter spp.* aislados en coprocultivos en el HNAL 2017.
- Determinar la susceptibilidad a los antimicrobianos de *Shigella spp.* aislados en coprocultivos en el HNAL 2017.
- Determinar la susceptibilidad a los antimicrobianos de *Salmonella spp.* aislados en coprocultivos en el HNAL 2017.
- Determinar la susceptibilidad a los antimicrobianos de *Campylobacter spp.* aislados en coprocultivos en el HNAL 2017.

1.4 Justificación

Este trabajo se justifica por las siguientes razones:

La mayoría de médicos que atienden a pacientes con diarrea aguda recetan antibióticos sin conocer la etiología de la enfermedad por el cual los pacientes hacen uso indiscriminado de diversos antibióticos muchas veces ineficaces y que pueden llevar a la resistencia antimicrobiana.

Este estudio al dar a conocer el perfil de los microorganismos causantes de las diarreas agudas por bacterias mejorará el tratamiento adecuado lo cual evitará el gasto económico del paciente.

Académicamente nos permite desarrollar conocimientos para hacer uso útil en la selección de antibióticos para la terapia antimicrobiana.

CAPITULO II MARCO TEORICO

2.1 ANTECEDENTES

Yalda (2014), realizó un estudio cuyo objetivo fue determinar la etiología y manejo de la gastroenteritis aguda infecciosa en niños y adultos en Chile. La metodología empleada para realizar este artículo fue a base de revisiones bibliográficas. Teniendo como resultado que la causa más frecuente de esta afección es de origen viral (rotavirus y norovirus), seguido de *Salmonella*, *Shigella*, *E. coli* diarreogénicas y *Campylobacter*.

Gallegos (2014), realizó un estudio sobre resistencia bacteriana en pacientes atendidos con gastroenteritis por *Salmonella spp.*, en el Hospital Corazón Inmaculado de María del Cantón el Chaco en Ecuador. La metodología que empleo fue exploratorio descriptivo, asociando la variable dependiente con la independiente con un tipo de estudio prospectivo. Para la recopilación de la información se analizó las muestras de heces fecales de 30 pacientes con gastroenteritis agudas positivas para *Salmonella spp.*, mediante análisis de laboratorio como el examen coprológico y coproparasitario. Se realizó un tamizaje con el fin de descartar otros agentes causantes de gastroenteritis, posteriormente se hizo el correspondiente coprocultivo para verificar o descartar si la bacteria causante de la patología era *Salmonella spp.*; consecutivamente a esto se utilizó el antibiograma para determinar la resistencia que presenta este microorganismo ante antibióticos de distintas familias como son la Ampicilina/Sulbactam, Gentamicina, Ciprofloxacina, Cloranfenicol, Ceftriaxona, Trimetoprim/sulfametoxazol. Los resultados obtenidos de acuerdo a los antibiogramas realizados a los coprocultivos presentaron la siguiente resistencia: Ampicilina/Sulbactam (33,33%); Ciprofloxacina (40%), Gentamicina (13,33%), Sulfametoxazol/Trimetoprim (40%), Ceftriaxona (6,66%) y Cloranfenicol (16,66%). Mediante este estudio microbiológico se identificó que el sulfametoxazol/trimetoprim y la ciprofloxacina

son los principales agentes antimicrobianos a los cuales presentó resistencia las cepas de *Salmonella spp.*

Orrego, M., Weiler, y cols. (2015), realizó un estudio con el objetivo determinar la prevalencia de *Campylobacter spp.* en pacientes menores de 11 años con síndrome diarreico agudo e indagar la resistencia antimicrobiana con respecto a las drogas de elección para el tratamiento clínico con Eritromicina, Tetraciclina y Ciprofloxacina. La metodología del estudio fue descriptivo, retrospectivo de corte transversal, muestreo no probabilístico de casos consecutivos, el tamaño de la muestra fue 1110, con un nivel de confianza de 95%. La población estudiada fue de pacientes pediátricos menores de 11 años. Del total de muestras se aisló *Campylobacter spp.*, en un 16%, Se observó resistencia a las quinolonas en un 49 % de las muestras estudiadas, así como una resistencia a los macrólidos (Eritromicina) 1% y resistencia a Tetraciclina del 28%.

El Instituto Costarricense de Investigación y Enseñanza en Nutrición y Salud (INCIENSA, 2016) documentó que entre Enero - Marzo del 2016 aconteció un incremento de las diarreas por *Shigella flexneri* 4av, serotipo poco usual en este país. En vista de lo anterior, se presentó un análisis descriptivo de la información clínico epidemiológico de los pacientes con shigelosis confirmada por laboratorio en el período en mención.

Merino, Hreñuk, Ronconi, y Alonso, (2015), realizaron un estudio sobre la prevalencia y resistencia antimicrobiana de *Shigella* en Argentina. La metodología empleada fue retrospectiva, descriptiva y analítica; para conocer la prevalencia de especies, serotipo y perfil de resistencia de *Shigella spp* aisladas de coprocultivos procesados en el Hospital Regional Pasteur de la ciudad de Villa María (Córdoba) durante los años 2010 - 2015. Del total de muestras procesadas (1728) se obtuvieron 191 aislamientos de *Shigella* (11%), siendo las distintas especies: *Shigella sonnei*

22% (41), *Shigella flexneri* 62%(119) con 5 serotipos, *Shigella sp* 10% (19) y *Shigella boydii* 6% (12) con un serotipo. Se observó predominio de *Shigella flexneri* en todos los períodos, seguido de *Shigella sonnei*. No se encontró resistencia a Cefalosporinas de 3° generación y Nitrofuranos, Ciprofloxacina y Fosfomicina. La resistencia global a Trimetoprima - sulfametoxazol y Ampicilina fue 40% y 53% respectivamente, mostrando *Shigella boydii* el mayor porcentaje de resistencia (100% y 91%).

Guzmán (2015), realizó un trabajo de tesis con el objetivo de determinar la prevalencia de la enfermedad diarreica aguda en pacientes pediátricos del Hospital Nacional Hipólito Unanue (Lima), entre enero a marzo del 2015. La metodología empleada en el estudio fue de tipo Observacional – Transversal Prospectivo – Descriptivo. Se seleccionó 343 pacientes atendidos en los meses de Enero - Marzo. Realizaron la recolección de datos a través de las fichas de atención registradas en la Unidad de Rehidratación Oral del Hospital Nacional Hipólito Unanue. Se encontró una prevalencia de Enfermedad Diarreica Aguda de 96.8%, concluyendo así que existe un alto índice de Enfermedad Diarreica Aguda a una edad media de 29 meses, siendo el tipo acuoso la diarrea más frecuente; sin embargo, a pesar de la gran prevalencia, un 91.5% no tuvo deshidratación.

Silva et al. (2017), realizaron un estudio con el objetivo de determinar el tipo y frecuencia de enteropatógenos predominantes en diarreas agudas y sus características asociadas en niños atendidos en el Hospital Regional Lambayeque (HRL) en Perú. La metodología empleada fue analítica y transversal. Se tomaron un total de 70 muestras fecales entre marzo y mayo del 2015 y estas fueron evaluadas mediante coprocultivos e inmunocromatografía para la detección de bacterias y virus enteropatógenos respectivamente. Así mismo se realizó el conteo de leucocitos y pruebas químicas (Benedict, Thevenon y Sudan III) para el estudio funcional de la enfermedad

diarreica. Los resultados fueron los siguientes: En el 48,6% de muestras se detectó la etiología infecciosa de la diarrea, siendo predominante la causa parasitaria (25,8%), seguida de la bacteriana (17,1%) y viral (5,8%). Los enteropatógenos más frecuentes fueron *Salmonella enteritidis* (10,0%). En más de la mitad de muestras (51,4%) no se demostró etiología infecciosa de la diarrea.

Moya, Pio, Terán, y Olivo, (2016). Realizaron un estudio con el objetivo de evaluar el rendimiento del agar sangre con filtro (ASF) en comparación con el agar Karmali (AK) para el diagnóstico de *Campylobacter spp* en coprocultivo. La metodología empleada para el estudio fue de tipo experimental prospectiva de corte transversal. El estudio fue realizado en el Hospital Nacional Docente Madre-Niño “San Bartolomé” (Lima). Se evaluaron muestras de heces con examen de reacción inflamatoria positiva obteniéndose un total de 287 muestra positivas. El aislamiento de *Campylobacter* en ASF y AK fue de 78,3% y 21,7%, respectivamente. La sensibilidad fue de 90,9% para ASF. El tiempo de crecimiento promedio fue de $32,7 \pm 11$ horas ($p < 0,59$) y la contaminación de medios de cultivo de pacientes positivos fue de 61,7% para AK. Se aislaron un 74,8% de especies de *Campylobacter* no jejuni. Se demostró así que el Agar Sangre con filtro presentó un mayor rendimiento diagnóstico que el Agar Karmali para el aislamiento de *Campylobacter*, en un tiempo relativamente menor y demostrando ser más costo-efectivo que el medio de aislamiento selectivo. Además, se aisló principalmente *Campylobacter* no jejuni en neonatos e infantes, donde acontecen la mayoría de infecciones.

2.2 Bases Teóricas

2.2.1 Susceptibilidad bacteriana

El estudio de la susceptibilidad de las bacterias a los antibióticos es una de las tareas más importantes que realizan los laboratorios clínicos en el área de microbiología. Su realización se desarrolla mediante el antibiograma o pruebas de sensibilidad, cuyo objetivo principal es evaluar la respuesta de una bacteria a uno o varios antimicrobianos, trayendo como resultado así en una primera aproximación factor predictivo de la eficacia clínica (Picazo, 2000).

La Concentración Inhibidora Mínima (CIM) es la menor concentración de antibiótico que es capaz de impedir el crecimiento de un microorganismo viable después de un tiempo determinado de incubación. La determinación de la CIM es la medida de la susceptibilidad de un microorganismo a un determinado antibiótico. Existen distintas técnicas de laboratorio las cuales permiten calcular la CIM como métodos manuales, métodos automatizados o semiautomatizados. Estos métodos permiten clasificar una cepa bacteriana en función a la susceptibilidad frente al antibiótico que ha sido probado. Esta cepa puede ser Sensible (S), Intermedia (I) o Resistente (R) al antibiótico.

Para un determinado antibiótico, una cepa bacteriana según la CLSI es:

Sensible, cuando existe una gran probabilidad de eficacia terapéutica.

Resistente, cuando la probabilidad de éxito terapéutico es nula o muy reducida.

Intermedia, cuando el éxito terapéutico no es previsible.

2.2.2 Prueba de susceptibilidad a antimicrobianos.

Las pruebas de susceptibilidad a antimicrobianos (PSA) in vitro tiene como objetivo principal llegar a proporcionar una guía para el manejo terapéutico de las enfermedades infecciosas a través de la sensibilidad o resistencia de bacterias a diferentes antimicrobianos. Debido a que no

es posible predecir la susceptibilidad de una bacteria responsable de una determinada infección a los antimicrobianos, las PSA en los laboratorios de microbiología son un instrumento esencial para el manejo terapéutico de los pacientes. Existen distintas técnicas de laboratorio que pueden ser utilizadas para evaluar in vitro la resistencia de las bacterias a diferentes agentes antimicrobianos. Entre ellas están: la prueba de susceptibilidad de difusión en disco (Técnica de KirbyBauer), pruebas de macrodilución en caldo y agar. Para obtener resultados fiables, las técnicas utilizadas, los medios y procedimientos empleados deben estar normalizados. El Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI) es responsable de la modificación y actualización del procedimiento original de Kirby y Bauer a través de un proceso de consenso global. Esto garantiza la uniformidad de la técnica y reproducibilidad de los resultados.

2.2.3 Enfermedades Diarreicas.

La diarrea es una enfermedad infecciosa producida por virus, bacterias, hongos o parásitos, que afecta principalmente a los niños menores de cinco años de edad. Es uno de los principales problemas en pediatría, en ellos se da un mayor recambio intestinal de líquidos, también que los mecanismos de defensa en los niños que presentan desnutrición se encuentran reducidos, la población infantil tiene menos reservas calóricas y una mayor superficie corporal comparativa que la hace ser más propensa a las pérdidas insensibles, y en los niños es más frecuente la contaminación fecal-oral. (Bustos, 2012).

Mundialmente las EDA causan 4.6 millones de muertes infantiles anuales, de los cuales el 70% ocurre por deshidratación, complicación que es más frecuente y grave de la enfermedad. Los cuadros diarreicos suelen presentarse con mayor frecuencia en temporadas de verano (MINSa 2017).

Durante los últimos veinte años se han llevado a cabo grandes avances en el conocimiento de las EDA, entre los microorganismos bacterianos responsables del 60 al 80% de los casos, en niños de 0 - 5 años podemos mencionar a *E. coli*, *Shigella spp.*, *Campylobacter spp.*, *Salmonella spp.*, *Aeromonas spp.* *Y. enterocolitica*, (Alvarez, Buesa, Castillo y Vila, 2008).

2.2.4 Diarreas Bacterianas.

Los mecanismos por los que las bacterias producen diarrea son principalmente la producción de enterotoxinas y la invasión directa a la mucosa del colon.

El estudio de la materia fecal para aislar e identificar las bacterias productoras de diarrea se denomina coprocultivo. (Velasco et al., 2008)

2.2.5 Microbiota intestinal.

En el intestino delgado, el duodeno mantiene el pH que limita el crecimiento de microorganismos. El peristaltismo simboliza un mecanismo importante que mantiene un número bajo de bacterias, mientras que la bilis tiene propiedades antimicrobianas que inhibe a muchos microorganismos. Otras sustancias como la lisozima y la inmunoglobulina A (IgA) secretoria, contribuyen también a mantener un número reducido de bacterias. En el yeyuno aparecen lactobacilos, enterococos y difteroides, en el íleon se suman anaerobios gramnegativos y algunos miembros de la familia Enterobacteriaceae, en una proporción de aproximadamente 10^5 por gramo de heces. En el intestino grueso, la microbiota constituye el 50% del peso seco de las heces.

Las bacterias anaerobias que se encuentran en mayor proporción son las siguientes: Bacteroides 100%, Fusobacterium, Peptococcus, Lactobacillus, Peptostreptococcus y Clostridium.

Las bacterias anaerobias aerobias o facultativas son las siguientes: *E. coli* 100%, *Klebsiella* y *Enterobacter* 40 – 80%, *Proteus* 5-50%, *Pseudomonas sp.*, *Citrobacter sp.*, *Staphylococcus* 30-50%, *Enterococcus sp.* 100%.

Esta microbiota se mantiene en equilibrio gracias a diferentes mecanismos tales como producción de bacteriocinas, sustancias tóxicas como ácidos grasos, entre otras. (Velasco et al., 2008)

2.2.6 Etiología y patogenia.

En el transcurso del proceso diarreico interviene no solo la patogenicidad del agente, sino la respuesta particular del huésped y de su propio ecosistema microbiano, esto trae como consecuencia que el espectro de respuestas clínicas varíe de un individuo a otro, manifestándose en unos con enfermedades clínicas graves y en otros leves o con infección intestinal subclínica, de allí que algunas ocasiones al realizar coprocultivos en personas sin diarrea se aíslen enteropatógenos (Velasco et al., 2008).

Entre las principales bacterias patógenas se encuentran:

- *Shigella spp.*
- *Escherichia coli* diarreagénicas.
- *Salmonella spp.*
- *Campylobacter spp.*
- *Bacillus cereus.*
- *Yersinia spp.*
- *Staphylococcus aureus.*
- *Vibrio spp.*
- *Clostridium perfringens.*

- *Aeromonas mesófilas*
- *Plesiomonas shigelloides*.

2.2.6.1 *Escherichia coli* diarreagénicas. En la actualidad se aceptan cinco grupos de *E. coli* como causantes de gastroenteritis:

- *E. coli* enterotoxigénica (ECET): Sus cepas pueden ser productoras de una o ambas toxinas, la toxina termolábil (TL), codificada en los genes *lt* y la toxina termoestable (TE), codificada en el gen *st*. Estas toxinas producen un incremento de secreción de electrolitos y agua a través de la activación de la guanilato ciclasa y la adenilato ciclasa del enterocito, respectivamente. Este grupo es causa frecuente de la diarrea del viajero y de la diarrea en niños menores a 5 años de edad en países en vías de desarrollo. (Álvarez et al., 2008).

- *E. coli* enteropatógena (ECEP): En este grupo se adhieren al epitelio intestinal produciendo un acortamiento de las microvellosidades. El locus LEE, que codifica una serie de proteínas que están asociadas con la adherencia y destrucción de las microvellosidades, se encuentra localizado en una isla de patogenicidad. (Álvarez et al., 2008).

- *E. coli* enterohemorrágica (ECEH): También conocida como verotoxigénica ya que puede producir dos citotoxinas denominadas toxinas Shiga-like (Stx1 y Stx2), shigatoxinas o verotoxinas. Los cuadros clínicos que pueden ocasionar van desde una infección asintomática a una diarrea acuosa o colitis hemorrágica, que muchas veces se ve acompañada de un síndrome urémico-hemolítico.

- *E. coli* enteroinvasiva (ECEI): Estas son capaces de invadir la mucosa intestinal.

- *E. coli* enteroagregativa (ECEA): Causa frecuente de diarrea del viajero como también de diarrea crónica en países en vías de desarrollo. El mecanismo de acción que utiliza este último

grupo de *E. coli* diarreagénicas no se conoce a en detalle, aunque se ha descrito que un gran porcentaje de cepas contienen un plásmido (CVD432) en el que se localiza el gen *aat* que codifica una proteína transportadora, la cual se utiliza para poder detectar ECEA por el método de PCR. (Álvarez et al., 2008).

El diagnóstico microbiológico de los procesos enterocolíticos ocasionados por los diferentes grupos de *E. coli* diarreogénicas se ve complicado ya que esta especie es un componente fundamental de la microbiota intestinal en el ser humano. El agar MacConkey se integra normalmente en los coprocultivos y se puede utilizar para el aislar *E. coli*. Una vez identificado como *E. coli* se pueden detectar los diversos patotipos de *E. coli* diarreogénicas mediante la detección de los genes que codifican los diversos factores de virulencia. Sin embargo, la identificación de tipos de *E. coli* en la práctica rutinaria queda fuera del alcance de la mayoría de laboratorios, aunque en aquellos con un elevado número de pacientes con diarrea del viajero es recomendable su implementación. (Álvarez et al., 2008).

El principal serotipo de *E. coli* enterohemorrágico es el O157:H7; este serotipo posee la particularidad de no fermentar el D-sorbitol por lo que se puede hacer uso del agar MacConkey-sorbitol, la cual es una modificación de este medio que incorpora este azúcar en lugar de lactosa, para la identificación presuntiva de dicho serotipo. Una vez identificadas como *E. coli* las colonias no fermentadoras del sorbitol, se procede a realizar la aglutinación con anticuerpos específicos para O157. Los protocolos para la detección rutinaria de *E. coli* enterohemorrágica varían enormemente debido a la baja incidencia de la gastroenteritis por este tipo de *E. coli*, algunos laboratorios no realizan cultivos rutinarios y otros los realizan solo cuando el clínico lo solicita. Algunos laboratorios realizan cultivos en agar MacConkey-sorbitol sólo cuando hay

presencia de sangre en las heces, pues este patotipo de *E. coli* puede ocasionar una colitis hemorrágica (Álvarez et al., 2008).

Identificación en el laboratorio: Se investigan cuatro tipos: *E. coli enteroinvasiva* (ECEI), *E. coli enteropatógena* (ECEP), *E. coli enterohemorrágica* O:157 H:7 (ECEH), *E. coli enterotoxigénica* productora de la toxina termolábil (ECET-TL). Para ello se seleccionan del agar MK, de la siembra directa con la materia fecal, 5 colonias fermentadoras de la lactosa sugestivas de *E. coli*, las colonias seleccionadas se identifican como *E. coli* mediante las pruebas: Kligler, oxidasa, citrato, Indolmotilidad. A la bioquímica se le adiciona el medio lisina-hierro-agar (LIA), cuando se sospecha de ECEI (particularmente cuando el recuento de leucocitos es superior a 5 x campo microscópico), la cual no decarboxila la lisina. Cuando se sospecha de ECEH serotipo O: 157 H: 7, se adiciona caldo sorbitol, la cual no debería fermentar el sorbitol, también se recomienda el uso de agar MK con sorbitol para la recuperación de este serotipo. (Velasco et al., 2008).

2.2.6.2 *Shigella spp.* El género *Shigella* está constituido por bacilos Gram-negativos no móviles, no capsulados que no fermentan la lactosa y son fermentadores de la glucosa con producción de ácido, pero no de gas. Este género posee cuatro especies y cada especie posee varios serotipos: *Shigella dysenteriae* (serogrupo A, trece serotipos), *Shigella flexneri* (serogrupo B, seis serotipos), *Shigella boydii* (serogrupo C, 18 serotipos) y *Shigella sonnei* (serogrupo D, un serotipo). Los únicos huéspedes que son naturales de *Shigella* son el humano y algunas especies de primates.

Estos son altamente transmisibles con una dosis infecciosa muy baja, del orden de 200 microorganismos. La transmisión tiene lugar a través de alimentos que están contaminados con heces, manos contaminadas, fómites o incluso por las moscas. *S. flexneri* es el aislamiento más común en muchas partes del mundo, sin embargo *S. sonnei* es más predominante en América del Norte y en Europa.

El examen de leucocitos en heces resulta de gran ayuda pues las Shigellas ocasionan una diarrea disintérica debido a la invasión en las células del colon. Los cultivos deben realizarse con muestras de las partes fecales con pus, moco o sangre. Las colonias típicas de Shigella en agar MacConkey son transparentes debido a que no fermentan la lactosa. (Álvarez et al., 2008).

2.2.6.3 *Salmonella spp.* Estas son bacterias Gram negativas anaerobias facultativas, no esporuladas, mesófilas con una temperatura óptima de crecimiento entre 35 – 37 °C y un rango de 5 - 46 °C (MINSa, 2016).

El género *Salmonella* presenta dos especies, *S. enterica* y *S. bongori*. Mediante la serotipificación basada en el esquema, de Kauffmann-White, que consiste en la caracterización, por aglutinación de los antígenos somáticos O, de los antígenos flagelares H y del antígeno capsular Vi, y se han descrito más de 2.400 serotipos (MINSa, 2016).

Desde el punto de vista epidemiológico *Salmonella spp.* se puede dividir en tres grupos:

1. Las que no tienen preferencia por algún huésped en especial, por lo que infectan tanto al hombre como a los animales. En este grupo se encuentran la mayoría de serovariedades que son responsables de las salmonelosis (MINSa, 2016).

-*Salmonella enteritidis*, reconocido como causa de brotes de Enfermedades Transmitidas por Alimentos, especialmente a través de alimentos de origen aviar.

2. Las que infectan solamente al hombre: *Salmonella Typhi*, *Salmonella Paratyphi A* y *Salmonella Paratyphi C* y que se transmiten en forma directa o indirecta de una persona a otra.

3. Las adaptadas a un huésped en especies animales: *S. Abortusequi*, a los equinos; *S. Gallinarum*, a las aves y *S. Abortusovis*, a los ovinos (MINSa, 2016).

Identificación en el laboratorio: La identificación de estos géneros, se realiza seleccionando colonias no fermentadoras de la lactosa de los medios XLD, MK y SS, de la siembra directa y a partir de la siembra en estos medios del caldo selenito. También se seleccionan como colonias sospechosas de *Salmonella*, las no fermentadoras de la lactosa y con producción de hidrógeno de sulfuro que han desarrollado en los medios SS y XLD. La identificación bioquímica se realiza mediante las pruebas de LIA, TSI, motilidad-indolornitina (MIO), oxidasa, urea, citrato y otras que se consideren necesarias. La identificación serológica se realiza con antisueros polivalentes anti"O" para los grupos A, B, C y D en el caso de *Shigella* y antisueros anti"O" para los grupos A, B, C, C1-2, D, E y F en el género *Salmonella* (Velasco et al., 2008).

2.2.6.4 *Campylobacter spp.* El género *Campylobacter* se compone de bacilos Gramnegativos pequeños, ondulados y móviles debido a la presencia de un flagelo polar. Todas las especies son oxidasa positiva. La mayoría de las especies ligeramente termófilas y son microaerófilas, pues crecen con mayor facilidad a 42°C que a 37°C. Actualmente se han definido varios grupos en base a las secuencias del ARNr 16S.

El grupo I conocidas como *Campylobacterias* verdaderas. En el grupo IA se incluyen las especies termofílicas enteropatógenas:

1) *Campylobacter jejuni*, presenta dos subespecies: la subespecie *jejuni*, que es la principal causante de gastroenteritis y la subespecie *doylei*.

2) *Campylobacter coli*

3) *Campylobacter laridis*

4) *Campylobacter upsaliensis*. *Campylobacter upsaliensis*, es probablemente una causa importante de gastroenteritis en el ser humano, sin embargo, la verdadera incidencia de la enfermedad producida por esta especie se subestima con los métodos convencionales de cultivo. Entre los factores de virulencia se han descrito adhesinas, flagelos, citotoxinas, proteínas de invasión y enterotoxinas.

El síndrome más común ocasionado por las especies de *Campylobacter* es la enteritis que presenta un periodo de incubación de tres a cinco días, vómitos y heces líquidas abundantes, fiebre, dolor abdominal y deshidratación (MINSA, 2016).

Identificación en el Laboratorio: A partir del medio agar sangre con filtro, después del período de incubación durante 48 horas a 42 °C en microaerofilia (frasco con la vela), se investigan las campilobacterias termotolerantes, las colonias que son sospechosas son de color gris, brillantes, con aspecto de gota de agua, algunas pueden seguir la línea de siembra, adherentes a las cuales se les practica una coloración de Gram con el fin de observar bacilos gramnegativos curvos, en apariencia de alas de gaviota o en forma de coma. La identificación de las especies que están más involucradas en trastornos diarreicos se realiza mediante la prueba de oxidasa (positiva) (Velasco et al., 2008).

2.2.6.5 *Yersinia spp.* El género *Yersinia*, está compuesto por cocobacilos Gram-negativos no esporulados, incluye 15 especies con 3 subespecies. De entre ellas, destacan tres especies invasivas capaces de resistir la respuesta inmune y producir patología humana: *Yersinia pseudotuberculosis*, *Yersinia pestis*, y *Y. enterocolitica*, está ampliamente distribuida en la naturaleza y posee numerosos reservorios en animales, el cerdo es la fuente de infección más importante de las cepas patógenas para el humano (Álvarez et al., 2008).

Identificación en el laboratorio: Se investiga principalmente en el medio selectivo agar CIN (Cefsulodin-Irgasan-Novobiocin). Después de 48 horas de incubación a temperatura ambiente (22 °C), se seleccionan colonias fermentadoras del manitol, luego la identificación bioquímica se realiza mediante las pruebas de: urea, oxidasa, motilidad a 36 y 22 °C, TSI. (Velasco et al., 2008).

2.2.6.6 *Bacillus cereus*. Tiene reservorio telúrico, se encuentra en la materia orgánica en descomposición, en la tierra, los vegetales y el agua. Pueden ser bacilos aerobios o anaerobios facultativos formadores de esporas que pueden contaminar los alimentos crudos o cocidos y elaborados. Se multiplica entre 48°C y 10°C, de modo que si los alimentos contaminados se mantienen a temperatura ambiente, los microorganismos posiblemente se multipliquen, produciendo y liberando toxinas que ocasionan brotes de toxiinfección alimentaria. Existen dos tipos de enterotoxinas producidas por *B. cereus*, las enterotoxinas termolábiles que provocan diarrea (síndrome diarreico) y las toxinas eméticas, que son termoestables (síndrome emético). Debido a la levedad del cuadro y a que la detección microbiológica de esta bacteria no se realiza rutinariamente en pacientes con diarrea, la incidencia real podría ser superior a la estimada (Álvarez et al., 2008).

Identificación en el laboratorio: En medios no selectivos o enriquecidos, como agar sangre, esta especie produce colonias betahemolíticas, planas y grandes, con aspecto de vidrio esmerilado. En los casos de toxiinfección alimentaria la presencia de microbiota polimicrobiana en las muestras (vómitos, heces, alimentos) el uso de medios diferenciales y selectivos como manitol-polimixina-yema de huevo es recomendable. La polimixina B actúa como un agente selectivo, el carácter diferencial lo confiere la actividad lecitinasa de *B. cereus* sobre la yema de huevo y su incapacidad para catabolizar el manitol. Los medios se incuban a 37°C por 48 horas.

El enriquecimiento previo en caldo de soja triptona con polimixina impide el cultivo cuantitativo. (Álvarez et al., 2008).

2.2.6.7 *Staphylococcus aureus*. Generalmente produce brotes de toxiinfección alimentaria por mecanismo toxigénico. Esta bacteria puede producir toxinas y una variedad de sustancias extracelulares. Algunas poseen una acción enzimática mientras que otras, como las toxinas del shock tóxico y enterotoxinas, son potentes inductores de citocinas que actúan como superantígenos bacterianos. Un aproximado del 50% de los aislamientos de *S. aureus* producen enterotoxinas que pertenecen a cinco tipos serológicos diferentes (A, B, C, D y E), subdividiéndose el tipo C en tres subtipos (C1, C2 y C3). Estas enterotoxinas son polipéptidos de entre 20 y 30 KDa, termoestables y resistentes a las enzimas digestivas, se producen en los alimentos y se ingieren preformadas. Debido a ello, es que aparecen de forma brusca vómitos y diarrea, tras un periodo de incubación muy reducido (1-6 horas). Como ocurre con otras toxiinfecciones, su incidencia parece estar subestimada, esto debido al carácter leve y autolimitado del proceso y falta de confirmación microbiológica en la mayoría de los casos. (Álvarez et al., 2008).

2.2.6.8 *Clostridium perfringens*. Produce cuatro toxinas diferentes (beta, alfa, iota y epsilon) y sus cepas se distribuyen en cinco tipos (A-E) según el tipo de toxina que produzcan. *C. perfringens* tipo C puede producir enteritis necrotizante del intestino delgado debido a la acción de la toxina beta, la cual es sensible a tripsina, solo se produce clínica si se presenta déficit de este enzima. *C. perfringens* produce sobre todo toxiinfecciones alimentarias que generalmente se asocian con el consumo de alimentos cárnicos almacenados inadecuadamente. *C. perfringens* tipo A produce una enterotoxina termolábil citotóxica que induce un cuadro autolimitado y leve de diarrea secretora con presencia de dolor abdominal. Las esporas, que contaminan los alimentos,

germinan cuando se calientan y las formas vegetativas se multiplican a temperatura ambiente hasta llegar a la dosis infectante, más de 10⁶ unidades formadoras de colonias por gramo (ufc/gr) de alimento. En el intestino delgado las bacterias ingeridas esporulan y liberan la enterotoxina que se une a un receptor de membrana induciendo una alteración de la permeabilidad dependiente del ión calcio que produce la salida de metabolitos y iones de bajo peso molecular. (Álvarez et al., 2008).

Identificación en el laboratorio: Las muestras deben ser cultivadas en caldo tioglicolato e incubadas a 45 °C, por 48 h en ambiente de anaerobiosis. Después de ello se tomarán alícuotas del medio para ser sembradas en agar sangre y ser incubadas bajo las mismas condiciones. Las colonias de *C. perfringens* deberán ser identificadas en base a características morfológicas de la colonia, patrón hemolítico, coloración Gram y reacción negativa a la catalasa (Pérez, Maturrano y Rosadio, 2012).

2.2.6.9 *Vibrio spp.* El género *Vibrio* está constituido por bacilos Gram-negativos ligeramente curvados, móviles, anaerobios facultativos y aerobios, catalasa y oxidasa positivos, fermentan la glucosa y son sensibles al compuesto vibriostático O/129 (2,4 diamo-6,7 diisopropilpteridina). Estas bacterias forman parte del medio ambiente marino, hídrico y fluvial, regulando su proliferación, la temperatura y el grado de salinidad. El género *Vibrio* contiene 84 especies de las que se ha visto que doce son patógenas para el humano o han sido aisladas de muestras clínicas. Aunque la gran mayoría están relacionadas a infecciones gastrointestinales, también pueden producir patología extra intestinal, sobre todo bacteriemia, conjuntivitis, otitis e infecciones de tejidos blandos y piel. La gastroenteritis causada por *Vibrio* puede ser de tipo no colérico o colérico. La forma epidémica de cólera, causada por *Vibrio cholerae* serogrupos O:1 y O:139, produce vómitos y diarrea líquida secretora muy abundante, con pérdida rápida de electrolitos y

agua que ocasiona una profunda deshidratación. La forma no colérica, producida por otros serogrupos de *V. cholerae*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio hollisae* y *Vibrio fluvialis*, principalmente, ocasiona diarrea acuosa autolimitada, vómitos, náuseas y dolor abdominal, sin la gravedad ni el carácter epidémico del cólera. Se denominan colectivamente con el nombre *V. cholerae* no O: 1, no-O:139 a los microorganismos análogos a las cepas epidémicas pero que no aglutinan con los antisueros O: 1 ni O: 139, reciben también el nombre de cepas no epidémicas y anteriormente se han denominado vibrios no aglutinables (NAG) y vibrios no coléricos (VNC). Se han asociado a la producción de casos aislados y pequeños brotes de diarrea. (Álvarez et al., 2008).

Identificación en el laboratorio: Su identificación se realiza a partir del medio TCBS de la siembra directa se seleccionan colonias fermentadoras de la sacarosa. Luego mediante la coloración de Gram las colonias sugestivas se confirman que sean bacilos gramnegativos para así continuar con su identificación. Luego se comprueba que sean oxidasa positiva, fermentadoras de la glucosa, no productoras de gas, con crecimiento en caldo nutritivo con cloruro de sodio 1% pero no al 6,5%. Se deben realizar otras pruebas bioquímicas para diferenciar a *V. cholerae* de otros géneros relacionados. Luego se realiza la tipificación serológica, mediante el uso de antisueros “O139” y “O1”. En el caso de “O1”, se realizara la serotipificación para así determinar si es el serotipo Otagawa o Inaba, y la biotipificación si se trata del biotipo Clásico o El Tor. En los laboratorios de referencia se debe determinar si la cepa aislada es productora o no de la toxina termolábil.

2.2.6.10 *Aeromonas mesófilas*. Este grupo incluye las especies que crecen a una temperatura de 37°C. Su hábitat normal lo constituyen los ambientes acuáticos con baja salinidad. Los alimentos pueden ser otro vehículo de transmisión. La clasificación del género en especies es

compleja. Para establecer la correcta posición taxonómica de algunas especies, se debe a que a un mismo fenotipo le correspondan genotipos distintos. Actualmente se acepta la existencia de 23 especies, alguna de las cuales posee además distintas subespecies o biovariedades que, con fines prácticos, se incluyen en tres grupos: *Aeromonas caviae complex*, *Aeromonas hydrophila complex* y *Aeromonas sobria complex*. No obstante, solo cuatro fenoespecies se aíslan con una frecuencia que es significativa a partir de las heces: *A. caviae*, *A. hydrophila*, *Aeromonas trota* y *Aeromonas veronii biovar sobria*. Las especies incluidas en el grupo de las *Aeromonas* mesófilas suelen crecer bien en los medios de cultivo poco selectivos o enriquecidos que son utilizados de forma rutinaria (agar McConkey, agar sangre). Resulta más compleja su recuperación de muestras contaminadas o con una importante microbiota acompañante, como las heces. En general, las *Aeromonas* crecen en los medios que se utilizan para el aislamiento de otros enteropatógenos (agar MacConkey y Hektoen), cabe mencionar que su morfología coliforme y el carácter lactosa positivo, plantean una dificultad añadida para distinguirlas de otras bacterias aisladas en muestras fecales. (Álvarez et al., 2008).

Identificación en el laboratorio: La identificación de este género bacteriano se realiza en los medios XLD, SS y MK, sembrados directamente con la materia fecal o a partir del caldo selenito. En algunas oportunidades se puede recuperar del agar TCBS. En los primeros medios se recupera como una colonia no fermentadora de la lactosa, Sin embargo algunas especies son fermentadoras de este carbohidrato. Del medio TCBS, puede aislarse como fermentadora o no de la sacarosa. En el caso del ADN-AMP, la búsqueda se facilita porque además del carácter selectivo del medio, la mayoría de las cepas hidrolizan el ADN, lo cual se evidencia por el viraje del indicador de pH azul de toluidina, de azul a rosado. La identificación bioquímica se realiza

mediante las pruebas de fermentación de glucosa, oxidasa (positiva) y se debe realizar la diferenciación con el género *Vibrio* y *Plesiomonas shigelloides* (Velasco et al., 2008).

2.2.6.11 *Plesiomonas shigelloides*. Se clasifican dentro de la familia Enterobacteriaceae, a pesar de ser citocromo oxidasa positivo. Este grupo de bacterias se caracterizan por ser bacilos Gram-negativos, indolígenos, móviles y fermentan inositol y glucosa. Cuentan con una amplia distribución y se aíslan en el suelo, el agua y algunos animales (sobre todo mariscos y peces). Han sido implicados en brotes de gastroenteritis asociados al consumo de pescado crudo y ostras, se han descrito casos de diarrea esporádica, sobre todo en adultos, sin ninguna asociación epidemiológica. Pueden producir infecciones extraintestinales, como meningitis y sepsis, de mortalidad elevada, afectando frecuentemente a pacientes con enfermedades de base. *Plesiomonas shigelloides* no forma parte de la microbiota normal del humano, por ello, su aislamiento en heces de pacientes que presentan diarrea, en ausencia de otro enteropatógeno, debería considerarse significativo, informando su probable responsabilidad en el proceso infeccioso. (Álvarez et al., 2008).

Identificación en el laboratorio: Su investigación se realiza en los medios XLD, MK, y SS de la siembra directa o a partir del caldo selenito. Se seleccionan colonias no fermentadoras de la lactosa que deben ser positivas a las pruebas de oxidasa y fermentación de la glucosa; al igual que en el género *Aeromonas* se debe realizar diferenciación con los géneros relacionados. (Velasco et al., 2008).

Identificación de principales bacterias en coprocultivos

Patógeno	Origen	Procedimiento	Enriquecimiento cultivo	Incubación
<i>Aeromonas spp</i>	Agua		Agar Sangre Agar CIN	48 hrs. a 35°C aerobiosis
<i>Bacillus cereus</i>	Carnes, Salsas Vegetales	Medio de Carne picada 48Hrs.	Agar SangreSupl Medio BCM	72 hrs.a 35°C Anaerobiosis y serología
<i>Campylobacter</i> <i>C.jejuni</i> <i>C.coli</i>	Agua, animal es, carne, aves, leche	Medio líquido Enriquecido x 24hrs.	Medio Butzler, Medio agar sangre con filtro, Medio Karmali, Medio Skirrow	48 hrs. Microaerofilia A 42°C
<i>Clostridium</i> <i>difficile</i>	Terapia antimicrobia na		Agar cicloserina Cefotaxina fructose. Inmunocromatografía	72 hrs.a 35°C Anaerobiosis y EIAs
<i>E.coli</i> <i>enteropatógena</i>	Agua alimentos		Mac Conkey Mac Conkey+MUG	24 hrs a 35°C Aerobiosis y serología
<i>E.coli</i> <i>enteroinvasiva</i>	alimentos		MacConkey MacConkey+MUG	24 hrs a 35°C Aerobiosis y serología
<i>E.coli</i> <i>enterotoxigenica,</i> <i>O157, Otras.</i>	Carnes leche		MacConkey+ sorbitol +cefexime+, Telurito de potasio.	24 hrs a 35°C Aerobiosis y serología

<i>Plesiomona Shighelloides</i>	Agua mariscos		Agar sangre	48 hrs. A 35°C Atm 5% CO2
<i>Salmonella spp.</i>	Huevos, carnes Leche, pescados	Caldo Selenito F 16 a 20 hrs	Agar XLD Agar Hektoen A.bismuto sulfito, Agar SS.	24 hrs a 35°C Aerobiosis y serología
<i>Shighella spp</i> <i>S.dysenteriae</i> Otras <i>Shighella</i>	Agua Mariscos alimentos	Caldo GN 16 hrs. A 35°C	Medio S.S. Medio EMB Mac Conkey	24 hrs. A 35°C Aerobiosis y serología
<i>Staphylococcus aureus</i>	Lacteos, carnes, salsas, cremas		Agar Manitol salado	24 hrs.a 35°C aerobiosis
<i>Vibrio cholerae</i>	Agua Mariscos vegetales	Agua peptonada al-calina 16 a 20 hrs.	Agar TCBS	24 a 48hrs. Aerobiosis y serología
<i>Yersinia enterocolitica</i>	Agua, Carnes, alimentos	PBS 4-5°C por 72 hrs.	Agar CIN	24-48hrs a 35°C aerobiosis

2.2.7 Métodos microbiológicos. Al no poder contar con pruebas moleculares, los laboratorios clínicos en hospitales y clínicas en el Perú ofrecen realizar cultivos y pruebas rápidas para así identificar los agentes que son más prevalentes en nuestro medio. Lo ideal sería hacer un coprocultivo que tenga todos los medios para realizar el aislamiento de *Campylobacter*, *Shigella*, *E. coli* enteropatógena (EPEC, EIEC y EHEC), *Vibrio*, *Salmonella*, *Aeromonas* y *Yersinia*, además pruebas bioquímicas, sueros para la identificación y para realizar pruebas de susceptibilidad.

Otros agentes causantes de diarrea como *E. coli* enterotoxigénica o *Staphylococcus aureus* productor de enterotoxina, no cuentan con pruebas de diagnóstico que puedan ser utilizadas en el trabajo diario en laboratorio clínico y existe una gran demanda en la investigación y desarrollo de pruebas que puedan cubrir esta brecha. Cabe decir que muchos laboratorios no realizan todos los procedimientos, y de acuerdo con sus posibilidades económicas, nivel del conocimiento y experiencia del profesional encargado, solo realizan parte del coprocultivo. En muchas ocasiones se observa grandes esfuerzos para el aislamiento de *Salmonella*, cuya incidencia actual es baja, y se descuida la búsqueda de *Campylobacter*, que es prevalente, sobre todo en niños menores de 6 años. Por otro lado, la búsqueda de *Vibrio*, ha sido dejado de lado, esto debido a su baja incidencia. Sin embargo, algunos laboratorios clínicos que siguen utilizando el agar TCBS han visto que la incidencia de *Vibrio parahaemolyticus* es más frecuente en los meses de verano y que de presentarse un brote de *Vibrio cholerae* algunos laboratorios nacionales no tendrían los medios necesarios para su aislamiento e identificación. El Instituto Nacional de Salud capacita a los laboratorios y proporciona sueros para la tipificación de *Vibrio* preparados por el Centro Nacional de Productos Biológicos del INS. La falta de recursos asignados para la realización de pruebas de laboratorio impide la implementación de las pruebas descritas en su totalidad en

muchos centros dependientes del Ministerio de Salud. Evidentemente, la prevención y detección temprana de brotes epidémicos de diarrea requieren del compromiso de las autoridades correspondientes a fin de asegurar la capacidad de detección tanto en hospitales como en centros. (SEIMC, 2011).

2.2.8 Medios de Cultivos.

2.2.8.1 Caldo *Trypticase de Soya (TSA)*. Medio adecuado para el desarrollo de microorganismos exigentes por su rica y abundante base nutritiva, universal, exento de sustancias inhibitoras y de indicadores, concebidos para su utilización en un amplio espectro de aplicaciones. Debido a la inclusión de Peptona de Soya y Triptona, el medio facilita un gran crecimiento de muchos microorganismos algo fastidiosos que son de crecimiento difícil sin la adición de suero.

FORMULA:

Peptona de caseína.....	17 gr
Peptona de harina de soya.....	3.0 gr
Cloruro de sodio.....	5.0 gr
Hidrógeno fosfato dipotásico.....	2.5 gr
D-Glucosa.....	2.5 gr

En este medio las peptonas proveen las fuentes de nitrógeno. La Dextrosa provee la fuente de carbohidratos. El cloruro de sodio tiene la función de balance osmótico y el fosfato dipotásico actúa como buffer.

2.2.8.2 Agar *Maconkey*. Es un medio de cultivo específico para bacterias gram negativas y que fermenten la lactosa.

Los ingredientes para este medio son los siguientes: sales biliares (Para el crecimiento de bacterias Gram positivas, excepto *Enterococcus* y algunas especies de *Staphylococcus*), Violeta

cristal colorante (Para cierto tipo de bacterias Gram-positivo), colorante rojo neutro (Marca microorganismos que fermenten la lactosa), Cloruro sódico, lactosa y peptona.

Sirve como un indicador visual de pH, distinguiendo así las bacterias Gram negativas que pueden fermentar la lactosa (Lac+) y las que no pueden (Lac-).

Lactosa positiva (+):

Al utilizar la lactosa en el medio, bacterias Lactosa positiva como *Klebsiella*, *Enterobacter* y *Escherichia coli* producen acidez, lo cual ocasiona que se produzca un PH bajo 6,8 lo que tiene como consecuencia la aparición de colonias de color rosadas o rojas.

Lactosa negativa (-):

Bacterias que no fermenten la lactosa como *Shigella*, *Proteus* y *Salmonella* utilizaran peptona en su lugar, formando amoniaco, lo cual incrementa el pH del agar, formando así colonias blancas o incoloras.

Agar MacConkey

Lactosa (+)

Lactosa (-)



Figura 1. *E. coli* y *Salmonella sp.* en agar MacConkey

2.2.9 Antibióticos. El uso de los antibióticos en gastroenterología está dirigido a 3 tipos de cuadros clínicos:

- 1) Infecciones gastrointestinales típicas.
- 2) Uso profiláctico de antibióticos en procedimientos gastro-intestinales.
- 3) Enfermedades gastrointestinales en donde un agente infeccioso puede ser un factor, pero no el causante principal.

2.3 Hipótesis

El presente estudio no plantea hipótesis por ser descriptivo.

2.4 Términos Básicos

Diarrea aguda: incremento en el número o volumen de las heces de 72 horas o menos de duración.

Diarrea crónica o persistente: incremento en el número o volumen de las heces de más de 14 días de duración.

Disentería: historia de moco o sangre en las heces con tenesmo o dolor al defecar y temperatura axilar de 38.5°C.

Gastroenteritis: diarrea líquida de color amarillo verdosa o no, acompañada con vómito y fiebre en algunas oportunidades.

Etiología: Causas, origen de la enfermedad.

Resistencia antimicrobiana: Es el fenómeno por el cual un microorganismo deja de verse afectado por un antimicrobiano al que anteriormente era sensible. La resistencia es una consecuencia del uso de los antimicrobianos, en particular de su abuso y surge por mutación del microorganismo o adquisición de genes de resistencia.

CAPITULO III MÉTODO

3.1 TIPO Y DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN

La presente investigación es un estudio Descriptivo no experimental, de corte transversal y retrospectivo.

Es un estudio descriptivo porque nos permitió describir algunas características y datos de la población en estudio, utilizando criterios sistemáticos que permitieron poner de manifiesto su estructura o comportamiento. No experimental por que no se manipulo ninguna variable. Transversal por que se utilizó los datos en un solo corte y finalmente retrospectivo porque son datos ya emitidos.

Diseño de la investigación:

No experimental porque reportara los datos tal como se observa en la realidad sin modificar.

3.2 POBLACIÓN Y MUESTRA:

3.2.1 Población

Estuvo conformada por todos los coprocultivos aislados de infecciones gastrointestinales de pacientes del Hospital Nacional Arzobispo Loayza por periodo de un año.

3.2.2 Muestra

Los coprocultivos aislados de infecciones gastrointestinales obtenidos entre los meses Enero a diciembre 2017 del Hospital Nacional Arzobispo Loayza, correspondiente a 501 coprocultivos.

Criterios de inclusión:

- Aislamientos bacterianos de coprocultivo positivos de pacientes hospitalizados y consulta externa.

Criterios de exclusión:

- Coprocultivos con resultados negativos.

- Muestras que no reunieron las condiciones de inclusión.

3.3 Variables y Operacionalizacion

Variable	Definición	Indicador	Escala/Valores
Microorganismo aislado	Bacterias aislada en el cultivo	Siembra en agar sangre, SS, Mac Conkey	Unidades Formadoras de colonia- ufc
Clasificación del microorganismo	Clasificación del microorganismo según la tinción de Gram	Resultados de la tinción de Gram	Gram negativo Gram positivo
Resistencia antibiótica.	Mecanismo mediante el cual la bacteria puede disminuir la acción del agente antimicrobiano	Grados de resistencia mostrada en el cultivo de agar Muller Hinton.	Sensibilidad y Resistencia
Tipo de antibiótico	Es el compuesto químico con capacidad de evitar el crecimiento bacteriano	Antibiótico utilizado Penicilina. Macrolidos. Carbapenen. Quinolonas	Sensibilidad y Resistencia

3.4 Recolección de datos e Instrumento.

Instrumento: para el desarrollo del presente trabajo se utilizó el Libro de registros de pacientes atendidos en el Servicio de Microbiología del Hospital Nacional Arzobispo Loayza, en base a ello se construyó una tabla (ver Anexo n°2) en la cual se registra en la primera columna el n° de Historia clínica, en la segunda columna el tipo de bacteria y serotipo, en la tercera columna se establecen los diversos Antibióticos empleados en el estudio in vitro. En las filas se registran el perfil de sensibilidad y resistencia de la bacteria a cada antibiótico.

En donde:

S: Sensible

R: Resistente

Antibióticos:

AMP: Ampicilina

CTX: Cefotaxime

CIP: Ciprofloxacino

C: Cloranfenicol

SXT: Trimetoprima/sulfametoxazol

IMP: imipenem

MER: meropenem

ETP: ertapenem

AZT: Azidotimidina

F: Nitrofurantoina

FOX: Cefoxitina

FEP: Cefepime

GN: Gentamicina

AZM: Azitromicina

E: Eritromicina

3.5 Procedimiento Materiales y equipos

Procedimiento: las muestras para el cultivo de heces (coprocultivo), fueron obtenidas a través de hisopado rectal, colocado en el medio de transporte de Cary-Blair y mantenido en temperatura ambiente, la cual fue procesada inmediatamente y muestras que fueron enviadas en frascos que reunían las condiciones para el cultivo.

Para el estudio de las heces se realizaron:

El examen macroscópico, para determinar el aspecto y consistencia de las heces, la presencia de moco y/o sangre.

El examen microscópico, que es un examen directo para la observación de leucocitos (reacción inflamatoria) y hematíes. Se consideró la reacción positiva cuando la presencia de leucocitos fue mayor de 20 por campo.

De acuerdo al protocolo de aislamiento enterobacterias en coprocultivo, se siguió los siguientes pasos:

1. Los hisopados rectales se sembraron en medios selectivos: agar XLD, agar TCBS, agar sangre con ampicilina (ASA), Agar Bolton un medio libre de sangre para *Campylobacter* y agar Mc Conkey para la búsqueda de EPEC. Luego fueron incubados a 37°C por 18 a 24 horas. La siembra fue efectuada por dispersión y agotamiento.
2. También se sembró en caldos de enriquecimiento, caldo selenito, agua pectonada alcalina.
3. La lectura de los medios de aislamiento primarios selectivos sirvieron para seleccionar colonias sospechosas de enteropatógenos *Shigella*.

- En el agar XLD colonias rojas con o sin punto negro para la búsqueda de *Salmonella* y *Shigella*.
- En el agar TCBS, colonias amarillas y/o verdes grandes para la búsqueda de especies de *Vibrios*.
- En el agar sangre con ampicilina, colonias β -hemolíticas para la búsqueda de *Aeromonas* y colonias no hemolíticas para la búsqueda de *Plesiomonas shigelloides*.
- En el agar Bolton colonias grisáceas pequeñas ligeramente opacas para la búsqueda de especies de *Campylobacter*.
- En el agar Mac Conkey colonias rojas (lactosa positiva) e incoloras (lactosa negativa) para la búsqueda de EPEC.

4. La resiembra de los caldos de enriquecimiento se realizaron sobre el agar SS y TCBS. Colocando una asada de los caldos de enriquecimiento sobre los medios antes mencionados. Las colonias sospechosas de enteropatógenos se sembraron en medios diferenciales de TSI y LIA (como prueba de Screening según Grados, del manual para aislamientos de *Shigella* y *Salmonella*).

Al tercer día se realizó:

La lectura e interpretación del TSI y LIA.

Lectura del agar SS y TCBS.

Se realizó la susceptibilidad antimicrobiana.

Al cuarto día se realizó:

La lectura de pruebas de susceptibilidad a los antimicrobianos.

Lectura de los medios diferenciales.

5. Se realizaron las pruebas serológicas.

3.6 Procesamiento de datos.

Procesamiento y análisis de datos: los datos obtenidos fueron analizados utilizando el programa computarizado el MICROSOFT EXCEL 2010 el cual nos permitió hacer uso eficiente de las herramientas cuantitativas principales existentes para el presente trabajo, considerando un nivel de confianza del 95%.

3.7 Aspectos éticos. Se tuvo en cuenta los códigos de ética vigentes y se mantendrá la reserva correspondiente de los resultados.

CAPITULO IV RESULTADOS

FRECUENCIA DE LOS MICROORGANISMOS AISLADOS EN EL COPROCULTIVO

Resultados: Se puede observar, de acuerdo a los datos obtenidos que *Shigella spp.* Presenta una frecuencia del 42.51%, seguido de *Campylobacter spp.*, con 40.12% y *Salmonella spp.* 17.37%.

Tabla 1

Frecuencia de los microorganismos aislados en el coprocultivo

Microorganismo	n	(%)
<i>Shigella spp.</i>	213	42.51
<i>Campylobacter spp.</i>	201	40.12
<i>Salmonella spp.</i>	87	17.37
TOTAL	501	100.00

Fuente: Base de datos del servicio de Microbiología, Hospital Arzobispo Loayza, enero – diciembre, 2017

FRECUENCIA DE SEROTIPOS DE SHIGELLA AISLADOS EN COPROCULTIVOS

Resultados: Del genero *Shigella*, se obtuvo cuatro serotipos en el siguiente orden: *Shigella sonnei* con 63.38%, seguido de *Shigella flexneri* con 28.64%, *Shigella sp.* 6.57% y *Shigella boydii* con 1.41%.

TABLA N° 2*Frecuencia de serotipos de Shigella aislados en coprocultivos*

Microorganismo	n	(%)
<i>Shigella sonnei</i>	135	63.38
<i>Shigella flexneri</i>	61	28.64
<i>Shigella sp.</i>	14	6.57
<i>Shigella boydii</i>	3	1.41
TOTAL	213	100.00

Fuente: Base de datos del servicio de Microbiología, Hospital Arzobispo Loayza, enero – diciembre, 2017

FRECUENCIA DE SEROTIPOS DE SALMONELLA AISLADOS EN COPROCULTIVOS

Resultados: Se obtuvo 87 muestras positivas a salmonella, de las cuales: *Salmonella sp.*, obtuvo el 77.01%, seguido de *Salmonella Grupo C* con 20.69%, por último *Salmonella Grupo D* y *Salmonella Grupo B* con 1.15%.

TABLA N° 3*Frecuencia de serotipos de Salmonella aislados en Coprocultivos*

Microorganismo	n	(%)
<i>Salmonella sp.</i>	67	77.01
<i>Salmonella Grupo C</i>	18	20.69
<i>Salmonella Grupo D</i>	1	1.15
<i>Salmonella Grupo B</i>	1	1.15
TOTAL	87	100.00

Fuente: Base de datos del servicio de Microbiología, Hospital Arzobispo Loayza, enero – diciembre, 2017

SUSCEPTIBILIDAD A LOS ANTIMICROBIANOS DE SHIGELLA AISLADOS EN COPROCULTIVOS

Resultados: Se obtuvo para *Shigella* la siguiente sensibilidad: Ciprofloxacina 100%, seguido de Cefotaxima 96.3%, Furazolidona 90.9% y ácido nalidixico con un 90.7%.

TABLA N° 4

Susceptibilidad a los antimicrobianos de Shigella aislados en Coprocultivos

Nombre del antibiótico	Número	%R	%I	%S
Ampicilina	211	84.4	0.5	15.2
Furazolidona	208	1.9	7.2	90.9
Ciprofloxacina	207	0	0	100
Ácido nalidíxico	204	1.5	7.8	90.7
Cloramfenicol	146	76.7	0.7	22.6
Trimetoprima/Sulfametoxazol	109	94.5	0.9	4.6
Cefotaxima	81	1.2	2.5	96.3

Fuente: Base de datos del servicio de Microbiología, Hospital Arzobispo Loayza, enero – diciembre, 2017

SUSCEPTIBILIDAD A LOS ANTIMICROBIANOS DE CAMPYLOBACTER AISLADOS EN COPROCULTIVOS

Resultados: Se obtuvo para *Campylobacter sp.* La siguiente sensibilidad: Eritromicina 92%, ciprofloxacina 0%.

TABLA N° 5*Susceptibilidad a los antimicrobianos de Campylobacter sp aislados en Coprocultivos*

Nombre del antibiótico	Número	%R	%I	%S
Ciprofloxacina	201	99.5	0.5	0
Eritromicina	201	8	0	92

Fuente: Base de datos del servicio de Microbiología, Hospital Arzobispo Loayza, enero – diciembre, 2017

SUSCEPTIBILIDAD A LOS ANTIMICROBIANOS DE SALMONELLA, AISLADOS EN COPROCULTIVOS

Resultados: Se obtuvo para Salmonella la siguiente sensibilidad: Cloranfenicol 59.5% seguido de Ciprofloxacina. 44.8%, Trimetoprima/Sulfametoxazol con 43.8%.

TABLA N° 6*Susceptibilidad a los antimicrobianos de Salmonella, aislados en Coprocultivos*

Nombre del antibiótico	n	%R	%I	%S
Ciprofloxacina	87	2.3	52.9	44.8
Furazolidona	86	67.4	2.3	30.2
Cloramfenicol	84	40.5	0	59.5
Ampicilina/sulbactam	82	64.6	0	35.4
Ácido nalidíxico	79	73.4	0	26.6
Trimetoprima/Sulfametoxazol	64	56.2	0	43.8
Cefotaxima	20	60	0	40

Fuente: Base de datos del servicio de Microbiología, Hospital Arzobispo Loayza, enero – diciembre, 2017

CAPITULO V DISCUSION, CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

DISCUSION

En este presente trabajo se han encontrado que las bacterias más frecuentes aisladas en coprocultivos fueron en primer lugar *Shigella* spp (42.51%), seguido de *Campylobacter* sp (40.12%) y *Salmonella* spp (17.37%).

En cuanto a *Shigella* en nuestro estudio se evidencio que el serogrupo más frecuente fue *Shigella sonnei* (63.38%) y *Shigella flexneri* (28.64%). En el estudio realizado por Guevara et al (2010 – 2011) en el Hospital Nacional Alcides Carrión, en el primer año hubo predominio de *Shigella flexneri* (64.1%) y *Shigella sonnei* (31.3%) a diferencia del segundo año en donde el serogrupo predominante fue *Shigella sonnei* (55.6%) seguida de *Shigella flexneri* (40.0%), resultados que se aproximan a nuestro estudio.

Estos datos se ven reforzados por el estudio realizado por Bernales et al (2013) en el Hospital de Niños João Paulo II de Brasil, en el cual se reporta una prevalencia de *Shigella sonnei* (88.2%) y *Shigella flexneri* (11.8%)

En comparación con otros estudios como el realizado por Baca et al (2013) en el Instituto de Salud Pediátrico de Lima, en donde se obtuvo mayor prevalencia *Shigella flexneri* (62.3%) seguida de *Shigella sonnei* (32.9%), así como el trabajo realizado por Llance (1999 – 2001) que encontró un predominio de shigellosis en el en el Hospital Carrión en donde reportó 67% de *Shigella flexneri* y 18% de *Shigella sonnei*.

La diferencia que se evidencia en el desarrollo de distintos serogrupos de *Shigella* tanto en nuestro estudio como los de otros autores, puede deberse a que el desarrollo de *Shigella* no es homogénea varía de acuerdo distribución geográfica, algunos son prevalentes en determinadas

regiones del mundo. En general *Shigella flexneri* es más frecuente en países en desarrollo y *Shigella sonnei* lo es en países desarrollados (Von et al, 2006). También se reporta que las infecciones son más frecuentes en épocas de verano y principio del otoño en las regiones templadas y en épocas de lluvia en las regiones tropicales (Public Health Agency of Canada, 2011) y factores ambientales predisponen el desarrollo de distintos serogrupos de *Shiguella*.

En segundo lugar, se encontró a *Campylobacter sp* con 40.12% a diferencia del estudio realizado por Arista, Huaman, Miñano y Diaz (2013), quienes obtuvieron una frecuencia de 11.7% en *Campylobacter sp*.

Un estudio realizado por Perales, Camiña y Quiñones (2001), en cuatro Centros de Salud del distrito de la Victoria se obtuvo *Campylobacter sp* (4.8%).

En Colombia en un estudio realizado por Manrique et al (2006), se encontró *Campylobacter* 2.3%.

La diferencia porcentual entre los estudios se debe a que muchas veces la presencia de *Campylobacter* en las heces no es detectado ya que para su identificación se requiere de procedimientos que muchas veces es obviado por razones de bioseguridad debido a que se requiere de una coloración especial denominada “ Coloracion de Vago” para la que se necesita colorantes como el mercurio de cromo que es altamente toxico y carcinógeno por otro lado el cultivo requiere de un medio para anaerobiosis en agar sangre y la siembra se realiza sobre un filtro para que solo la bacteria que es espiralada pueda atravesar y de un temperatura de 42°C. (Perales, Camina y Quiñones, 2002).

En tercer lugar *Salmonella sp.* (77.01%) fue la más prevalente, comparado con los estudios realizados en Cajamarca, Lambayeque, Loreto y Lima en muestras de diarrea en niños menores de 5 años en la cual se registró una frecuencia de *Salmonella sp.* del 13,2%.

Bellido, Galiano, Tirado, Gonzales y Safont (España, 2000) en el Hospital General de Castellón en niños de 0 a 5 años, obtuvieron una prevalencia de *Salmonella sp.* de 26% cifra que se aproximan a nuestro estudio.

Otros estudios como el de Parado, Inoriza y Plaja (España, 2004), Hospital de Palamos en pacientes pediátricos encontraron una prevalencia de 31.3% de *Salmonella sp.*

Lain, Ruiz, Marne y Revilla (España, 2010-2012) en el Hospital Miguel Servet se observó que *salmonella sp.* tenía una frecuencia de 33,8% en niños y 32.0% en adultos.

Nuestro estudio abarca población tanto en niños como adultos a diferencia de los estudios citados quienes se centran más en población pediátrica lo cual explicaría la mayor prevalencia presente en el estudio. La bacteria *Salmonella* es más prevalente en niños mayores de 5 años y tiene predominó en los meses de verano época donde hay mayor infección. (Alcalde Martín, 2002).

En cuanto a la susceptibilidad en *Shigella* encontramos una sensibilidad (100%) a Ciprofloxacino y una resistencia a Trimetropim sulfametoxazol de (94.5%).

Manera, Aimaretto y Raimondi (2010-2015), en su estudio se observó sensibilidad a Ciprofloxacino (100%) y resistencia a Trimetropim sulfametoxazol (40.0%) comparado con nuestro estudio el resultado fue un poco menor.

Bernardes et al (2004 – 2005) encuentran una sensibilidad a Ciprofloxacino (100%) y resistencia a Trimetropim sulfametoxazol (82.4%).

Baca et al (2013) reporta una sensibilidad Ciprofloxacino (100%) y resistencia a Trimetropim sulfametoxazol (87.1 %).

El principal mecanismo de resistencia a Trimetropim sulfametoxazol que presentan las bacterias Gram-negativo es la adquisición por transferencia horizontal de genes *dfr* o *dhfr*, que codifican enzimas DHFR resistentes a trimetropim sulfametoxazol (Huovinen, 2001). La resistencia a este antibiótico en *Shigella* aparece y comienza aumentar rápidamente alrededor del año 1980. Esto ocurre principalmente por la diseminación de genes *dfr* (Huovinen et al., 1995).

La susceptibilidad antimicrobiana en *Campylobacter* en nuestro estudio se observó una sensibilidad a Eritromicina (92.0%), y una resistencia a Ciprofloxacino (99.5%).

Orrego et al (2010-2012) en el estudio observaron que *Campylobacter* presentaba una sensibilidad a Eritromicina (99.0%) y una resistencia a Ciprofloxacino (49.0%).

García, Valenzuela, Rodríguez, León y Fernández (2009) obtuvieron una sensibilidad a Eritromicina de (100%) y resistencia a Ciprofloxacino (32.4 %).

Simaluiza, Toledo y Fernández, sensibilidad a Eritromicina de (92.3%) y resistencia a Ciprofloxacino (76.9 %). La resistencia a Ciprofloxacino se debe a que este patógeno no posee uno de los sitios blanco de acción topoisomerasa IV debido a una mutación puntual, lo que permite a esta bacteria presentar resistencia de alto nivel a fluoroquinolonas (Oteo y Campos, 2004).

En cuanto a la susceptibilidad en *Salmonella* se obtuvo una sensibilidad a cloranfenicol (59.5%) y una resistencia a Ampicilina (64.6%) esta sensibilidad es menor que la obtenida por Gallegos (2014) en donde se obtuvo una sensibilidad a cloranfenicol (76.66%) y una resistencia a Ampicilina (33.33%).

Ibarra et al (2013), obtuvo una sensibilidad a cloranfenicol (46.7%) y una resistencia a Ampicilina de (67.6%).

La baja sensibilidad a cloranfenicol y la alta resistencia a Ampicilina observada se deben a la producción de enzimas inactivadoras producidas por *Salmonella* como la acetiltransferasa que inactiva el cloranfenicol por el agregado de dos grupos acetilos impidiendo su unión a los ribosomas bacterianos, mecanismo mediado por plásmidos. La resistencia a ampicilina esta mediada por la producción de betalactamasas generalmente por Tem-1, (Harish B, Menezes G, 2011).

CONCLUSIONES

De los datos obtenidos podemos concluir: El orden de aislamientos de los microorganismos en los coprocultivos fue en primer lugar para *Shigella spp* con 42.51%, seguido de *Campylobacter spp.*, con 40.12% y *Salmonella spp.* 17.37%.

Los serotipos de shigella aislados en coprocultivos fueron los siguiente, *Shigella sonnei* con 63.38%, seguido de *Shigella flexneri* con 28.64%, *Shigella sp.* 6.57% y *Shigella boydii* con 1.41%.

De los serotipos de salmonella aislados en coprocultivos se obtuvo *Salmonella sp.*, 77.01%, seguido de *Salmonella Grupo C* con 20.69%, por ultimo *Salmonella Grupo D* y *Salmonella Grupo B* con 1.15%.

De la susceptibilidad a los antimicrobianos de Shigella aislados en coprocultivos se obtuvo la siguiente sensibilidad: Ciprofloxacina 100%, seguido de Cefotaxima 96.3%, Furazolidona 90.9% y ácido nalidixico con un 90.7%.

La susceptibilidad a los antimicrobianos de Campylobacter, aislados en coprocultivos se obtuvo la siguiente sensibilidad: Eritromicina 92%, presentando resistencia a ciprofloxacina 99.5%.

De la susceptibilidad a los antimicrobianos de Salmonella, aislados en coprocultivos se obtuvo la siguiente sensibilidad: Cloranfenicol 59.5% seguido de Ciprofloxacina. 44.8%, Trimetoprima/Sulfametoxazol con 43.8%.

RECOMENDACIONES

Informar la presencia de resistencia antimicrobiana al departamento de epidemiología, el cual es el encargado de registrar los casos de importancia, y recomendar el no uso de antibióticos que presentan resistencia.

Periódicamente se debe realizar estudios de susceptibilidad para así poder comparar patrones de resistencias de los microorganismos gastrointestinales más frecuentes en los diferentes hospitales.

Desde el punto de vista del laboratorio, las muestras para realizar los coprocultivos deben ser en lo posible trabajadas de forma inmediata.

Se debe tener en cuenta los protocolos existentes para el transporte, procesamiento y la interpretación de la sensibilidad y resistencia de las bacterias gastrointestinales.

Educar a la población peruana para que frente a la diarrea asistan a los hospitales a fin de que se le puedan realizar estudios de coprocultivo para determinar la etiología de dicho cuadro.

Hacer tomar conciencia a los médicos para que puedan solicitar coprocultivos y antibiogramas a fin de prescribir el antibiótico que ejerza mayor eficacia contra la bacteria productora de la enfermedad.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alcalde, C., Gómez, L., Carrascal, M., Blanco, A., Marcos, H., Bedate, P., González, A., & Jiménez, E. (2002). Gastroenteritis aguda en pacientes hospitalizados. Estudio evolutivo de 14 años. *Anales de Pediatría*, 56(2) 104-110. Recuperado de: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S169540330278939X>
- Alvarez, M., Buesa, J., Castillo, J., & Vila, J. (2008). Procedimientos en Microbiología Clínica. Recuperado de: <https://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia30.pdf>
- Arista, H., Huaman, L., Miñano, E., & Diaz, C., (2013) Características Clínicas, Epidemiológicas y Laboratoriales de Enfermedades Diarreicas Agudas en menores de cinco años. “Clínica Asociación Vida Saludable”. *Revista Hispanoamericana de Ciencias de la Salud*, 1(1), 19-24. Recuperado de: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=5279922>
- Baca, C., Yupanqui, L., Canales, J., Zamudio, M., Quispe, M. & Tamariz, J. (2013). *Revista Médica Herediana*, 25(2), 73-79. Recuperado de: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=338034007004>
- Bernardes, M., Nogueira, E., Birchall, G., Péret, L., Penna, F. & Prazeres, P. (2013). Shigella in Brazilian children with acute diarrhoea: prevalence, antimicrobial resistance and virulence genes. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, 108(1), 30-35. Recuperado de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3974317/>

- Bucher, A., Rivara, G., Briceño, D., & Huicho, L. (2012) Uso de una Prueba Rápida de Rotavirus en la Prescripción de Antibióticos en Diarrea Aguda Pediátrica: Un Estudio Observacional, Aleatorizado y Controlado. *Rev. Gastroenterol*, 32(1), 11–5. Recuperado de : http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S102251292012000100002&script=sci_arttext
- Bustos, A. (2012). Diarreas bacterianas. *Revista de Enfermedades Infecciosas en Pediatría*, 25(100), 149-153. Recuperado de: <http://www.medigraphic.com/pdfs/revenfinfped/eip-2012/eip122i.pdf>
- Clinical and Laboratory Standards Institute. (2013). *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty Third Informational Supplement*. Available in: <https://www.researchgate.net/profile/>
- Cuevas, R., Moreno, R., Elizabeth, K., Muñiz, V., Castro, V., & Maturell, M. (2014). Enfermedad diarreica aguda en niños guatemaltecos menores de 5 años. *Medisan*, 18(11), 1515-1523. Recuperado de: http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S102930192014001100005&script=sci_arttext&tlng=en
- Gallegos, F. (2015). Resistencia bacteriana en pacientes atendidos con gastroenteritis por *Salmonella* spp. en el Hospital Corazón Inmaculado de María del Cantón el Chaco (Tesis de pregrado). Universidad Técnica de Ambato, Ecuador.
- García, P., Valenzuela, N., Rodríguez, L., Victoria, M., León, E., & Fernández, H. (2009). Susceptibilidad antimicrobiana de *Campylobacter jejuni* aislado de coprocultivos en Santiago de Chile. *Revista chilena de infectología*, 26(6), 511-514. Recuperado de: http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0716-10182009000700004&script=sci_arttext

- Grupo para control de la resistencia bacteriana de Bogotá. (2010). *Manual de Actualización en Resistencia Bacteriana y Normas CLSI M100 – S20, 2010*. Recuperado de: http://www.saludcapital.gov.co/sitios/VigilanciaSaludPublica/SiteCollectionDocuments/Manual_Resistencia_SDS_2010.pdf
- Guevara, J., Cipriani, R., Giraldo, D., Mezarina, E., Sánchez, I., Villagómez, Z., Antezana, A., Alagón, R., & Carranza, R. (2014). *Shigella sonnei*: ¿Está ocurriendo un cambio en nuestro medio? *An Fac med*, 75(2), 189-191. Recuperado de: <http://dx.doi.org/10.15381/anales.v75i2.8390>.
- Guzman, L. (2016). Prevalencia de enfermedad diarreica aguda en pacientes pediátricos según el plan de atención en la unidad de rehidratación oral del Hospital Nacional Hipólito Unanue. Enero–marzo del 2015 (Tesis de maestría). Universidad Ricardo Palma, Perú.
- Harish, B., & Menezes, G. (2011). Antimicrobial resistance in typhoid salmonella. *Indian J Med Microbiol*, 29 (3), 223-229. Recuperado de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21860101>
- Huovinen, P., Sundström, L., Swedberg, G., & Sköld, O. (1995). Trimethoprim and Sulfonamide Resistance. *Antimicrob Agents Chemother*, 39(2), 279–289. Recuperado de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC162528/>
- Ibarra, F., Bascopé, S., Bazan, Y., Bejarano, H., Bustamante, R., Cadima, M., & Peláez, C. (2005). Sensibilidad y Resistencia de las salmonellas a los antimicrobianos en la ciudad de Cochabamba. *Gac Med Bol*, 28(1), 3-7. Recuperado de: http://www.scielo.org.bo/scielo.php?pid=S1012-29662005000100002&script=sci_abstract

INCIENSA. (2016). *Incremento de las diarreas por Shigella flexneri 4av en Costa Rica, enero*
– marzo 2016. Recuperado de:

<https://www.inciensa.sa.cr/actualidad/noticias/Incremento/de/shigellosis/por/S./flexneri/4av,/serotipo/inusual/en/Costa/Rica.pdf>

Kuper, K., Boles, D., Mohr, J., & Wanger, A. (2009). Antimicrobial susceptibility testing: a primer for clinicians. *Pharmacotherapy: The Journal of Human Pharmacology and Drug Therapy*, 29(11), 1326-1343. Recuperado de:

<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1592/phco.29.11.1326/full>

Laín, E., Ruiz, S., Marne, C., & Reville, M. (2010-2012). Gastroenteritis bacteriana en un área de Zaragoza (España). *Rev Pediatr Aten Primaria*, 17(65), 29-35. Recuperado de:

http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1139-76322015000100005

Llanccce L. (2002). Estudio de la Resistencia in vitro de cepas de Shigella frente a 20 antimicrobianos en el Hospital Carrión 1999 – 2001. (Tesis de pregrado). Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Perú.

Manera, C., Aimaretto, C., & Raimondi. (2010-2015). Prevalencia y resistencia antimicrobiana de Shigella en un Hospital regional. *Publicaciones Científicas*, 1(1), 1-9. Recuperado de:

<http://cobico.com.ar/prevalencia-y-resistencia-antimicrobiana-de-shigella-en-un-hospital-regional/>

Manrique, F., Billon, D., Bello, S., & Ospina, J. (2004). Agentes causantes de Diarrea en Niños Menores de 5 Años en Tunja, Colombia. *Rev. Salud pública*, 8 (1), 88-97. Recuperado de:

http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0124-00642006000100008&script=sci_abstract&tlng=pt

- Merino, L., Hreňuk, G., Ronconi, M., & Alonso, J. (2004). Resistencia a antibióticos y epidemiología molecular de *Shigella spp.* en el nordeste argentino. *Revista Panamericana de Salud Pública*, 15(4), 219-224. Recuperado de: https://scielosp.org/scielo.php?pid=S1020-49892004000400001&script=sci_abstract
- Ministerio de Salud del Perú. (2001). Estudio de Etiología de la diarrea en las Direcciones de Salud Cajamarca, Lambayeque, Loreto y Lima Este. Recuperado de: http://www.ins.gob.pe/repositorioaps/0/4/jer/cnsp_resanti_documentos_tecnicos/Estudio_etiologico_diarrea_4_DISAS.pdf
- Ministerio de Salud del Perú. (2016). Boletín Epidemiológico (Lima – Perú). Recuperado de: <http://www.dge.gob.pe/boletin.php>
- Moya, J., Pio, L., Terán, A., & Olivo, J. (2016). Rendimiento diagnóstico del agar sangre con filtro versus agar karmali para el diagnóstico de *Campylobacter* en coprocultivo. *Horizonte Médico*, 16(3), 58-65. Recuperado de: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1727558X2016000300009&script=sci_arttext&tlng=en
- Organización Mundial de Gastroenterología. (2012). *Diarrea aguda en niños y adultos: una perspectiva mundial*. Recuperado de: <http://www.worldgastroenterology.org/UserFiles/file/guidelines/acute-diarrhea-spanish-2012.pdf>
- Orrego, M., Weiler, N., Portillo, R., Lird, G., Acosta, L., Ortiz, F., Mereles, E., Rodríguez, G., Menacho, C., Fernandez, P., Melgarejo, N., Zarate, N., Huber, C., & Alvarez, M. (2010-2012). Síndrome diarreico agudo causado por *Campylobacter spp* en pacientes menores de 11 años y su resistencia antimicrobiana a las drogas de elección para tratamiento.

Rev Pediatr. (Asunción), 41(2); 127 – 130. Recuperado de:
<https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/4800306.pdf>

Oteo, J., & Campos, J. (2004). Uso de Quinolonas y resistencia. *Enferm Infecc Microbiol Clin*, 22(4), 201-203. Recuperado de: <http://www.elsevier.es/es-revista-enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica-28-articulo-uso-quinolonas-resistencia-13059048>

Parada, E., Inoriza, J., & Plaja, P. (2007). Gastroenteritis aguda: coste de una causa de ingreso potencialmente evitable. *Anales de Pediatría*, 67(4), 368-373. Recuperado de:
<https://www.analesdepediatria.org/es-gastroenteritis-aguda-coste-una-causa-articulo-13110610>

Perales, M., Camiña, C., & Quiñones, C. (2002) Infección por *Campylobacter* y *Shigella* como causa de diarrea aguda acuosa en niños menores de dos años en el distrito de La Victoria, Lima – Perú. *Rev peru med exp salud pública*, 19(4), 186-192. Recuperado de:
http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-46342002000400004

Pérez, D., Maturrano, L., & Rosadio, R. (2012). Genotipificación y subtipificación molecular de cepas de *Clostridium perfringens* aisladas en alpacas muertas por enterotoxemia. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 23(3), 272-279. Recuperado de:
http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S160991172012000300003&script=sci_arttext&tlng=

Picazo, J. J. (Ed.). (2000). *Procedimientos en Microbiología Clínica*. Recuperado de:
<https://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia10.pdf>

Public Health Agency of Canada. Shigellosis. (2011). Recuperado de: <http://www.phac-aspc.gc.ca/fs-sa/fs-fi/shigellos-eng.php>

Silva, H., Bustamante, O., Aguilar, F., Mera, K., Ipanaque, J., Seclen, E., & Vergara, M. (2017). Enteropatógenos predominantes en diarreas agudas y variables asociadas en niños atendidos en el Hospital Regional Lambayeque, Perú. *Horizonte Médico*, 17(1), 38-44. Recuperado de: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1727558X2017000100007&script=sci_arttext&tlng=

Simaluiza, R., Toledo, Z., & Fernández, H. (2015). Prevalencia y caracterización del perfil de susceptibilidad antimicrobiana de *Campylobacter jejuni* y *Campylobacter coli* en niños con diarrea de la ciudad de Loja, Ecuador. *Revista chilena de infectología*, 35(2), 199-201 Recuperado de: <http://www.revinf.cl/index.php/revinf/article/view/86>

Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. (2011). *Género Shigella: aspectos prácticos para el laboratorio de microbiología*. Recuperado de: <http://seimc.org/contenidos/ccs/revisionestematicas/bacteriologia/Rshigella.pdf>

Velasco, J., Araque, M., Araujo, E., Longa, A., Nieves, B., Carolina, A., Velasco, E. (2008). *Manual Práctico de Bacteriología Clínica*. Recuperado de: <http://www.serbi.ula.ve/serbiula/librose/pva/Libros%20de%20PVA%20para%20libro%20digital/Manual%20de%20Bacteriologia.pdf>

Von, S., Kim, D., Ali, M., Lee, H., Wang, X., Thiem, V., Canh, D., Chaicumpa, W., Agtini, M., Hossain, A., Bhutta, Z., Mason, C., Sethabutr, O., Talukder, K., Nair, G., Deen, J., Kotloff, K., & Clemens, J. (2006). A multicenter study of *Shigella* diarrhea in six Asian countries: disease burden, clinical manifestations, and microbiology. *PLoS*

Medicine, 3(9), 1556-1569. Recuperado de:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16968124>

Yalda, L. (2014). Etiología y manejo de la gastroenteritis aguda infecciosa en niños y adultos.
Revista Médica Clínica Las Condes, 25(3), 463-472. Recuperado de:
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S071686401470063X>