



**TRABAJO PARA OPTAR POR EL TITULO DE
ESPECIALISTA DE PRIMER GRADO EN MICROBIOLOGIA**

**Determinación de patotipos y fenotipos de
resistencia antimicrobiana de *Escherichia coli*
diarrogénicos en Cuba, enero 2019 a marzo 2020.**



Autor: Dr. Leonardo Ledea Fernández

Especialista de Primer Grado en Medicina General Integral.

Residente de tercer año de Microbiología

Tutor: Dr. Adalberto Águila Sánchez Ms. C.

Tutor: Ing. Anabel Fernández Abreu. Dr. C.

INSTITUTO DE MEDICINA TROPICAL “PEDRO KOURÍ”

LA HABANA, 2022

DEDICATORIA

A MI FAMILIA:

A mis padres, por impulsarme a crecer profesionalmente y como ser humano. Por educarme con valores y enseñarme con su ejemplo y sobre todo por darme su amor incondicional.

A mi esposa por ser mi compañera de aventuras, por sus consejos, por su apoyo incondicional, por toda la paciencia que me ha tenido y por motivarme a ser mejor.

A mis hijos por llegar a mi vida cuando menos imaginé y enseñarme cosas nuevas cada día.

MUCHAS GRACIAS.

GLOSARIO DE TÉRMINOS

AK: Amikacina

AMP: Ampicilina

ATCC: Colección de Cepas Americanas

BLEE: Betalactamasa de espectro extendido

C: Cloranfenicol

CIP: Ciprofloxacina

CN: Gentamicina

CPHEM: Centros Provinciales de Higiene, Epidemiología y Microbiología

CRO: Ceftriaxone

CSLI: Clinical and Laboratory Standards Institute

ECD: *E. coli* diarrogénicos.

ECAD: *E. coli* con adherencia difusa

ECEAgg. *E. coli* enteroagregativa

ECEA: *E. coli* enteroadherente

ECEH: *E. coli* enterohemorrágica

ECEP: *E. coli* enteropatogénica

ECET: *E. coli* enterotoxigénica

ECST: *E. coli* productora de Shiga toxina

EDA: Enfermedades Diarreicas Agudas

EIEC: *E. coli* enteroinvasiva

FOX: Cefoxitina

IPK: Instituto Pedro Kourí

IRA: Insuficiencia Renal Aguda

LNR/EDA/IPK: Laboratorio Nacional de Referencia de Enfermedades Diarreicas Agudas, Instituto Pedro Kourí.

OMS: Organización Mundial de la Salud

SNS: Sistema Nacional de Salud

SUH: Síndrome Urémico Hemolítico

SXT: Trimetoprim-sulfametoxazol

TE: Termoestable

TL: Termolábil

ÍNDICE

I.	INTRODUCCIÓN.....	1
	Objetivos.....	5
II.	MARCO TEÓRICO.....	6
	2.1 Características generales de <i>Escherichia coli</i>	6
	2.1.1 Clasificación Taxonómica.....	6
	2.1.2 Fisiología de <i>E. coli</i>	7
	2.1.3 Estructura antigénica.....	7
	2.1.4 Patogenicidad de <i>E. coli</i>	8
	2.1.5 Principales categorías de ECD.....	9
	2.1.5.1 <i>E. coli</i> enteropatógena (ECEP).....	9
	2.1.5.2 <i>E. coli</i> enterotoxigénica (ECET).....	11
	2.1.5.3 <i>E. coli</i> enteroinvasiva (ECEI).....	13
	2.1.5.4 <i>E. coli</i> enterohemorrágica (ECEH).....	14
	2.1.5.5 <i>E. coli</i> enteroagregativa (ECEAgg).....	16
	2.1.5.6 <i>E. coli</i> Adherente Difusa (ECDA).....	18
	2.2 Resistencia antimicrobiana.....	19
	2.2.1 Antimicrobianos.....	21
	2.2.2 Resistencia antimicrobiana en <i>E. coli</i>	21
III.	MATERIALES Y METODOS.....	23
	3.1 Tipo de estudio.....	23
	3.2 Universo y Muestra.....	23
	3.3 Operacionalización de las variables.....	24
	3.4. Control semántico.....	25
	3.5 Técnicas y procedimientos de laboratorio.....	25
	3.5.1 Caracterización fenotípica de <i>E. coli</i>	25
	3.5.2 Identificación bioquímica de <i>E. coli</i>	25
	3.6 Susceptibilidad antimicrobiana.....	26
	3.6.1 Pruebas de susceptibilidad de ECD.....	26
	3.6.2 Definición de los patrones de multirresistencia.....	28
	3.7 Análisis estadístico.....	28
	3.8 Aspectos éticos.....	28

IV.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	30
	4.1 Aislamiento clínico.....	30
	4.2 Frecuencia y distribución de patotipos de ECD identificados.....	31
	4.3 ECD y su relación con la edad.....	34
	4.4 ECD y su relación con el sexo.....	35
	4.5 Patotipos y su distribución espacial.....	37
	4.6 Resultados de las pruebas de susceptibilidad.....	38
	4.7 Susceptibilidad antimicrobiana por patotipos.....	43
	4.8 Patotipos de ECD y su relación con la multirresistencia.....	46
V.	CONCLUSIONES.....	50
VI.	RECOMENDACIONES.....	51
VII.	BIBLIOGRAFÍA.....	52
VIII.	Anexos.....	64

Resumen

La enfermedad diarreica aguda (EDA) continúa siendo uno de los problemas de salud pública más serios en los países en desarrollo y es la segunda mayor causa de muerte en menores de cinco años. Entre las principales causas se encuentra *Escherichia coli* diarrogénicos (ECD), que se ha clasificado con base a criterios clínicos, epidemiológicos y moleculares en seis grupos o patotipos. En el presente trabajo se definieron los aislados que pertenecían al género y especie *Escherichia coli* (*E. coli*), así como los fenotipos de resistencia antimicrobiana y los patotipos de ECD entre los aislados con diagnóstico presuntivo, todos procedentes de las tres regiones del país, en el período comprendido desde enero 2019 a marzo 2020. El estudio de susceptibilidad antimicrobiana se realizó mediante el método de difusión en agar y los patotipos se determinaron por la utilización de marcadores fenotípicos. La distribución de patotipos encontrados, en el estudio fue de (n=302) distribuyéndose como sigue: *Escherichia coli* enterotoxigénica 170 (56.3%), *Escherichia coli* enteropatogénica 105 (34,7%) y *Escherichia coli* enterohemorrágica 27 (8,9%). Todos los aislamientos fueron resistentes al menos a un antimicrobiano. El 13,2% (40/302) mostró fenotipo de multirresistencia y el patrón predominante fue cloranfenicol-ampicilina-tetraciclina. Este estudio demuestra lo factible y práctico del uso de marcadores fenotípicos, por haber evidenciado que *E. coli* enterotoxigénico continúa predominando entre los patotipos de ECD, con mayor porcentaje entre los niños menores de cinco años. Por otra parte el conocimiento de los fenotipos de resistencia y multirresistencia antimicrobiana, empodera a nuestros especialistas, pediatras y epidemiólogos a conducir mejor la terapéutica antimicrobiana al poder contar con ceftriazona, ciprofloxacina, azitromicina, amikacina, trimetoprim-sulfametoxazol y meropenem como arsenal, con muy buena sensibilidad antimicrobiana y por el contrario, no utilizar en pacientes con ECD, ampicilina y cloranfenicol, por el alto porcentaje de resistencia antimicrobiana.

Introducción

Las enterobacterias constituyen la agrupación más extensa y heterogénea de bacilos gramnegativos de importancia médica, constituyen el mayor componente de la flora intestinal y a la vez son pocos frecuentes en otros sitios del organismo; una parte de ellos se asocian a enfermedad, mientras que otros como *Escherichia coli* (*E. coli*), *Klebsiella pneumoniae* y *Proteus mirabilis* son parte de la microbiota intestinal y pueden ocasionar infecciones oportunistas. (1)

En 1895 un médico y pediatra Alemán el Dr. Theodor Escherich describe por primera vez la especie bacteriana *E. coli*, denominándola *Bacterium coli*, aunque fue descrito más tarde bajo múltiples sinónimos por otros investigadores, el nombre no se reconoció completamente hasta 1954. Posteriormente, Kauffmann y luego Orskov detallan su composición antigénica. Más adelante, Edwards y Ewing definen el comportamiento metabólico de esta especie. Se trata de un bacilo móvil gramnegativo, oxidasa negativa y fermentador de carbohidratos, perteneciente a la familia Enterobacteriaceae. (2,3)

E. coli coloniza el intestino en pocas horas posteriores al nacimiento, formando parte importante de la microbiota que reside en el colon humano, estableciendo una relación simbiótica con el individuo para toda la vida, pueden transmitirse directamente de persona a persona, de animal a persona o indirectamente, a través del agua o los alimentos contaminados. A pesar de que la mayoría de las cepas de *E. coli* sean comensales, en individuos inmunodeprimidos o cuando las barreras gastrointestinales son violadas, cepas no patogénicas de *E. coli* pueden causar infección, por consiguiente, algunas cepas causan infecciones intestinales y también enfermedades extraintestinales. (3, 4,5)

Para que las *E. coli* presentes en el ambiente, puedan causar infección intestinal son necesarias tres características: ser capaz de entrar en el intestino promovido por la ingestión de agua y alimentos contaminados, permanecer en el ambiente y tener la habilidad para alterar las funciones

celulares normales de este órgano. A las cepas capaces de producir enfermedad diarreica se les denominó ECD. (5,6)

De acuerdo a los factores de virulencia y patogenicidad, se clasifica en seis patotipos: *E. coli* enteropatogénica (ECEP), enterotoxigénica (ECET), enteroinvasiva (ECEI), enterohemorrágica (ECEH) o productora de Shiga toxina (STEC), enteroagregativa (ECEAgg) y *E. coli* enteroadherente (ECEA) con dos variantes, de adherencia difusa (ECAD) y de adherencia localizada (ECAL). (6, 7,8)

Los patotipos de *E. coli* poseen cualidades que les permiten producir infecciones entéricas y sus complicaciones (diarreas secretorias, disentería, colitis hemorrágica, síndrome urémico hemolítico) o extra intestinales (infecciones del tracto urinario, septicemias, meningitis, peritonitis, infecciones pulmonares y de heridas quirúrgicas) tanto en el hombre como en los animales. Aunque resultan innumerables los estudios realizados en torno a los factores que determinan esta patogenicidad, la diferenciación entre aislados de microbiota normal y los patotipos de *E. coli*, representan un gran dilema a la hora de realizar la identificación del agente productor del proceso diarreico, sobre todo en un laboratorio de microbiología clínica donde no se cuenta con variadas herramientas para distinguir ECD de *E. coli* de microbiota normal. (8)

Se estima que las EDA constituyen entre el 60 y el 80% del motivo de consultas pediátricas en los servicios de salud en América Latina. Anualmente se producen 1 700 millones de casos de diarreas infantiles en el planeta, con un saldo de 52 500 niños que fallecen cada año por EDA. En los países en vías de desarrollo las muertes en menores de cinco años ascienden a 3,2 millones de vidas. El Instituto de Medicina de la Academia Nacional de Ciencias de Estados Unidos estima que ECD provocan 630 millones de casos de diarreas en el mundo y aproximadamente 775 mil muertes al año, la población infantil del tercer mundo resulta la más afectada con un riesgo quince veces más alto de morir por esta causa. (8,9)

Los diferentes patotipos de ECD presentan factores de virulencia que definen la patogenia, las manifestaciones clínicas, la epidemiología y el tratamiento. Mediante la identificación fenotípica, molecular y la determinación de la susceptibilidad antimicrobiana, es posible conocer los fenotipos de resistencia y multirresistencia antimicrobiana de los patotipos que con mayor frecuencia causan casos esporádicos y brotes de diarrea. Cuando es imprescindible imponer tratamiento, conocer los patrones de resistencia antimicrobiana permite a los clínicos una mejor selección del tratamiento empírico. (10,11)

La determinación de los serogrupos o serotipos sobre la base del método de serotipificación en la actualidad no es suficiente para determinar un patotipo diarrogénico, porque se ha evidenciado que muchos factores de virulencia son codificados por vectores genéticos, transmitiéndose entre los aislados independientemente de los serogrupos o serotipos, por esta razón es necesario el uso de la biología molecular para su confirmación. (12, 13,14)

Los antimicrobianos son los fármacos que se utilizan para combatir las infecciones por agentes biológicos, a la pérdida de su efecto antibacteriano se le denomina resistencia antimicrobiana por alteraciones que se producen en los sitios activos de las bacterias, la adquisición de elementos móviles (plásmidos, fagos) o la producción de enzimas que conducen a una disminución o la pérdida de la sensibilidad frente a los antimicrobianos, son múltiples los mecanismos que describen el fenómeno. (15)

La resistencia a los antimicrobianos, constituye un problema de extrema importancia para la salud en la actualidad, la misma está relacionada muy estrechamente con el uso inapropiado de los antimicrobianos. Como consecuencia se produjo un aumento significativo de la resistencia en algunas de las principales bacterias patógenas que afectan a los seres humanos, lo que genera una amenaza a la salud pública y la salud individual de las personas. (16,17)

Las bacterias presentan un patrón de resistencia natural que hay que tener presente. En bacilos gramnegativos y específicamente en *E. coli*, la resistencia a betalactámicos se puede producir por varios mecanismos, resultando la producción de betalactamasas de espectro extendido (BLEE), el más importante. Los genes que codifican estas enzimas se encuentran en los cromosomas o plásmidos y se producen de manera constitutiva o inducible. (17,18)

Por la importancia que reviste ECD como causa de EDA, en el presente trabajo se confirmarán los patotipos que inciden más en la población del estudio actual, los identificados se le determinarán los fenotipos de resistencia y multirresistencia antimicrobiana. El estudio se realizará a partir de aislamientos procedentes de las 15 provincias del país y del municipio especial Isla de la Juventud.

Los resultados permitirán implementar un tratamiento antimicrobiano de primera línea o la definición de alternativas. Por tanto, el objetivo será la determinación de los patotipos de ECD que más inciden y los fenotipos de resistencia antimicrobiana expresados por los patotipos predominantes.

En la mayoría de los países no existe una vigilancia sistemática de patotipos de *E. coli* responsables de enfermedades diarreicas en el hombre, ni todos logran determinar los patotipos y estudiar el fenómeno de la resistencia y multirresistencia antimicrobiana, por lo que se considera que existe un alto sub- registro de ECD. Cuba no está exenta de esta situación, sólo se cuenta con Información disponible a partir de estudios puntuales conducidos en el LNR/EDA/IPK. Con la presente investigación se pretende dar continuidad a esta vigilancia y conocer los principales patotipos circulantes en el período de estudio y establecer los perfiles de susceptibilidad a antimicrobianos, con el fin de brindar datos que generen un mayor conocimiento a los médicos tratantes y la comunidad científica en general.

Objetivos

1. Describir los patotipos de aislados de *Escherichia coli* responsables de enfermedades diarreicas agudas en Cuba (enero 2019 – marzo 2020).
2. Comprobar que la susceptibilidad a los antimicrobianos demostrada para los aislados diarrogénicos de *Escherichia coli* en Cuba durante el período de estudio, afianza la aplicación de la estrategia de tratamiento empírico recomendada.

II. MARCO TEÓRICO

2.1 Características generales de *Escherichia coli*

La especie la constituyen bacilos gramnegativos, oxidasa negativos con un tamaño promedio de 1,1-1,5 un de ancho y 2,0-6,0 un de largo. En los medios de cultivos sólidos, las unidades formadoras de colonias (UFC) presentan un aspecto rugoso o liso, pueden existir colonias intermedias y mucoides. Las colonias rugosas tienen un aspecto áspero y contornos irregulares, mientras que las lisas son convexas, brillantes de bordes regulares. (19)

De acuerdo a su requerimiento de oxígeno son anaerobios facultativos y pueden ser móviles por la presencia de flagelos peritricos o no móviles. La bacteria también se caracteriza por sus propiedades bioquímicas; positivas para la reacción de indol, lisina, motilidad y negativa para los test de urea e hidrógeno y la utilización del citrato. (20,21)

Es una bacteria mesófila, debido a que su desarrollo óptimo se encuentra entre los 35-43°C, temperatura corporal de los animales de sangre caliente, y su temperatura límite de crecimiento se sitúa alrededor de los 37°C. La actividad del agua y el pH también influyen en la proliferación de esta bacteria, las condiciones óptimas para estos parámetros son de 7,2 y 0,99 respectivamente. El desarrollo de *E. coli* se detiene a pH inferior a 3,8 y superiores a 9,5. (21)

2.1.1 Clasificación taxonómica

Reino: Procarionte

Dominio: Bacteria

Phylum: Proteobacteria

Clase: Gammaproteobacteria

Orden: Enterobacteriales

Familia: *Enterobacteriaceae*

Género: *Escherichia*

Especie: *Escherichia coli*

2.1.2 Fisiología de *E. coli*

E. coli reduce los nitratos a nitritos; presenta ambos tipos de metabolismo, respiratorio y fermentativo permitiéndole crecer tanto en presencia como en ausencia de oxígeno. En condiciones anaeróbicas se desarrolla por vía fermentativa produciendo las clásicas combinaciones de ácidos y gas como productos finales. Sin embargo, también puede desarrollarse utilizando amoníaco, amonio fumarato como aceptor final de electrones de la cadena respiratoria. (22)

E. coli fermenta lactosa y no producen SH_2 , en particular la mayoría de las cepas de ECEI no fermentan lactosa por tanto la precaución se debe tener en cuenta cuando se utiliza este diagnóstico para diferenciar con el género de *Shigella*, también puede fermentar una variabilidad de sustratos: alcoholes como D-manitol, D-sorbitol y carbohidratos como D-sorbose, L-arabinosa, maltosa, D-xylosa, Trehalosa y D-manosa. Se recuperan con facilidad en el laboratorio a partir de muestras clínicas sembradas en medios comunes (agar sangre) o selectivos (agar MacConkey, agar eosina azul de metileno). Su crecimiento es óptimo a 37°C en condiciones aerobias con un tiempo de duplicación aproximado de 20 minutos. (22)

E. coli produce gran cantidad de ácido y gas a partir de la fermentación de los hidratos de carbono (prueba del rojo demetilo positiva) y no utiliza la vía que produce acetilo-metil-carbinol (acetoina) (prueba de Voges-Proskauer negativa). De modo habitual utiliza el acetato de sodio como única fuente de carbono; no ocurre lo mismo con el citrato de sodio (agar citrato de Simmons negativo) y no es capaz de hidrolizar la urea. La mayoría de las cepas producen indol, desdoblamiento del triptófano y descarboxilan la lisina. (22)

2.1.3 Estructura antigénica

Kauffman White en el año 1944 propone un esquema para la clasificación de *E. coli* basada en las variedades de los antígenos O (somático), H (flagelar) y K (capsular). Así las cepas pueden clasificarse también por el serogrupo de manera que O se refiere al antígeno del lipopolisacárido (LPS), o por serotipo, de manera que H se refiere al antígeno flagelar; por ejemplo *E. coli* O157:H7, por tanto cada patotipo contiene muchos serotipos y algunos pueden pertenecer a más de un patotipo (ej. O26:H11 puede ser ECEP o ECEH dependiendo de los genes de virulencia que estén presentes), por tal razón la serotipificación muchas veces no ofrece identificación definitiva de los patotipos, sólo un pequeño subconjunto de combinaciones O: H están asociados con la enfermedad. (23,24)

Esta forma de clasificación serológica facilita la diferenciación entre cepas virulentas e inoñas y permite la detección de brotes. La determinación de los antígenos O y H se realizan por técnicas de aglutinación en láminas, mientras que la identificación del antígeno K es recomendable que se realice por la técnica de contra inmunolectroforesis. Los métodos moleculares como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR: *por sus siglas en inglés*) de genes implicados en la biogénesis del antígeno O y del gen *fliC* para el antígeno H, se pueden utilizar para identificar el serotipo. Actualmente se reconocen 185 antígenos O, 56 H y 60 antígenos K. (24)

2.1.4 Patogenicidad de *E. coli*

La patogenicidad de *E. coli* se define por la demostración de factores de virulencia y la asociación de dichos factores con la enfermedad. El mecanismo por el cual produce la diarrea suele implicar la adherencia de la bacteria a un receptor glucoproteico y glucolipídico, tras lo que se produce alguna sustancia nociva que lesiona las células intestinales o que altera su función. (25,26)

Otros estudios realizados muestran que algunas cepas patógenas derivan de cepas comensales que han adquirido de forma horizontal fragmentos

cromosómicos o extra-cromosómicos relacionados con virulencia y resistencia a antibióticos como son: genes de virulencia, islas de patogenicidad (PAIs) y plásmidos. En la transmisión de plásmidos y PAIs se transfieren múltiples genes de una vez. La presencia de estos genes y de proteínas codificadas por los mismos forma parte esencial del mecanismo de patogénesis único de cada uno de estos tipos de ECD. Los genes de resistencia si bien no están implicados en el propio proceso de la infección, si lo están en el desarrollo de la misma y en el tratamiento utilizado para combatirla. De acuerdo a la patogenicidad, las cepas de *E. coli* pueden clasificarse en tres grandes grupos: comensales, patógenos intestinales y patógenos extraintestinales. (27)

2.1.5 Principales categorías de ECD:

Los patotipos de ECD se han clasificado con base en sus mecanismos de patogenicidad y patrones de adherencia sobre células epiteliales. Actualmente la identificación de los patotipos se hace por medio de la búsqueda de genes asociados a los mecanismos específicos de patogenicidad o de adherencia. En los países en vías de desarrollo los diversos patotipos de ECD provocan infecciones frecuentes en los primeros años de vida, responsables del 40% de todos los casos de diarrea en el mundo. (28)

2.1.5.1 *E. coli* enteropatogénica (ECEP)

Este patotipo resultó ser la primera variedad de *Escherichia coli* enterovirulenta, productora de diarrea que se identificó serológicamente, esta bacteria presenta como una de sus características principales la no producción de ninguna toxina, siendo su principal factor de patogenicidad la adherencia. Este grupo afecta principalmente a niños entre los seis meses y dos años de edad, también puede aislarse en adultos enfermos y sanos. La forma de transmisión de la enfermedad tiene lugar por la vía fecal – oral, y los reservorios pueden ser niños y adultos con o sin síntomas. Causa de brotes epidémicos en lugares cerrados como guarderías y hospitales. (28)

Factores de virulencia y patogenia

Los mecanismos fisiopatológicos que dan lugar al surgimiento del cuadro diarreico se relacionan principalmente con la alteración de la célula intestinal debido a la lesión de adhesión y borrado (A/E: attaching/effacing, por sus siglas en inglés) y a la formación de pedestales. Para el primer mecanismo, ocurren tres eventos de forma prácticamente simultánea:

- **Adherencia inicial al enterocito:** La bacteria entra en contacto con la célula mediante un flagelo y el pili tipo IV (BFP: bundle-forming pilus, por sus siglas en inglés), que tienen como función la auto agregación bacteriana y la adherencia a la célula mediante la formación de microcolonias.
- **Translocación de señales intracelulares:** facilitada por el sistema de secreción tipo 3 (T3SS: type III secretion system), mediante el cual diversas proteínas efectoras ingresan al enterocito.

Adherencia íntima bacteriana: De forma simultánea a la unión de T3SS al enterocito y a la entrada de las proteínas efectoras a través de los poros, la bacteria ingresa la proteína Tir (receptor) que facilita la adherencia a la intimina bacteriana y es indispensable para la formación del pedestal y la lesión intestinal. Una vez dentro de la célula hospedera, la cabeza de Tir se proyecta a la superficie de la membrana del enterocito, donde actúa como receptor para la intimina y para la transmisión de señales después de la interacción. Esto contribuye al segundo mecanismo de polimerización de la actina y a la formación de pedestales. (29)

Manifestaciones clínicas:

Abundantes diarreas secretorias con moco, con pérdida significativa de agua y electrolitos en las heces, afectación de la mucosa intestinal que conduce al borramiento del borde en cepillo por vesiculación de las microvellosidades, se produce una pérdida de enzimas disacaridasas, lo que conlleva una alteración de la absorción y conduce la producción de una diarrea secretora, que puede estar asociada a fiebre. Aunque la diarrea es autolimitada, esto depende de la respuesta inmune del hospedero y puede dar lugar a diarrea

secretora persistente. (29)

Epidemiología:

Este patotipo causa enfermedad principalmente, en los menores de dos años de edad en todo el mundo. En la actualidad los casos de diarrea por cepas ECEPa en países industrializados son pocos frecuentes. Sin embargo, en el transcurso de los últimos años, se han reportado varios brotes en diferentes países, principalmente en guarderías y otros centros de atención a niños. El hombre es considerado como el único reservorio de ECEP. Los alimentos en especial la carne bovina son una fuente importante de transmisión. (29,30)

2.1.5.2 *E coli* enterotoxigénica (ECET)

Este patotipo es uno de los principales agentes causales de diarrea al cual se le atribuye la responsabilidad de numerosos casos y muertes en niños menores de cinco años. Se estima que produce mil millones de casos de diarrea al año, también afecta a la población adulta, ya que produce diarrea en viajeros adultos de países industrializados que visitan zonas endémicas de ECET, denominada “diarrea del viajero”. (32)

Factores de virulencia y patogenicia

Las cepas de ECET poseen dos mecanismos principales de patogenicidad: adherencia y producción de toxinas.

- *Adherencia:* los factores de colonización (CFs) se encargan de la adhesión de las bacterias a receptores de las células epiteliales del intestino delgado, lo que permite la colonización. Estos factores se relacionan con la movilidad y auto agregación bacteriana. La bacteria expresa la EtpA, exoproteína de Adhesión (del inglés, TPS: *two-perner secretion*) situada al extremo del flagelo, permitiendo la adherencia de los CFs a las células epiteliales.
- *Toxinas:* la secreción de enterotoxinas termoestables (del inglés, ST: *heat-stable enterotoxin*) y enterotoxinas termolábiles (del inglés, LT:

heat-labile enterotoxin). Existen dos tipos de LT, las LT-I están directamente asociadas a cepas en humano, cada toxina se divide en dos subunidades A y B. ECET secreta, mediante el sistema secretorio tipo II, las LT dentro de las vesículas de la membrana externa y posteriormente con la ayuda de la subunidad B de LT se une al gangliósido GM1, que por endocitosis permite que las vesículas de la membrana externa ingresen al citoplasma, luego se dirigen al aparato de Golgi y al retículo endoplásmico. La subunidad LT-A1 presente en el citosol se une, mediante ribosilación del ADP, a los nucleótidos de guanina, inhibe la actividad de GTPasa y activa la adenilatociclasa, se produce un aumento del AMPcíclico lo que estimula la secreción de cloruro y demás electrolitos e impide la absorción del intestino y de esta forma ocasiona diarrea secretora de amplia intensidad (32)

Manifestaciones clínicas

El cuadro clínico que producen estas bacterias resulta similar al que se observa en el caso del cólera, presentando de ocho a doce evacuaciones al día por un período de cuatro a cinco días. Las cepas ECET constituyen una causa importante de diarrea en niños menores de cinco años de edad y resulta una de las causas más frecuentes de diarrea del viajero. (32)

Epidemiología.

Se considera a ECET junto con las ECEP y los rotavirus los patógenos que más frecuentemente causan gastroenteritis infantil, diarrea colérica y diarrea del viajero en países con condiciones higiénico sanitarias deficientes. La temperatura del ambiente, es un factor importante en la incidencia de esta enfermedad, se estima que la tasa de morbilidad aumenta en un 7% por cada grado de aumento en la temperatura ambiental que se acompaña con el crecimiento y proliferación de las bacterias contaminando agua y alimentos.

En los países en vía de desarrollo resulta una causa frecuente de diarrea en lactantes de estos países, además resulta ser la causa más común de

diarrea en individuos de países industrializados que viajan a zonas menos desarrolladas del mundo. Se cree que la razón de que los ECET causen diarrea principalmente en países poco desarrollados es que las bacterias deben ser ingeridas en cantidades elevadas, para llegar a provocar deshidratación. Esto es posible cuando las condiciones higiénico sanitarias son deficientes. (32)

2.1.5.3 *E. coli* enteroinvasiva ECEI.

La descripción de este patotipo ocurre por primera vez a principios de 1970, como una cepa invasora que causaba una diarrea disenteriforme; se encuentra de manera endémica en muchos de los países en desarrollo, con cierta similitud epidemiológica a la observada en la shigelosis. Se considera a los animales, especialmente los bovinos, el reservorio más importante para esta bacteria. (33)

Factores de virulencia y patogenia

ECEI evade la respuesta inmune ya que penetra con facilidad a las células epiteliales del colon por medio de adhesinas, con movimiento lateral para evadir otras células. Al igual que *Shigella spp*, posee un plásmido de virulencia pINV que codifica para el T3SS, 25 proteínas (entre ellas OscpB, VirE, OspG) y los antígenos de invasión de plásmido (Ipa: invasión plasmid antigens) Ipa A, Ipa B, Ipa C, IpaD, entre otros.

Inicialmente invaden las células M y en una vacuola fagocítica por transcitosis la bacteria atraviesa la barrera epitelial e invade los macrófagos, la proteína IpaB lisa la vacuola en el citoplasma e induce apoptosis, finalmente es liberada. Posteriormente ingresa a las células intestinales mediante el reconocimiento de los receptores CD y alfa5beta1 integrina gracias a ipaB y al complejo IpaBCD bacteriano. Después de la multiplicación en el citoplasma, se libera del fagosoma mediante ipgD y se desplaza lateralmente entre una y otra célula. Para ello VirG, localizada al extremo de ECEI, promueve la aproximación de N-WASP y por medio de la

polimerización de actina, se forma el complejo VirG-N-WASP-actina. Mientras que VirA localizada al otro extremo de la bacteria, favorece la generación de protuberancias y permite el traspaso a las células proximales. En el proceso, la liberación de IL8 en los enterocitos infectados promueve la migración de polimorfonucleares, los que adicionalmente facilitan la entrada, vía luminal, de la bacteria al epitelio. (33)

Manifestaciones clínicas

Las manifestaciones clínicas características en personas infectadas por ECEI, son de un cuadro de disentería similar al que produce *Shigella spp*, con diarrea acuosa, con sangre y moco, dolor abdominal tipo cólico. Se han observados algunos casos donde sólo presentan diarrea, ésta en ocasiones es indiferenciable de la que produce ECET. (33)

Epidemiología

Se asocia a brotes relacionados con la ingestión de alimentos contaminados y más esporádicamente ser causa de cuadros aislados de diarrea. El modo más probable de su transmisión es el de persona a persona. Afecta a escolares, adolescentes y adultos, y en menor proporción a lactantes. Su distribución es mundial, con reporte de brote o casos aislados en países de diferentes continentes. La dosis infectante que se requiere es relativamente alta; se requiere una dosis de 10^8 de bacterias a nivel experimental para producir enfermedad en humanos voluntarios. Se considera que en los países desarrollados la incidencia es baja, pero con presentación de brotes ocasionales asociados al consumo de alimentos. (33,34)

2.1.5.4 *E. coli* enterohemorrágica ECEH o productora de toxina Shiga (ECST)

Destaca como un patógeno emergente involucrado en cuadros de intoxicaciones alimentarias, causante de diarrea y severas enfermedades en el hombre, como la colitis hemorrágica (CH) y el Síndrome Urémico Hemolítico (SUH). El principal factor de virulencia es la producción de las

verotoxinas (VT1 y VT2) que se encuentran codificadas en fagos temperados y son responsables de muchas de las características patológicas y las complicaciones severas que se presenta como consecuencia de la infección por esta bacteria, resaltando el SHU como la principal causa de insuficiencia renal aguda y la segunda causa de insuficiencia renal crónica en edades pediátricas. (35)

Factores de virulencia y patogenia

De acuerdo a los conocimientos actuales el proceso patológico comienza con la adherencia al enterocito por la fimbria, seguida de adherencia íntima y lesión de la pared del enterocito por producción de la proteína intimina codificada por el gen *eae* y posterior liberación de verotoxina. Este mecanismo es similar al presentado por ECEP y comienza con la lesión celular Adherencia y Esfacelamiento A/E, en el mismo participan tanto genes cromosomales como plasmídicos que inducen y regulan la expresión de factores de virulencia de la bacteria. (35)

La producción de toxina Shiga 1 (Stx1), es básicamente igual a la producida por *Shigella dysenteriae*, mientras Shiga 2 (Stx-2) muestra una homología del 60%. Estas toxinas constituyen el principal factor de virulencia y son responsables de las complicaciones intestinales y sistémicas. Los genes que codifican la producción de estas toxinas se encuentran en un bacteriófago lisogénico, su producción y liberación depende de que el fago active su ciclo lítico, esta inducción puede ocurrir luego del daño del ADN bacteriano ya sea por agentes tóxicos o antimicrobianos. (35)

Manifestaciones clínicas

El cuadro clínico resultante tras la infección causa dolor abdominal, diarrea sanguinolenta y poca fiebre. La infección se puede presentar como casos esporádicos o brotes de diarrea, colitis y SUH y ocasionalmente lesiones en el sistema nervioso central. STEC O157:H7 es el principal agente etiológico del SUH, el mismo se produce entre el 5 y 10 % de los casos,

aproximadamente, es una de las principales causas de daño renal en niños y se caracteriza por la presencia de anemia hemolítica microangiopática, insuficiencia renal aguda y trombocitopenia (35, 36)

Epidemiología

La Organización mundial de sanidad Animal considera la ECST como una zoonosis de origen alimentario que aparece como brotes epidémicos con una gran explosividad en su presentación, sobre todo en países desarrollados, por esta razón es el patotipo de *E. coli* que más atención se le presta en el denominado primer mundo, debido a la asociación con el SUH. El principal reservorio son los rumiantes, no obstante, el ganado vacuno suele ser la fuente más importante de infecciones humanas. La materia fecal de estos animales puede contaminar la carne durante el sacrificio en el matadero, puede ser arrastrada a ríos y lagos o fuentes de agua de consumo, o depositarse en frutas y verduras por el uso de abonos orgánicos o por el uso del agua de riego contaminada (36)

Los padecimientos CH, SUH y púrpura trombocitopénica se han observado con mayor frecuencia en países con climas templados como los Estados Unidos, Canadá y en Argentina se reportó una incidencia de 12 a 14 casos por cada 100 000 en niños menores de cinco años. Los serotipos más comunes encontrados son: O26, O111, O121, O145 y particularmente O157:H7, en todo el mundo se reportaron brotes causados por este serotipo. (36, 37,38)

2.1.5.5 *E. coli* enteroagregativa (ECEAgg)

En 1987 describen por primera vez a ECEAgg como un patógeno emergente y genéticamente heterogéneo, actualmente se le considera a este patotipo como un problema de salud pública a nivel mundial. Se les asocia a casos de diarrea aguda o persistente en niños y adultos a nivel mundial. Causante de diarrea acuosa en infantes y niños de países desarrollados, relacionado con retardo del desarrollo en este grupo etario. El nombre de este patotipo

deriva de la forma de adherencia que presentan en células Hep-2 en cultivo.

De todos los patotipos ECEAgg es la más difícil de identificar debido a su heterogeneidad como grupo, el método estándar de oro es la caracterización de su patrón de adherencia agregativa característico, este procedimiento es engorroso y complejo, lo que dificulta su implementación por lo tanto el diagnóstico de esta entidad se realiza mediante técnicas moleculares, que permite la detección rápida de del grupo heterogéneo de genes de virulencia presentes en el aislamiento. (39)

Factores de virulencia y patogenicidad

Para este patotipo se consideran tres etapas en la patogenia de la infección:

1) Adherencia a la mucosa intestinal mediante fimbrias de adherencia agregativa u otros factores: presenta plásmido pAA, codifican varios factores de virulencia en los que se incluyen un regulador AggR, el que se encuentra en la mayoría de las cepas. Algunos genes regulados por AggR son los factores necesarios para la expresión del patrón AA (AA: *aggregative-adherence*) que implica las fimbrias AAF con variantes.

2) Producción de Enterotoxinas: presenta la enterotoxina 1 (EAST1: *enteroaggregative E. coli heat-stable enterotoxin*), que altera el transporte de iones e induce aumento del GMPc y una variedad de SPATEs citotóxicos y no citotóxicos. Dentro de los SPATEs se encuentra la proteasa involucrada en la colonización intestinal (del inglés, Pic: *protease involved in intestinal colonization*) y la toxina en plásmido (Pet: *plamid-encoded toxin*). Pic es una proteasa que incrementa el número de células caliciformes y la producción de moco que atrapa a las bacterias auto aglutinándolas en el epitelio intestinal. Pet es una SPATE citotóxica que se une a la espectrina en la membrana del complejo de Golgi, bloquea su función y causa el redondeamiento de la célula. (39)

Manifestaciones clínicas

La infección intestinal producida por ECEAgg se caracteriza por una diarrea

secretora acuosa con moco, con o sin sangre y dolor abdominal, vómito y fiebre baja. En un número considerado de pacientes se presenta lactoferrina fecal detectable (indicador sensitivo de leucocitos fecales) y niveles elevados de IL-8 en las heces. La proteína Pet tiene efecto estimulante sobre macrófagos e induce en estos, la expresión de interleucinas proinflamatorias. Lo que sugiere que la infección puede estar acompañada de una forma sutil de inflamación de la mucosa. (39)

Epidemiología

El principal reservorio es el hombre, aunque algunas cepas han sido identificadas a partir del cerdo y bovinos. Las vías de transmisión son, principalmente, el agua y los alimentos contaminados, aunque las manos también pueden ser vía de transmisión, sobre todo para los recién nacidos. Afecta a niños menores de dos años. Se ha descrito como el principal agente entérico en paciente con Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida (SIDA) en África, siendo el responsable de hasta el 40% de la diarrea aguda y hasta el 80% de la diarrea persistente en pacientes con VIH. Además, se reporta como la segunda causa de diarrea del viajero y alta tasa de excreción en pacientes asintomáticos. La amenaza a la salud pública por ECEAgg, hace importante identificar los reservorios animales a partir de los cuales se podrían originar epidemias o brotes en humanos. (39,40)

2.1.5.6 *E. coli* Adherente Difusa (ECDA)

Sus cepas expresan adhesinas afimbriales (Afa) y adhesinas fimbriales. Las mismas se encuentran en la superficie de la membrana externa de la bacteria, confiriendo el principal mecanismo de patogenicidad. Se subdividen en dos clases, la típica (Afa/Dr ECEA) y la atípica (Afa/Dr ECDA) que tienen características comunes, misma organización genética y la unión al factor de aceleración (hDAF: human decay Accelerating factor). (41)

Factores de virulencia y patogenicidad

Características observadas en la patogénesis de ECAD:

- ✓ Unión mediante adhesinas a la mucosa intestinal.

- ✓ Formación de colonias típicas en forma de ladrillos apilados.
- ✓ La producción de citotoxinas y enterotoxinas.
- ✓ Inflamación grave de la mucosa.

Las adhesinas se encuentran en la superficie de la membrana externa de la bacteria, confiriendo el principal mecanismo de patogenicidad. En la típica se encuentran AfaE-I, AfaE-II, AfaEIII, AfaE-V, Dr, Er-II, F1845 y NFA-I, las cuales son codificadas por los genes *afa*, *dra*, *daa*.

La glicoproteína hDaf, se encuentra distribuida en todas las células de la sangre, en el epitelio del intestino, trato genitourinario y células endoteliales. Su función es regular la cascada del complemento en el paso de la convertasa C3 de gran importancia en la interacción entre el patógeno y las células del hospedero para favorecer la infección. (41)

Se describen dos adhesinas principales de ECAD que permiten la adherencia al enterocito. Adhesina fimbrial 1845 (F1845) y la adhesina involucrada en la adherencia difusa (AIDA-I: *adhesin involved in diffuse adherence*). La F1845 tiene como receptor hDAF, al originarse esta unión ocurre un alargamiento de las microvellosidades. Mientras la adhesina AIDA-I se une a los receptores de membrana del enterocito hDAF o CEACAM6 se produce la activación de la quinasa Src, necesaria para la movilización y organización de hDAF alrededor de las bacterias. Se induce elongación, daño de las microvellosidades y reordenamiento de las proteínas en el citoesqueleto, lo que genera aumento de la permeabilidad del enterocito. Después de la asociación Afa/Dr, se activa la MAP quinasa e inducen la producción de IL8 con la consecuente migración transepitelial de polimorfonucleares, lo que favorece el daño de los enterocitos por la síntesis de citoquinas proinflamatorias como FNT-alfa e IL-1beta (41)

2.2 Resistencia antimicrobiana.

La resistencia bacteriana, representa un importante problema de salud en el momento actual, constituye uno de los problemas más importantes a nivel

mundial, entendiéndose por resistencia al fenómeno a través del cual una población microbiana que era sensible a un tratamiento, termina por no ser susceptible. (42)

La susceptibilidad de las bacterias a los diferentes grupos de antimicrobianos puede ser evaluada en la actualidad. Se dispone de varios métodos para determinar el patrón fenotípico de susceptibilidad de una bacteria a los antibióticos, constituyendo un instrumento valioso para la terapia con antibióticos, así como una herramienta epidemiológica importante para el control de microorganismos resistentes. (42,43)

La OMS recomienda para las pruebas de sensibilidad a los antimicrobianos, aplicar las técnicas de difusión en disco, el análisis semiautomático o manual de la concentración inhibitoria mínima o la difusión de gradiente recomendadas por las normas del Clinical and Laboratory Institute Standards (CLSI, por sus siglas en inglés) o el EUCAST (comité europeo de pruebas de sensibilidad a los antimicrobianos). La técnica más común empleada por la mayoría de los laboratorios de diagnóstico es la prueba de difusión en agar simple (método de Kirby-Bauer), donde el microorganismo bajo investigación es inoculado en una placa de agar y se expone a un gradiente de difusión del antibiótico impregnado en un disco de papel de filtro, colocado en la superficie del agar. (43)

La información que se obtiene a partir de las pruebas de susceptibilidad a los antimicrobianos es fundamental para la vigilancia de los perfiles de sensibilidad y la de nuevos patrones de resistencia por el laboratorio, lo cual permite optimizar la terapia antimicrobiana permitiendo al clínico seleccionar la droga con mayor sensibilidad para el paciente y con las características farmacocinéticas más apropiadas. (43)

Desde el punto de vista clínico, se considera que una cepa bacteriana es sensible (S) a un antibiótico, cuando la infección causada por el microorganismo aislado puede ser tratada apropiadamente con el antibiótico

a la dosis recomendada, de acuerdo a la gravedad de la infección. Sin embargo, para la prescripción definitiva del medicamento se tendrán en cuenta algunos factores tales como: biodisponibilidad del antibiótico en el tejido o sistema afectado, presentación del medicamento, edad del paciente condiciones patológicas subyacentes entre otras.

Se consideran resistentes (R) cuando la bacteria aislada no es inhibida por el antibiótico a las concentraciones terapéuticas ideales o la bacteria ha generado mecanismos de resistencia que evaden la actividad del antibiótico, por lo tanto, la eficacia clínica no es confiable.

Los intermedios (I), indica que el antibiótico tiene aplicabilidad clínica en sitios corporales donde el antibiótico alcance concentraciones terapéuticas adecuadas, como es el caso de los Betalactámicos y quinolonas en el tracto urinario. (43)

2.2.1 Antimicrobianos

Se nombran antimicrobianos a los medicamentos que combaten las infecciones causadas por las bacterias, son compuestos de bajo peso molecular, los cuales son producidos naturalmente a partir del cultivo de varias especies de microorganismos (actinomices, bacterias y hongos), los mismos suprimen el crecimiento de otros microorganismos y eventualmente pueden destruirlos. (44)

2.2.2 Resistencia antimicrobiana en *E. coli*

E. coli presenta resistencia intrínseca a los antibióticos, principalmente a los betalactámicos, lo cual está relacionado con su uso masivo e indiscriminado de los diferentes compuestos antimicrobianos, lo que desencadena un proceso de selección que favorece la creación, adaptación y diseminación de mecanismos de resistencia antimicrobianos. Hasta finales de los años 70 y principio de los 80 su característica era un patrón uniforme de sensibilidad; sin embargo, la errónea utilización de los antibióticos ha provocado un aumento de la resistencia en el mundo. (44,45)

El aumento de la resistencia de esta especie a los principales antibióticos de manejo clínico para el tratamiento de infecciones causadas por las cepas patógenas de *E. coli* como la ampicilina (AMP), tetraciclina (T), trimetoprim-sulfametoxazol (TMP-SMX), ciprofloxacina (CIP) y estreptomicina se ha reportado tanto en cepas de origen humano, animal y las aisladas del ambiente, lo que presume grandes inconvenientes en el tratamiento cuando este es requerido. Este aumento de la resistencia a los antimicrobianos se debe principalmente a mecanismos moleculares, tales como mutaciones puntuales a nivel cromosómico o transferencia horizontal de genes a través de elementos móviles. *E. coli* posee diversos mecanismos de defensa a través de la acción de enzimas como las Betalactamasa, mutaciones en el ADN, inactivación enzimática y la expresión de bombas de expulsión activa que bombean al antimicrobiano al exterior de la célula. (45)

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Diseño de estudio:

Se realizó un estudio observacional, de carácter retrospectivo y de corte transversal de los aislados recibidos en el laboratorio nacional de referencia de enfermedades diarreicas agudas del Instituto de Medicina Tropical “Pedro Kourí” (LNR/EDA/IPK) en el período comprendido de enero de 2019 a marzo de 2020. Se estudiaron 327 aislamientos con diagnóstico presuntivo de *E. coli* recuperados de igual número de pacientes con EDA y que procedían de los 15 Centros Provinciales de Higiene, Epidemiología y Microbiología (CPHEM) del país y el municipio especial Isla de la Juventud.

3.2 Universo y muestra:

Universo: estuvo conformado por todos los aislados (n=327) con identificación presuntiva de ECD de pacientes con procesos diarreicos agudos, procedentes de 14 Centros Provinciales de Higiene, Epidemiología y Microbiología (CPHEM) y el Municipio Especial Isla de la Juventud tributados al LNR/EDA/IPK, en el período de enero del 2019 a marzo del 2020.

Muestra: conformada por 302 aislamientos viables y no contaminados para los que se confirmó la identificación como *E. coli* y estuvieron disponibles los datos sociodemográficos.

- **Criterios de inclusión:** Aislados viables y no contaminados para los que se confirmó la identificación como *E. coli* y estuvieron disponibles los datos socio-demográficos.
- **Criterios de exclusión:** Que no se correspondiera con el género y la especie de interés, que no fuera viable o estuviera contaminado y que no se acompañara del modelo de recolección de los datos correspondientes.

3.3 Operacionalización de las variables.

Objetivo 1. Describir los patotipos de ECD			
Variable	Clasificación	Escala	Definición
Patotipos ECD	Cualitativa nominal	ECEP ECET ECEH ECEA ECEI ECDA	Según resultados de los marcadores fenotípicos
Sexo	Cualitativa nominal dicotómica	Masculino Femenino	Según sexo biológico
Edad	Cuantitativa continua	< 5 años 5-19 años 20 - 39 años 40 - 59 años ≥ 60 años	Se tendrá en cuenta la edad en años cumplidos.
Lugar de procedencia	Cualitativa nominal	Región Occidental Región Central Región Oriental	Lugar donde viven una o determinadas personas.

Objetivo 2. Determinar los fenotipos de resistencia y de multirresistencia			
Variable	Clasificación	Escala	Definición
RAM	Cualitativa nominal	Sensible Intermedio Resistente	Descrito en control semántico.
MDR	Cualitativa nominal	Resistencia antimicrobiana(MDR)	Descrito en control semántico.

3.4. Control semántico.

Conceptos utilizados en esta investigación.

Categorías clínicas de pruebas de susceptibilidad: traducción de la respuesta *in vitro* de un microorganismo a uno o varios antimicrobianos, como factor predictivo de eficacia clínica. (Según criterios del CLSI)

Escala de clasificación:

- **Sensible (S):** Cuando un aislamiento bacteriano se inhibe *in vitro* por una concentración del antimicrobiano que se asocia a una alta probabilidad con el éxito terapéutico
- **Intermedio (I):** Cuando un aislamiento bacteriano se inhibe *in vitro* por una concentración de un antimicrobiano que se asocia a un efecto terapéutico incierto.
- **Resistentes (R):** Cuando un aislamiento bacteriano se inhibe *in vitro* por una concentración del antimicrobiano que se asocia a una alta probabilidad de fracaso terapéutico.

Resistencia antimicrobiana:

- MDR: Múltiple Drug-Resistance: se define como la ausencia de sensibilidad, al menos, a un fármaco en tres o más de las clases de antibióticos.

3.5 Técnicas y procedimientos de laboratorio.

Se le dió salida al objetivo número 1 a través del flujograma de identificación fenotípica y el uso de pruebas marcadores fenotípicos recogidos en las normas y procedimientos de calidad del laboratorio de EDA. Mientras que para el objetivo número dos se empleó el método de difusión en disco (*Kirby-Bauer*) siguiendo lo estipulado en las normas del CLSI, del 2022.

3.5.1 Características fenotípicas de *E. coli*.

3.5.1.1 Identificación por métodos convencionales

Los aislados recibidos se procesaron e identificaron por los procedimientos del manual de operación PNO-A-36-01 del LNR-EDA-IPK, las pruebas

bioquímicas y criterios de interpretación, según lo propuesto por MacFadding. Los aislados en medios de conservación para enterobacterias, fueron sembrados en medio líquido, Caldo Cerebro-Corazón (CCC, BioCen, Cuba) e incubados durante 18-24 horas a 37 °C. Ulteriormente se inocularon en medios selectivos y diferenciales, agar MacConkey (AMC, Biolife). Luego se realizó la elección de 3 a 5 colonias rosadas, brillantes, de bordes lisos y convexas, típicas fermentadoras de lactosa, y colonias translúcidas que indican la no fermentación de la lactosa. Las colonias seleccionadas se inocularon por punción en medios diferenciales primarios, agar Hierro y dos azúcares de Kligler (AHK, BioCen, Cuba) y agar Hierro y Lisina (AHL, BioCen, Cuba), se incubaron durante 24 horas a 37 °C para su ulterior lectura, interpretación y registro de los resultados.

Una vez visualizada la imagen compatible con *E. coli* en AHK y el AHL según procedimientos propuestos por MacFadding et al., 2003, se realizó la prueba de oxidasa utilizando tiras de Oxidase test strips (Biolife, Italia). Aquellos que resultaron ser oxidasa negativa se les efectuó la identificación bioquímica por medio de una serie de pruebas o fermentos bioquímicos: utilización de citrato como única fuente de carbono (agar citrato de Simons) (BioCen, Cuba), hidrólisis de la urea (medio base de urea) (BioCen, Cuba), motilidad (medio motilidad) (BioCen, Cuba) y producción de indol (medio Indol) (BioCen, Cuba).

Para el pesquijaje de los patotipos presentes en el estudio se utilizaron los marcadores fenotípicos de sorbitol y sorbosa en todos los aislados del estudio. Partiendo del medio de Kligler se tomó una asada y se inoculó en tubos que contenían 3ml de los medios, ambos fueron incubados a 37 °C durante 18-24h para su ulterior lectura, interpretación y registro de los resultados. Es válido aclarar que la identificación por los métodos convencionales utilizados en la presente investigación no permite realizar el diagnóstico de todos los patotipos de ECD.

3.6 Susceptibilidad antimicrobiana

3.6.1 Pruebas de susceptibilidad de ECD

Para dar salida al segundo objetivo se analizaron los diferentes fenotipos de susceptibilidad de todos los aislamientos de ECD (302), la evaluación de la resistencia bacteriana a los compuestos antimicrobianos se realizó mediante la técnica de Kirby-Bauer normalizada por el CLSI. En las pruebas se usaron once compuestos antimicrobianos (46)

Para la validez de los resultados se utilizaron las cepas control *E. coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 *Escherichia coli* ATCC 25922 *Escherichia coli* ATCC 35218 *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 garantizando que los parámetros estén dentro de los rangos establecidos (verificar la carga de los discos de antibióticos). El medio que se utilizó para la obtención de colonias aisladas y la posterior realización del estudio de antibiograma fue el agar Mueller-Hinton (Biolife, Italia). Se evaluaron once antimicrobianos, drogas recomendadas por el CLSI y otras que son utilizadas frecuentemente en el tratamiento empírico de infecciones por ECD en las instituciones de asistencia en nuestro país. Los discos de antibióticos evaluados provienen de la casa comercial CPMsas SCIENTIFIC, Italia. La familia a la que pertenece cada antibiótico, las concentraciones o potencia en el disco y sus respectivos puntos de corte para definir las categorías de: Sensible (S), Intermedio (I) y Resistente (R) se enlistaron en una tabla (ver anexo 1). (46)

Para determinar la susceptibilidad antimicrobiana, se transfirió una asada a tubos con caldo de Muller-Hinton, se incubaron en aerobiosis a 37°C durante 24h, luego se transfirió una asada a placas de Muller-Hinton (Biolife, Italia) procurando obtener colonias aisladas, estas placas se incubaron a 37°C de 18 a 24h. El inóculo se preparó obteniendo una suspensión con 3 a 4 colonias en tubos con 3mL de caldo Mueller-Hinton, hasta obtener una turbidez correspondiente al testigo 5 de la escala de Macfarlán. Las placas de agar Mueller-Hinton, se inocularon estriando la superficie del medio con

un hisopo embebido en el inóculo, en tres direcciones, para garantizar una siembra uniforme y obtener un crecimiento confluyente, dejar secar la superficie de la placa durante 15 min, luego con pinza estéril se situaron de manera aséptica los discos seleccionados, presionándolos suavemente sobre la superficie del agar. Consecutivamente se incubaron a 37°C en condiciones de aerobiosis de 16-18 horas. La lectura se realizó midiendo con Pie de Rey los halos de inhibición para cada antibiótico.

La interpretación de los resultados para otorgar las diferentes categorías de Susceptibilidad (Sensible, Intermedio o Resistente), se realizó teniendo en cuenta los valores de los puntos de corte establecidos por el método de difusión por disco para *Enterobacterias*, estipuladas en las normas CLSI de 2022 para cada antimicrobiano evaluado.

3.6.2 Definición de los patrones de multirresistencia

Los patrones de multirresistencia para todos los aislados de ECD que mostraron fenotipos de multirresistentes, se definieron según el siguiente criterio:

Multirresistencia antimicrobiana: se consideraron multirresistentes aquellos patotipos de ECD que presentaron resistencia a tres o más antimicrobianos de diferentes familias.

3.7 Análisis estadístico.

La información registrada en los formatos de extracción de datos se consolidó en una base de datos en Excel® 2016. Se utilizaron medidas de estadística descriptiva como la frecuencia y el porcentaje para el análisis y la presentación de los resultados, haciendo uso del software IBM SPSS Statistics 21.

3.8 Aspectos éticos.

En la realización del estudio se prestó atención al cumplimiento de las medidas y normas de bioseguridad establecidas para el trabajo y

manipulación de aislados y muestras según los niveles de riesgo biológico que establece la Comisión Nacional de Seguridad Biológica en su Resolución 38/2006. Los resultados y datos de los pacientes fueron archivados con carácter confidencial. Para esta investigación no se demanda de consentimiento informado, la confirmación de patotipos y determinación de resistencia ya está incluida en el algoritmo confirmatorio de ECD en Cuba. Todos los participantes en el estudio recibieron el diagnóstico microbiológico y los resultados del estudio de susceptibilidad antimicrobiana del agente etiológico responsable del proceso diarreico agudo. El estudio fue revisado y aprobado por el Comité de Ética del IPK. Código: CEI-IPK 28-22.

La investigación forma parte de las tareas del proyecto asociado a programa del Ministerio de salud pública con título: "Influencia de la variabilidad climática en las enfermedades de transmisión digestiva en población pediátrica." Cuba, 2021-2022. (Código 1901070) aprobado por la Comisión Científica Especializada de Microbiología y el Comité de Ética de la Investigación del IPK (CEI-IPK 2105001).

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Aislamiento clínico

ECD se considera una causa importante de diarreas en niños y constituye un riesgo potencial para la salud de los menores de 5 años y adultos inmunodeprimidos sobre todo en países en vía de desarrollo, estos causan cuadros diarreicos agudos y persistentes que pueden poner en riesgo la vida del paciente. En el presente estudio se identificaron y precisaron los patotipos de ECD procedentes de los quince CPHEM y del municipio especial Isla de la Juventud.

En el período de estudio fueron recibidas en el LNR/EDA/IPK 327 aislamientos provenientes de las diferentes regiones del país, con diagnóstico presuntivo de ECD, 302 resultaron útiles al estudio (92,3%) y como no útiles 25 (7,6%): quedando excluidos del estudio 12 (3,6%) aislados que resultaron contaminados y 13 (3,9%) no viables. Los aislamientos identificados mediante métodos y marcadores fenotípicos resultaron pertenecer al género y especie *E. coli*, conformando la muestra del estudio. Estos resultados se muestran en Grafico 1.

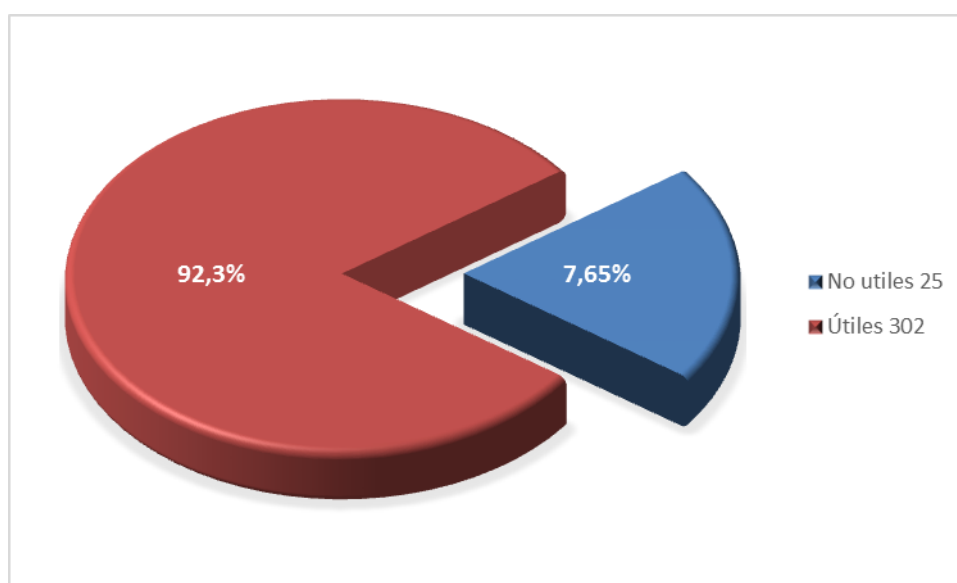


Figura 1. Distribución de los aislados de *E. coli* diarrogénicos que resultaron útiles y no útiles en el presente estudio, enero 2019 a marzo 2020.

De los aislamientos que resultaron útiles para el estudio, 263 (87%) coincidieron con el diagnóstico presuntivo realizado en su lugar de procedencia, sin embargo, en 39 (12,9%) de los aislados, se determinó un nuevo diagnóstico.

En relación con los aislamientos no viables el autor considera que perdieron la capacidad de reproducirse, condicionado tal vez por la exposición a varios factores externos, por ejemplo: la demora en el envío desde las provincias, la calidad de los medios de transporte, la hermeticidad de los tubos contenedores en la que se transportan los aislamientos y otras condiciones de transportación que pueden favorecer la desecación por exposición a un ambiente no apropiado.

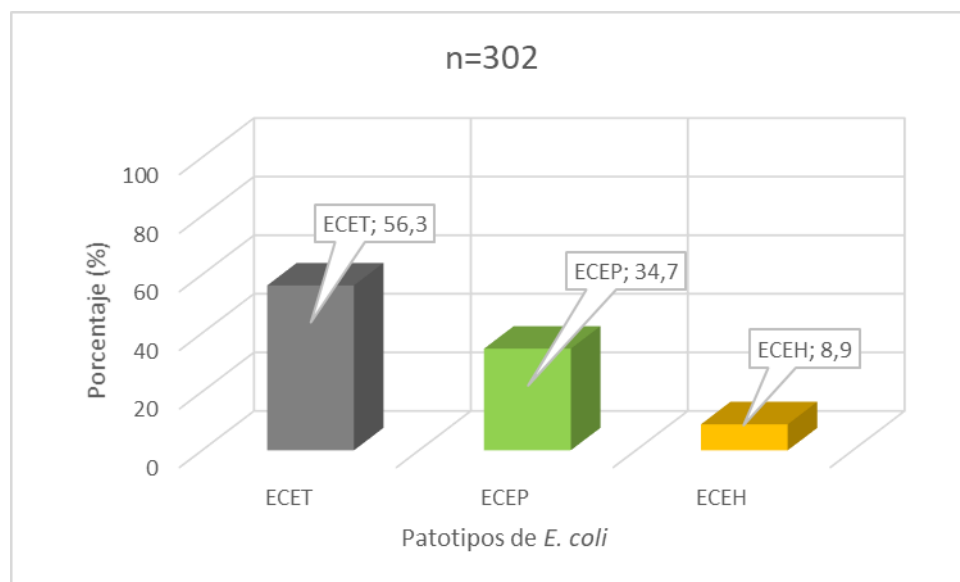
En el presente estudio, el porcentaje de aislamientos útiles (92,3%) fue mayor en comparación con los resultados reportados por Salina, (2017) Cuba (89,89%) en un estudio realizado en el LNR/EDA/IPK. Los altos porcentajes de aislamientos útiles pueden estar dados a la normalización de las buenas prácticas de laboratorio implementadas en todos los laboratorios del país y a la continua labor de capacitación dirigida al personal de laboratorio que realiza el LNR/EDA/IPK con el propósito de elevar su desempeño profesional. (47).

4.2 Frecuencia y distribución de patotipos de ECD identificados.

De los 302 aislados de ECD estudiados 187 (61,9%) procedían de la región central del país, la mayoría fue recibida en los dos primeros y el quinto trimestre del estudio, destacándose las provincias de Ciego de Ávila y Villa Clara como las que más tributan dentro de esta región. Cabe señalar que la provincia de Sancti Spíritus no tributó ningún aislado durante el periodo de estudio. La región oriental fue la segunda que más tributó con 75 (24,8%), la mayoría de los aislados de esta región se recibieron en el quinto trimestre del estudio, y la provincia que más aportó fue Holguín. Finalmente, la región Occidental fue la que menos tributó con sólo 40 (13,2%) aislados, la mayoría de los mismos se recibieron durante los dos primeros trimestres, la provincia

que más aportó de esta región fue Matanzas. En resumen, la mayoría de los aislados se recibieron en el quinto trimestre del estudio y la región que más tributó fue la central, destacándose las provincias de Ciego de Ávila y Villa Clara. Estos resultados se muestran en la tabla 1. (Ver anexo 3)

La distribución de patotipos encontrados, en este estudio fue la siguiente: ECET 170 (56,3%), seguida de ECEP 105 (34,8%) y ECEH 27 (8,9 %). La distribución y frecuencia de los patotipos, son similares en cuanto a patotipo predominante, según sugiere la revisión sistemática de la literatura donde se reporta a ECET como el patotipo más frecuente, con una incidencia de 30,4% de los casos de diarrea. Este resultado puede estar en relación con el hecho de que este patotipo afecta fundamentalmente a niños menores de cinco años y precisamente este grupo etario es el de mayor representación en nuestro estudio (n=183), donde la mayoría de los aislados recibidos pertenecieron a la región central del país, donde las provincias que más aportaron fueron Ciego de Ávila y Villa Clara. Estos resultados se muestran en la figura 2 y tabla 2 (ver anexo 4)



Legenda : *E. coli* enteropatógena (ECEP), *E. coli* enterotoxigénica (ECET), *E. coli* enterohemorrágica (ECEH) .

Figura 2. Frecuencia de patotipos de *E. coli* diarrogénicos estudiados en el LNR/EDA/IPK, enero 2019 a marzo 2020.

Otros estudios reportan valores de infección más elevados, las diferencias

de frecuencia podrían deberse a diferentes factores como la población estudiada, el diseño de estudio o los métodos de diagnóstico utilizados. Los resultados del actual estudio difieren de los encontrados por Roque, 2017 en Perú donde estudió a niños menores de cinco años que ingresaron en un hospital pediátrico de Lima, por presentar heces diarreicas, determinó 71,4% de aislados de ECD, de los cuales 72% fueron del tipo ECEP y 28% correspondían a ECEH. La diferencia entre los estudios pudiera estar relacionada al hecho de que en nuestro estudio se incluye población general y del Roque sólo población pediátrica. (48)

Los resultados de la presente investigación también difieren de los encontrados por Giugno, 2010 en Argentina en un estudio realizado en población pediátrica en menores de 15 años, donde se encontró como patotipo predominante a ECEP con un porcentaje superior a 80% y donde no se reportó incidencia de ECET. La diferencia entre los estudios puede estar en relación con el hecho que el actual estudio incluye población general mientras el estudio de Giugno sólo a población pediátrica y un tamaño de muestra mayor. (49)

Además, los resultados del actual estudio difieren del realizado por Konaté *et al.*, 2017, en Burkina Faso donde la mayor frecuencia fue para los patotipos: ECEAgg (48,4%), ECEP (25,8%) y EAEI (12,9%), en contraste encontró un menor porcentaje de ECET (3,2). La diferencia entre ambos estudios puede estar en relación con la población estudiada, el área geográfica y los métodos diagnósticos utilizados. (50)

Los resultados obtenidos en la presente investigación difieren con lo reportado por Raghavan *et al.*, 2017 en la India, donde se observó el siguiente resultado ECEAgg (70,1%), ECEP (19,6%) y ECET (10,3%), el estudio actual determinó a ECET como patotipo predominante, lo que difiere del estudio de Raghavan, donde este patotipo alcanzó un menor porcentaje. También en la india el estudio realizado por Verma *et al.*, 2019 en un

hospital pediátrico estudió a niños que acudieron con cuadros diarreicos agudos, donde identificó a ECD en un porcentaje 29% de los casos que acudieron por diarreas, un 65,5% de ellas fueron ECEP. En este caso también la diferencia puede estar en relación con la población estudiada, el área geográfica y los métodos diagnósticos utilizados (51,52)

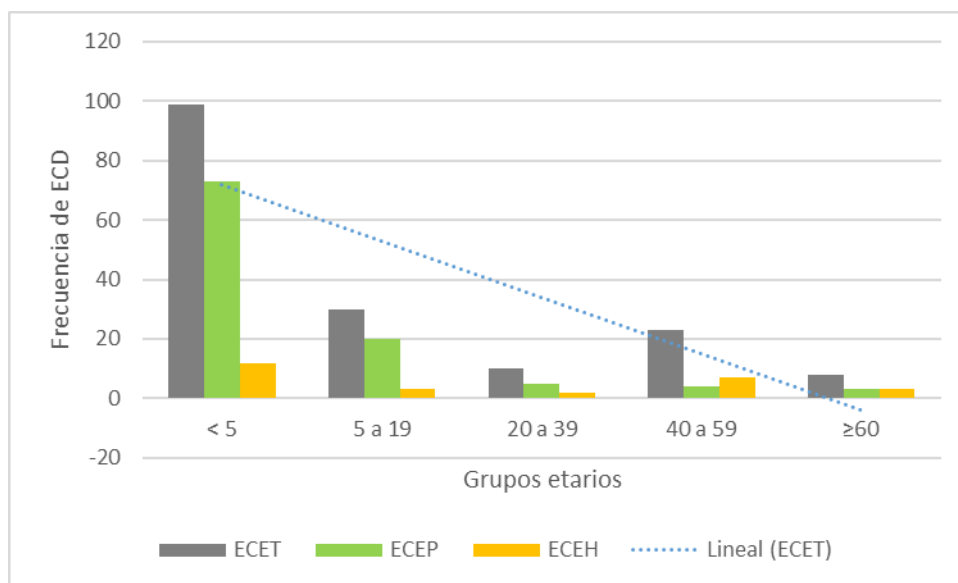
De igual modo nuestros resultados difieren de los encontrados por Zil-e-Huma *et al.*, 2019 en Pakistán, donde se determinó a ECEAgg como la de mayor frecuencia (35%), secundada por ECEP (35%) y ECEH con el (8%), además ECET se identificó un 11% de casos de coinfección. La diferencia entre los estudios pudiera estar en relación con el hecho que el estudio actual incluye a población general y el estudio realizado por Zil-e-Huma estudió solamente a niños menores de cinco años que acudieron con diarrea al hospital pediátrico de Quetta en un periodo de siete meses, lo que puede estar determinando la diferencia entre los estudios. (53)

Finalmente, los resultados observados en el estudio actual son similares a los encontrados en un meta-análisis realizado por Alizade *et al.* 2018 en Irán, donde se incluyeron 73 estudios con 18 068 aislados, se determinó que ECET y ECEP fueron los patotipos de mayor porcentaje presentando un 16% y 11% respectivamente. El estudio incluyó artículos donde se usaron métodos de diagnóstico convencionales y métodos moleculares. (54)

4.3 ECD y su relación con la edad

Por otro lado, al contrastar los patotipos identificados en el presente estudio con los diferentes grupos etarios se encontró que el patotipo predominante en todos los grupos fue ECET, secundado de ECEP y ECEH en ese orden respectivamente. Los tres patotipos se distribuyeron en todos los grupos etarios, siendo ECET el que mostró la mayor frecuencia en todos los grupos, destacándose de manera particular en el grupo etario menores de cinco años. La tendencia de este patotipo predominante fue a descender según aumenta la edad, lo que corrobora lo planteado en la literatura donde se

señala que este patotipo predomina en los menores de cinco años. Así mismo, sucede con el patotipo ECEP donde también se observó una tendencia a disminuir según aumenta la edad. En el caso de ECEH la distribución fue más homogénea, pero la mayor frecuencia también se observó en el grupo etario menores de cinco años. Estos resultados se muestran en el Gráfico 3.



Leyenda : *E. coli* enteropatógena (ECEP), *E. coli* enterotoxigénica (ECET), *E. coli* enterohemorrágica (ECEH) .

Figura 3. Frecuencia de patotipos de *E. coli* diarrogénicos encontrados y su relación con la edad, en el LNR/EDA/IPK, enero 2019 a marzo 2020.

Estos resultados observados en nuestro estudio, son similares al encontrado por Quesada, 2018 en Cuba, donde también determinó una mayor frecuencia de los patotipos de ECD, en el grupo etario menores de 5 años y donde también predominó ECET. (55)

Algo similar ocurre al comparar los resultados obtenidos en el presente estudio con el realizado por Weiler *et al.*, 2017 en Paraguay donde se estudiaron 1 379 muestras recolectadas de pacientes pediátricos y determinó un mayor porcentaje (43%) en el grupo etario de uno a tres años y en segundo lugar los menores de un año (19%), el patotipo con mayor predominio fue ECET con un porcentaje de (34%). La similitud de los resultados de nuestro estudio

con los de Weiler, debe estar relacionado con el hecho de que en el actual estudio predomina la población en edad pediátrica, sobre todo en los menores de cinco años y el estudio de Weiler solamente incluyó a población pediátrica, y como es conocido es en este grupo etario el patotipo que predomina es el ECET. (14)

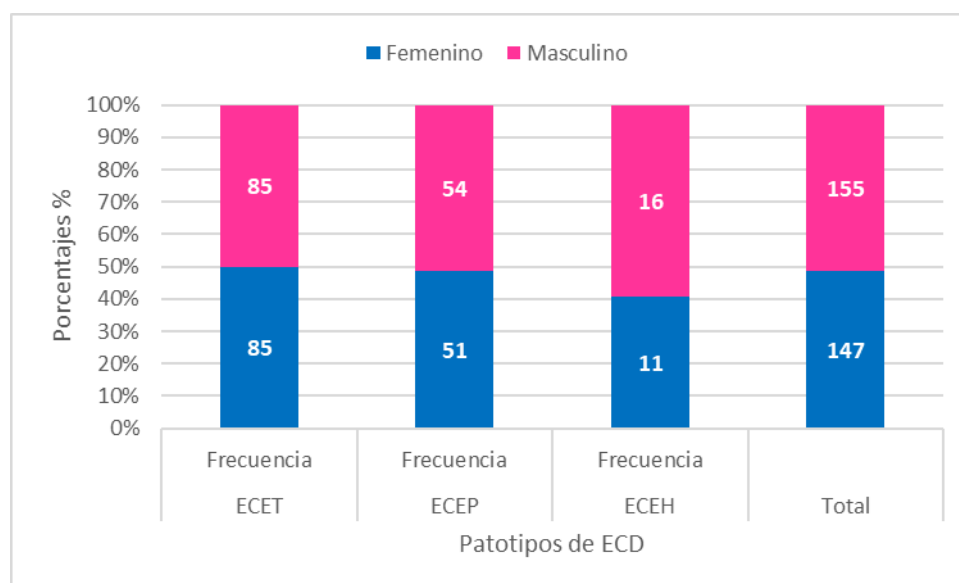
Un estudio realizado por, Cortés *et al.*, 2002 en México estudió 1 550 muestras de hisopos rectales, que fueron recolectadas de los habitantes del Valle de Chaco que presentaron problemas gastrointestinales donde se observó que la infección por *E. coli* alcanzó un mayor porcentaje (76,6%) en niños menores de cinco años, entre el total de 1 188 muestras que resultaron positivas, el patotipo predominante fue ECET(62,2%), sin embargo no se encontró asociación significativa entre la edad y el patotipo de *E. coli* involucrado, no obstante el resultado del presente estudio coincide con el de Cortés *et al.*, en que el grupo etario de mayor porcentaje de infección resultó los menores de cinco años. (56)

El resultado encontrado por la presente investigación difiere de los encontrados por Molina *et al.*, 2021 en La Plata, Argentina en un estudio realizado en la población pediátrica, donde determinó como patotipo predominante a ECEAgg que presentó una frecuencia cercana al 10%. Mientras que los patotipos ECET, ECEP y ECEH se presentaron en menor proporción y sólo en niños menores de 5 años. Las diferencias de los resultados obtenidos en el actual estudio a los publicados por Molina pueden estar relacionadas, con la población estudiada y los métodos diagnósticos utilizados. (57)

4.4 ECD y su relación con el sexo.

En relación con los patotipos encontrados y el género de los pacientes, se determinó que entre ambos sexos no hay diferencia significativa en la proporción del grupo de ECD involucrado. No se obtuvo un predominio de ninguno de los patotipos, los que afectaron tanto a mujeres como hombres con

51,3 y 48,7 % respectivamente. Estos resultados se muestran en la figura número 4.



Leyenda : *E. coli* enteropatógena (ECEP), *E. coli* enterotoxigénica (ECET), *E. coli* enterohemorrágica (ECEH) . *E. coli* diarrogénicos (ECD).

Figura 4. Frecuencia de patotipos de *E. coli* diarrogénicos encontrados y su relación con el sexo, LNR/EDA/IPK, enero 2019 a marzo 2020.

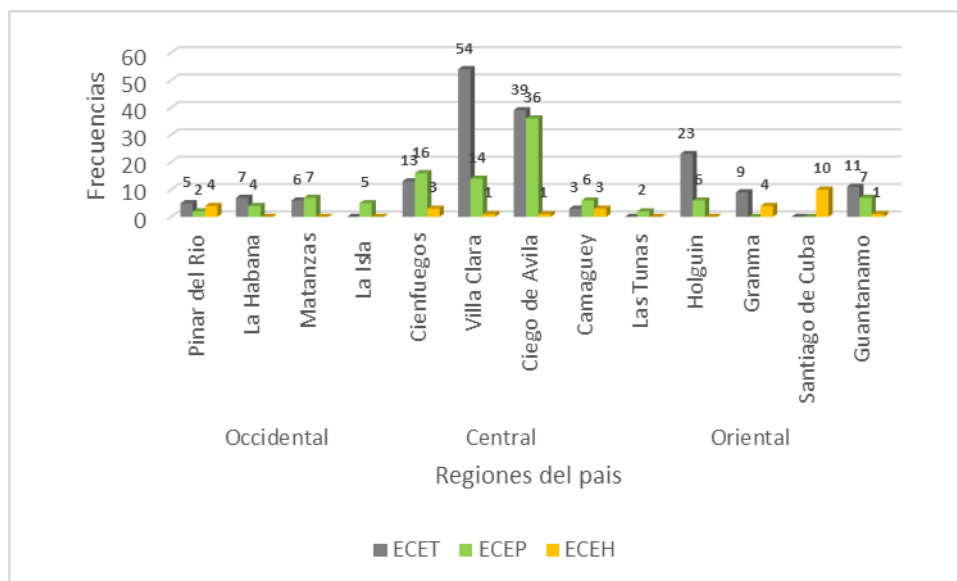
4.5 Patotipos y su distribución espacial.

Al analizar el comportamiento de la incidencia de ECD por las diferentes regiones dentro del período de estudio, se determinó en la región Occidental un comportamiento similar de los patotipos ECET y ECEP, no se observó igual comportamiento en ECEH que solo incidió en la provincia de Pinar del Río. En la Isla de la Juventud sólo se determinó la presencia de ECEP.

En la región Central del país se observó un comportamiento diferente, los tres patotipos incidieron en todas las provincias que integran esta región. El patotipo predominante en la región fue ECET, se destaca la provincia de Ciego de Ávila con el mayor número de aislados, donde el mayor porcentaje lo alcanzó este patotipo. La segunda mayor frecuencia se observó en la provincia de Villa Clara donde también predominó el patotipo ECET. Es preciso aclarar que esta región fue la que más aislados tributó.

Finalmente, el comportamiento de ECD resultó también similar en la región

Oriental del país, donde se determinó una mayor frecuencia para ECET, secundada por ECEP. En el caso de ECEH los casos se concentraron en las provincias de Granma y Santiago de Cuba, en esta última sólo se observó este patotipo. La provincia de Holguín se destacó con el mayor número de aislados tributados dentro de la región, a diferencia de la provincia de Las Tunas que fue la que menos aportó y donde sólo se observó al patotipo ECEP. Estos resultados se muestran en la figura número 5.



Leyenda : *E. coli* enteropatógena (ECEP). *E. coli* enterotoxigénica (ECET). *E. coli* enterohemorrágica (ECEH) .

Figura 5. Frecuencia por regiones de los patotipos *E. coli* diarrogénicos estudiados en el LNR/EDA/IPK, enero 2019 a marzo 2020.

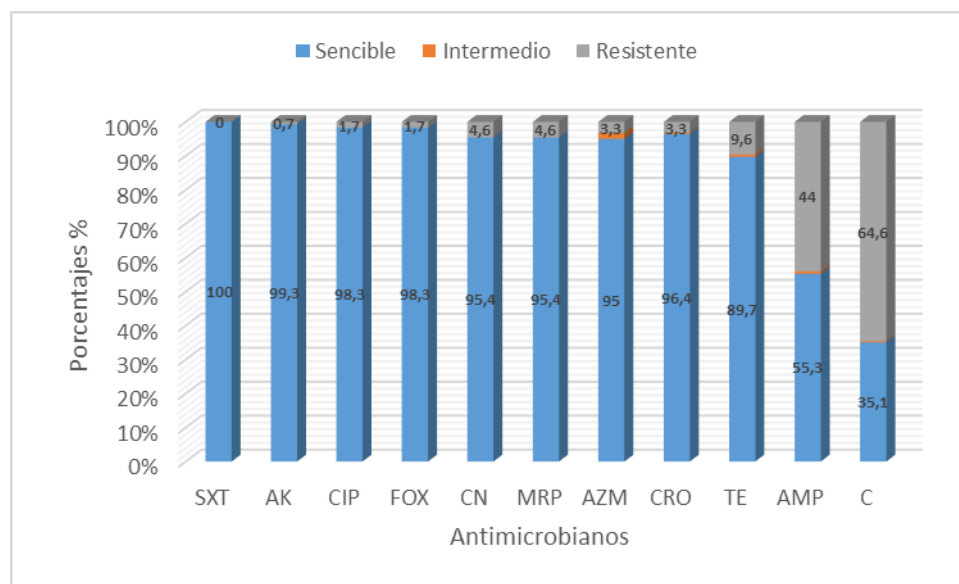
Los resultados encontrados en la presente investigación son similares a los reportados en un estudio realizado por Quesada, 2018 en Cuba donde observó un predominio de ECET en las tres regiones del país y la mayor frecuencia se determinó en la región central. La similitud de estos resultados puede estar dado a que históricamente la región central tributa el mayor número de aislados con diagnóstico presuntivo de ECD, lo que puede estar influyendo en el resultado. (55)

4.6 Resultados de las pruebas de susceptibilidad antimicrobiana.

La susceptibilidad antimicrobiana constituye una herramienta útil para determinar la conducta a seguir ante las infecciones bacterianas, sobre todo

en aquellos casos donde se evidencia una falla en la terapéutica luego de haber establecido un tratamiento empírico, permite al clínico seleccionar la terapia más apropiada para esos casos en particular.

En el actual estudio de la susceptibilidad antimicrobiana en los aislados evaluados (n=302) se determinó que el 100 % (302/302) de las cepas evaluadas mostraron resistencia al menos a uno de los 11 antimicrobianos utilizados. Ningún aislado se mostró resistente a todos los antimicrobianos. Se obtuvieron 18 fenotipos de resistencia, 244 (80,7%) aislamientos fueron resistentes a un antimicrobiano y 18 (5,9%) a dos antimicrobianos. Mientras que los aislamientos resistentes a tres o más antimicrobianos fueron 40 (13,2%). Los resultados de la susceptibilidad a 11 antimicrobianos se exponen en la figura 5.



Leyenda: AMP: ampicilina, CRO: ceftriazona, MRP: meropenem, CN: gentamicina, AK: amikacina, CIP ciprofloxacina, TE: tetraciclina, AZM: azitromicina, STX: trimetoprim-sulfametoxazol, C: cloranfenicol. FOX: cefoxitin.

Figura 5. Susceptibilidad antimicrobiana de las cepas de *E. coli* diarrogénicos evaluados en el presente estudio, enero 2019 a marzo 2020.

En los resultados de la presente investigación se determinó los mayores porcentajes de sensibilidad a los antimicrobianos trimetoprim-sulfametoxazol (100%), amikacina (99,3%), gentamicina (95,4%), ciprofloxacina (98,3%), meropenem (95,4%), azitromicina (95%) y ceftriazona (96,4%). Además, las cepas presentaron mayor resistencia a los antimicrobianos cloranfenicol y

ampicilina, donde se encontró los mayores porcentajes de resistencia con 64,6% y 44% respectivamente, trascendiendo como los únicos antimicrobianos testados con porcentajes de resistencia por encima del 20%. Los niveles de sensibilidad intermedia en el estudio fueron menores al 2%. La resistencia que se observó en el presente estudio puede estar relacionada con la producción de BLEE, este mecanismo destaca entre los desarrollados por las bacterias, además puede estar involucrada la presencia de genes que intervienen en la resistencia a antimicrobianos como es el caso del gen *bla_{CTX-M}*. En la actualidad la mayoría de las infecciones son causadas por cepas con este gen.

Este resultado difiere del encontrado por Hernández, 2014 en Cuba donde se observó un menor porcentaje de resistencia para ampicilina y para cloranfenicol con 39,18% y 8,25% respectivamente. La diferencia del resultado puede estar relacionada a que nuestro estudio utilizó un periodo y una muestra mayor a los utilizados en la investigación de Hernández. (4)

Los altos porcentajes de resistencia de las cepas de ECD a los antibióticos ampicilina y cloranfenicol obtenidos en este estudio coinciden con la alta frecuencia de resistencia bacteriana a los antimicrobianos que se utilizan con mayor frecuencia en Costa Rica, según lo observado por Pérez, 2019 en un estudio en niños, donde se determinó el mayor nivel de resistencia para ampicilina con un porcentaje de 42%. La semejanza en el resultado de los estudios, puede estar relacionada a que nuestro estudio abarca la población general, sin embargo, la mayoría de los casos se concentraron en los menores de 5 años, lo que puede estar incidiendo en la semejanza del resultado de ambos estudios. (58)

Además, los resultados del presente estudio difieren de lo observado por Singh *et al*, 2018 en la India, donde se encontró un mayor porcentaje de resistencia para ampicilina (92%) y no se encontró resistencia para el cloranfenicol. La diferencia de los resultados puede estar dada por el hecho que en nuestro país el uso de ampicilina se encuentra restringido, por lo que

ha disminuido la presión selectiva y como resultado se observan menores porcentajes de resistencia. (59)

Reyes-Baque *et.al*, 2021 en Ecuador, realizó un estudio de corte transversal en 83 avicultores donde revela un porcentaje del 100 % de resistencia para gentamicina y meropenem, así mismo destaca ampicilina con 57,1%. En nuestro estudio actual se determinó muy bajos porcentajes de resistencia a los antimicrobianos gentamicina (0,7%) y meropenem (4,7%), lo que difiere de los resultados que observó Reyes-Baque, sin embargo, no ocurrió así para ampicilina, donde se obtuvo un resultado similar. La diferencia entre los estudios puede estar relacionada al hecho que el actual estudio incluye a la población general y el estudio de Reyes-Baque incluyó solo a adultos, los cuales estaban expuestos a un alto riesgo de infección por ECD al estar en contacto directo con aves que recibían antibióticos como suplemento alimenticio para promover el crecimiento. (60)

Otro estudio realizado por Yu Zhou *et al*, 2018 en China se observó un mayor porcentaje de resistencia a ampicilina (77,8%) y trimetoprim-sulfametoxazol (64,8%), en el estudio actual se encontraron menores porcentajes de resistencia a ampicilina y trimetoprim-sulfametoxazol, lo que difiere de los resultados reportados en el estudio de Yu Zhou *et al*, la diferencia de los resultados entre ambas investigaciones pudiera estar relacionado con el hecho de que la presente investigación se realizó con población general y se utilizó una muestra menor. (61)

Los resultados de la presente investigación resultaron mayores en relación a la resistencia para ampicilina y cloranfenicol que los encontrados por Eltai *et al.*, 2018 en Qatar donde se estudiaron 456 muestras de heces fecales tomadas a manipuladores de alimentos aparentemente sanos, donde se determinó 17,1% de muestras positivas a *E. coli*, el mayor porcentaje de resistencia se determinó en: sulfametoxazol (33,3%), y ampicilina (32.1%), mientras que el menor porcentaje se observó en cloranfenicol (3,9%). Esta diferencia puede estar relacionada con el hecho de que las muestras fueron to-

madas de manipuladores de alimentos que se encontraban asintomáticos, además procedían de diferentes áreas geográficas. (62)

Finalmente, un estudio realizado por, Gebresilasie *et al.*, 2018 en Etiopía en menores de cinco años que presentaron cuadros diarreicos agudos, donde se identificó *E. coli* en un 24.1%, se observaron los mayores porcentajes de resistencia para ampicilina (83,6%), trimetoprim-sulfametoxazol (62,3%) y cloranfenicol (21,3%). La presente investigación encontró resultados diferentes al observar menores porcentajes de resistencia para ampicilina y mayores porcentajes para el cloranfenicol, lo que difiere de los resultados encontrados por el estudio de Gebresilasie *et al.* Al igual que en otros estudios la diferencia puede estar en relación con la población estudiada y las condiciones socioeconómicas. (63)

En relación con lo descrito anteriormente es válido señalar que los elevados porcentajes de resistencia observados en el estudio actual pudiera estar relacionado al uso excesivo de estos antibióticos en el tratamiento de las enfermedades infecciosas por la presión selectiva que han ejercido estos antimicrobianos, como es el caso de la ampicilina que forma parte de las drogas de primera línea de elección para el tratamiento de enfermedades infecciosas en la mayoría de los países.

En el caso particular del cloranfenicol, a pesar de no ser utilizado en la actualidad como antimicrobiano de primera elección, por su alto grado de toxicidad sobre células sanguíneas y médula ósea, en ciertas ocasiones es usado como antimicrobiano de uso sistémico, como es el caso de la infección por *Salmonella typhi* o en casos de meningitis bacteriana por: *Enterococcus faecium*, *Haemophilus influenzae* y *Neisseria meningitidis*. Además, se utiliza en las infecciones oftalmológicas como las conjuntivitis bacterianas.

Además, el cloranfenicol sigue siendo un antimicrobiano utilizado en

veterinaria para el tratamiento de animales y como promotor del crecimiento, lo que sugiere una transferencia horizontal de material genético en forma dinámica en las poblaciones animales desde la etapa de producción hasta la elaboración de productos y subproductos de origen animal para el consumo humano, lo que entraña un alto riesgo para la salud humana. (64,65)

4.7 Susceptibilidad antimicrobiana por patotipos.

Al analizar la susceptibilidad antimicrobiana de ECET se encontró un total de 136 aislados resistentes a un antimicrobiano y nueve aislados resistentes a dos antimicrobianos, para un porcentaje de 80% y 5,2% respectivamente, además se observaron 25 aislados que representan un porcentaje de 14,7% resistentes a tres o más antimicrobianos entre todos los aislados de este patotipo, los cuales expresaron 11 patrones de multirresistencia donde se destacó el patrón **C/AMP/TE** con 14 aislados. Los mayores porcentajes de susceptibilidad se obtuvieron en trimetopim-sulfametoxazol, amikacina y cefoxitin. El cloranfenicol alcanzó el mayor porcentaje (60%) de resistencia dentro de los 11 antimicrobianos evaluados, secundado por la ampicilina(50,5%). Es necesario señalar que para la tetraciclina el porcentaje fue de 11,1%, que si bien no llega a los valores establecidos para considerar resistencia al antimicrobiano, debe de ser objeto de observación y vigilancia por su posible incremento en el tiempo.

ECEP es uno de los principales agentes etiológicos de la diarrea infantil aguda y de brotes diarreicos en países en desarrollo. Basado en la presencia o la ausencia del factor de virulencia EAF se clasifica en ECEP típica y ECEP atípica. En la actualidad hay un descenso de los cuadros diarreicos provocados por la típica, por el contrario, hay un aumento de la atípica siendo un agente importante en la etiología de la diarrea en estos países. Se describe en la literatura el aislamiento de cepas ECEP atípica en diferentes especies animales, algunas de ellas pertenecen a serogrupos implicados en

enfermedades en humanos, lo que constituye un riesgo para la salud humana. (66)

En el actual estudio se encontró un total de 90 (85,7%) aislados resistentes a un antimicrobiano, los resistentes a dos fueron tres (2,8%) y 12 aislados (11,4%) resultaron resistentes a tres o más antimicrobianos entre todos los aislados de este patotipo, los cuales expresaron seis patrones de multirresistencia donde se destacó el patrón **C/AMP/TE** con cinco aislados. Los antimicrobianos que destacaron con mayor susceptibilidad fueron amikacina, azitromicina y cefoxitin con un porcentaje de 100% , diferente de cloranfenicol y ampicilina que mostraron los mayores porcentajes de resistencia.

ECEH considerado un patógeno emergente y zoonótico relacionado con diversos brotes diarreicos de causa alimentaria, al estar presente en el tracto intestinal de los animales como flora normal se excreta a través de las heces y provocando contaminación del agua y los alimentos, si estos últimos no se elaboran de forma adecuada provocan cuadros de diarrea aguda y colitis hemorrágica. ECEH se destaca entre los restantes patógenos emergentes de origen alimentario, porque un número reducido de pacientes infectados desarrollan el SUH, de gran importancia clínica ya que evoluciona a la insuficiencia renal aguda en los niños menores de cinco años principalmente. (67,68)

ECEH se encontró en un total de 18 aislados resistentes a un antimicrobiano para un porcentaje de 66,6%, a dos antimicrobianos resultaron seis para un porcentaje 22,2% y a tres o más antimicrobianos resultaron tres aislados que representan un porcentaje de 11,1%, entre todos los aislados de este patotipo, los cuales expresaron un solo patrón de multirresistencia C/AMP/TE. Hay que resaltar que además de los antimicrobianos ampicilina y cloranfenicol que resultaron resistentes se observó en este patotipo porcentajes superiores al 10% para tetraciclina y azitromicina, en el caso de esta última también se observó suceptibilidad intermedia con un porcentaje

de 7,4%, lo cual es motivo de preocupación por la posibilidad real de un incremento en el tiempo. Estos resultados se ilustran en la tabla 3.

Tabla 3. Susceptibilidad antimicrobiana según patotipos de ECD, estudiados en el LNR/EDA/IPK, enero 2019 a marzo 2020.

Antimicrobianos	Porcentaje de resistencia antimicrobiana								
	ECET			ECEP			ECEH		
	S	I	R	S	I	R	S	I	R
ampicilina	48,2	1,2	50,5	65,7	0	34,2	59,3	0	40,7
amikacina	99,4	0	0,5	100	0	0	96,3	0	3,7
azitromicina	94,7	1,8	3,5	100	0	0	77,8	14,8	7,4
ceftriaxona	94,7	0,6	5,3	98,1	0	2,9	100	0	11,1
ciprofloxacina	97,1	0	3,5	100	0	1	100	0	0
cloranfenicol	39,4	0,6	60	27,6	0	72,3	37	0	62,9
cefoxitin	97,1	0	2,9	100	0	0	100	0	0
meropenem	95,3	0	4,7	94,3	0	5,7	100	0	0
gentamicina	94,3	0	4,7	94,3	0	5,7	100	0	0
tetraciclina	87,6	1,2	11,1	93,3	0	6,6	88,9	0	11,1
trimetoprim-sulfametoxazol	100	0	0	99	0	0	100	0	0

En este estudio se determinó que los tres patotipos identificados presentaron los mayores porcentajes de resistencia para el cloranfenicol con valores superiores al 60% en los tres casos, además presentaron resistencia a ampicilina, donde el mayor porcentaje fue para ECET con 50,5 %. Estos resultados difieren de los encontrados por Paniagua 2007, en México, donde se observaron menores porcentajes de resistencia para el cloranfenicol, sin embargo, se observaron niveles similares para ampicilina. La diferencia entre los estudios puede estar relacionada con el tipo de estudio realizado y el tamaño de la muestra. La presente investigación fue de tipo observacional y se utilizó una muestra mayor en un período de estudio menor, mientras que la rea-

lizada por Paniagua utiliza una muestra menor en un período de tiempo mayor, además el estudio fue realizado en población pediátrica de dos a 12 años de edad en niños que acudieron a un hospital por presentar diarreas agudas y donde se utilizó un grupo de control de niños sanos, además esta diferencia puede estar relacionada al tratamiento tradicional de la diarrea en los países en vía de desarrollo, donde el uso y abuso de los antimicrobianos es una práctica común. En Cuba esta práctica es más restringida, esto puede explicar, el menor porcentaje de multirresistencia que se observó en el presente estudio. (69)

Los resultados de la actual investigación también difieren de los encontrados en otro estudio realizado en México por Solarzano, 2017 en donde se determinaron menores porcentajes de resistencia para ampicilina y valores similares para el cloranfenicol, en ECET y ECEP, sin embargo en el caso de ECEH se observó un mayor porcentaje de resistencia para ampicilina y un menor porcentaje para el cloranfenicol. (70)

4.8 Patotipos de ECD y su relación con la multirresistencia

En las últimas décadas se ha presentado un importante incremento en la multiresistencia a nivel mundial. Este incremento ha sido impulsado por diferentes factores que incluyen la prescripción inapropiada de antimicrobianos, su uso fuera del sector de la salud y factores intrínsecos de las bacterias. Cuba no está ajena a esta problemática, por lo que se hace necesario determinar las causas que guardan relación con la creciente emergencia y la diseminación de bacterias altamente resistentes. En el actual contexto, la multirresistencia antimicrobiana no sólo entraña disímiles riesgos para la salud, además conlleva a la afectación de las producciones de alimentos, poniendo en riesgo la subsistencia y la seguridad alimentaria, provocando efectos perjudiciales para la economía, tanto en el ámbito nacional como mundial. La OMS está exhortando a todos los países a establecer sistemas de vigilancia y control con el objetivo de detectar de manera precoz la resistencia a los antimicrobianos, estas acciones ayudarían a comprender mejor este

problema de salud y poder adoptar políticas encaminadas a su prevención y control. (71)

El análisis de la multirresistencia en el estudio actual, encontró 40 aislamientos con fenotipo de MDR para un 13,2%. La mayor frecuencia de aislamientos con fenotipos de MDR se expresó en ECET con 8,2%, seguido de ECEP con el 3,9% y ECEH con 0,9%. En el actual estudio se obtuvieron 11 patrones de multirresistencia antimicrobiana, que comprometen desde tres a nueve familias de antimicrobianos. El patrón de multirresistencia más frecuente resultó: **C/AMP/TE** con 22 aislados (7,2%). Estos resultados se muestran en la tabla 4.

Tabla 4. Descripción de los patrones de multirresistencia antimicrobiana y su relación con los patotipos de *E. coli* diarrogénicos, estudiados en el LNR/EDA/IPK, enero 2019 a marzo 2020.

Patrones de multirresistencia	Patotipos de ECD			
	ECET	ECEP	ECEH	TOTAL
CRO-AZM-C-AMP-SXT-CN-TE-FOX-MRP	1			1
AZM-C-CIP-CN-FOX-MRP	2			2
C-AMP-TE-CRO		1		1
C-AMP-CIP-TE-FOX	2			2
C-AMP-CN-TE-CRO	1			1
C-AMP-CN-TE-MRP		1		1
CRO-C-AMP-TE	1			1
AZM-C-CN-MRP	1			1
CRO-CN-MRP	1			1
C-AMP-TE	14	5	3	22
C-CN-MRP	2	5		6
Total	25	12	3	40

Leyenda: AMP: ampicilina, CRO: ceftriazona, MRO: meropenem, GN: gentamicina, AK: amikacina, CIP ciprofloxacina, TE: tetraciclina, AZM: azitromicina, STX: trimetoprim-sulfametoxazol, C: cloranfenicol, FOX: cefoxitin.

Los resultados de la MDR que se observaron en la presente investigación difieren de los encontrados en el estudio realizado por Hernández, 2014 en Cuba. La presente investigación encontró un menor número de patrones de multirresistencia, el patrón más frecuente quedó conformado por tres antimicrobianos y se determinó menor porcentaje de MDR. El estudio de

Hernández encontró 13 patrones de multirresistencia que comprometían a 26 aislados y de tres a siete familias de antimicrobianos, donde el patrón más frecuente resultó el compuesto por **AMP-STX-T**, además se determinó un mayor porcentaje de MDR (32%), la diferencia que se observó entre ambos estudios puede estar dada a que la población estudiada en la presente investigación fue mayor y los antibióticos evaluados no todos están incluidos en el estudio realizado por Hernández, lo que puede explicar las diferencias encontradas en ambos estudios. (4)

Algo similar ocurre al comparar nuestros resultados con los de Salina, 2017 en Cuba donde se determinaron fenotipos de MDR en un 47,73% y donde ECEP mostró la mayor frecuencia (32,28%). Los resultados del actual estudio son menores en porcentaje de MDR al reportado en el estudio realizado por Salina, esto puede estar relacionado al hecho de que nuestro estudio fue realizado en un período mayor de tiempo, al hecho de que la población del estudio fue mayor y los medios diagnósticos utilizados en la investigación fueron diferentes a los empleados en la investigación de Salina. (47)

El estudio realizado por Alzamora *et al*, 2019 en Perú reportó un porcentaje de cepas MDR que alcanzaron un 34% y se encontraron siete patrones de multirresistencia, el más común fue ácido nalidíxico-ampicilina-cotrimoxazol (**NA-AMP-SXT**). La presente investigación observó un bajo porcentaje de MDR, lo que difiere del encontrado por Alzamora en su estudio, la diferencia entre los resultados de ambos estudios, probablemente pueda explicarse por el tipo de estudio, la diferencia del área geográfica y a la población estudiada ya que nosotros utilizamos población general y en la investigación realizada por Alzamora, se utilizaron aislados comensales de niños sanos.(72)

Del mismo modo el presente estudio difiere de los resultados encontrados por Abbasi, 2020 en Irán, en un estudio realizado en pacientes en edad

pedriática que presentaron cuadros agudos de gastroenterites provocados por ECD, donde se encontró un alto nivel de multirresistencia que alcanzó un porcentaje de 78,1% de los aislados. La presente investigación utiliza una muestra mayor y población general a diferencia del estudio realizado por Abbasi, que sólo evaluó población pediátrica y un mayor número de antimicrobianos, lo que puede explicar la diferencia observada entre ambos estudios. (73)

Las enterobacterias han desarrollado varios mecanismos para resistir la acción de los antibióticos, algunos de los cuales pudieran estar influyendo en los resultados de este estudio. Entre ellos se encuentran modificaciones estructurales que impiden la llegada del antibiótico al punto diana, donde se incluyen a las bombas de excreción *efflux* (BE) las cuales evitan que el antibiótico se incorpore a la célula bacteriana y lo exporte activamente al medio extracelular, sin permitir que se alcance la molécula diana por el fármaco, conjuntamente con la disminución de la permeabilidad de la pared bacteriana con la pérdida o modificación de los canales de entrada. Otro mecanismo pudiera ser la producción de enzimas que inactivan a los antibióticos, pudiendo provocar además modificación de la proteína diana, además de un cambio de su función o producción de enzimas distintas. (74)

Los resultados del presente estudio permiten aportar datos sobre el comportamiento de ECD en el país, brindando información acerca de los patotipos que más inciden como causa de diarreas agudas en el período de estudio y también sobre la susceptibilidad de estos patógenos a diferentes antimicrobianos de uso en la práctica médica. Con estos resultados pretendemos fortalecer el conocimiento y orientar mejor el trabajo de los clínicos, pediatras y epidemiólogos en los centros de asistencia médica primarias y en unidades de cuidados intensivos. De igual manera, el monitoreo de la resistencia antimicrobiana debe continuar para alertar los aumentos que se produzcan con el fin de hacer un mejor uso de los antimicrobianos.

V.CONCLUSIONES

- Se evidencia que *E. coli* enterotoxigénico predomina entre los patotipos ECD, siendo importante realizar su identificación clínico-microbiológica oportuna para establecer las conductas terapéuticas adecuadas
- El conocimiento de los patotipos confirmados, su distribución espacio-temporal y por grupos etarios, permite establecer la población y los escenarios en el que debe actuar el Programa Nacional de ETD del MINSAP.
- En el caso que se decida imponer tratamiento antimicrobiano: ceftriazona, ciprofloxacina, azitromicina, amikacina, trimetoprim-sulfametoxazol y meropenem, pudieran considerarse de elección por el bajo porcentaje de resistencia antimicrobiana.

VI. RECOMENDACIONES

1. Divulgar estos resultados, poniéndolos en conocimiento de las autoridades de la dirección del Programa Nacional de ETD del MINSAP, para que se comuniquen a los clínicos, pediatras y epidemiólogos a modo de actualización terapéutica.
2. Realizar estudios a nivel molecular que permitan determinar los mecanismos de resistencia antimicrobiana que poseen los patotipos de ECD de las cepas del estudio.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Álvarez J, Fernández Real JM, Guarnere F, Gueimonde M, Rodríguez JM, Saenz de Pipaonh M. Microbiota intestinal y salud. Gastroenterología y Hepatología. [Internet].2021; 44: 519---535 Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.gastrohep.2021.01.009>.
2. Canata M., Navarro R, Velázquez G, et al. Caracterización molecular de factores de virulencia de aislados *Escherichia coli* obtenidas de heces de niños con gastroenteritis del Hospital Central de Instituto de Previsión Social en el 2012. Pediatr. (Asunción) [Internet]. 2016 [citado el 30 de agosto del 2019]; 43(1): 13-17. Disponible en: <https://scielo.iics.una.py/scielo>.
3. Umpiérrez A, Ernsta D, Fernández M, Olivera M, Casauxb ML, Caffare-nab RD, et al. Virulence genes of *Escherichia coli* in diarrheic and healthy calves. Rev. Arg. Micro. [Internet]. 2021; 53: 34---38. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.ram.2020.04.004>.
4. Hernández Velázquez E. Susceptibilidad antimicrobiana de *Escherichia coli* entérica aisladas de pacientes con procesos diarreicos agudos. Tesis para optar por el grado de Máster en Bacteriología Micología. La Habana, Cuba: Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí"2014.
5. Becerra Melgoza C, Soria Herrera RJ, Domínguez González KG, Cerna Cortés JF, Guamán Corona LM. Análisis microbiológico de agua en pequeñas plantas potabilizadoras para consumo humano de Morelia Michoacán. e-Gnosis [online] [Internet].2019. Disponible en: <http://www.e-gnosis.udg.mx/index.php/trabajosinocuidad>.
6. Parka J, Seok Kima J, Kima S, Shina E, Kyung-Hwan O, Yonghoon K, Hyeon Kimb C. A waterborne outbreak of multiple diarrhoeagenic *Escherichia coli* infections associated with drinking water at a school camp. International Journal of Infectious Diseases. [Internet] 2018; 66 45–50.Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2017.09.021>.
7. Santos ACM, Santos FF, Silva RM, Gomes TA. Diversity of Hybridand Hetero-Pathogenic *Escherichia coli* and Their Potential Implication in

- More Severe Diseases. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* [Internet] 10:339. Disponible en: <https://doi:10.3389/fcimb.2020.00339>.
8. Kelsey J, Karen Levy. Updates on defining and detecting diarrheagenic *Escherichia coli* pathotypes. *Curr Opin Infect Dis.* [Internet]. 2020, 33:372–380. Disponible en: <https://doi:10.1097/QCO.0000000000000665>.
 9. Huber C, Orrego MV, Ortiz F, Álvarez M, Weiler N. Prevalencia de patógenos causantes de enfermedad diarreica aguda en el área Metropolitana de Asunción y Central Rev. salud publica Parag. [Internet]. 2019; 9:41-45. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.8004/rspp.2019.diciembre.41-45>.
 10. Natarajan M, Kumar D, Mandal J, Biswal N, Stephen SA. Estudy of virulence and antimicrobial resistance pattern in diarrhoeagenic *Escherichia coli* isolated from diarrhoeal stool specimens from children and adults in a tertiary hospital, Puducherry, India. *Journal of Health, Population and Nutrition.* [Internet]. 2018;37:17. Disponible en: <https://doi.org/10.1186/s41043-018-0147-z>.
 11. Azer Özad Düzgün, Okumuş F, Saral A, Çopur Çiçek A, Cinemre S. Determination of antibiotic resistance genes and virulence factors in *Escherichia coli* isolated from Turkish patients with urinary tract infection. *Journal of the Brazilian Society of Tropical Medicine.* [Internet]. 2019; 52: 99: Disponible en: <https://doi:10.1590/0037-8682-0499-2018>.
 12. Fratamico PM, Deb Roy C, Liu, Y, Needleman DS, Baranzoni GM, Feng P. Advances in Molecular Serotyping and Subtyping of *Escherichia coli*. *Front Microbiol.* [Internet]. 2016;7(644). Disponible en: <https://doi:10.3389/fmicb.2016.00644>.
 13. Rodríguez Ángeles G. Principales características y diagnóstico de los grupos patógenos de *Escherichia coli*. *Salud Pública de México.* [Internet]. 2002;44:464-475. Disponible en: <http://www.insp.mx/salud/index.html>.
 14. Weiler N, Orrego, M, Álvarez, M, Huber C. Detección molecular de *Escherichia coli* diarreogénica en pacientes pediátricos con síndrome dia-

- reico agudo en Paraguay. Mem Inst Investig Cienc Salud. [Internet]. 2017; 15(1):16-21. Disponible en: [https://doi:10.18004/Mem.iics/1812-9528/2017.015\(01\)16-021](https://doi:10.18004/Mem.iics/1812-9528/2017.015(01)16-021).
15. Cabrera Rodríguez LE, Díaz Rigau L, Díaz Liva S, Carrasco Miraya A, Ortiz García G. Multirresistencia de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* provenientes de pacientes con infección del tracto urinario adquirida en la comunidad. Revista Cubana de Medicina General Integral. [Internet]. 2019; 35(1):e814. Disponible en: https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/deed.es_ES.
 16. Vanegas-Múnera JM, Jiménez-Quiceno JN. Resistencia antimicrobiana en el siglo XXI: ¿hacia una era pos antibiótica? Rev. Fac. Nac. Salud Pública. [Internet]. 2020; 38(1): e337759. Disponible en: <https://doi.org/10.17533/udea.rfnsp.v38n1e337759>
 17. Ramsey EG, Royer J, Bookstaver PB, et al. Seasonal variation in antimicrobial resistance rates of community-acquired *Escherichia coli* bloodstream isolates. *Int J Antimicrob Agents*. [Internet]. 2019; 54: 1–7. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2019.03.010>.
 18. Aliabadi S, Anyanwu P, Beech E, Jauneikaite E, Wilson P, Hope R, et al. Effect of antibiotic stewardship interventions in primary care on antimicrobial resistance of *Escherichia coli* bacteraemia in England. (2013–18): a quasi-experimental, ecological, data linkage study. *Lancet Infect Dis*. [Internet]. 2021; 21: 1689–700. Disponible en: [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(21\)00069-4](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(21)00069-4).
 19. Rípodas Navarro A, Fernández Moreira D, Macho Martínez M. Investigación de *Escherichia Coli* productor de toxinas Shiga (STEC) en carnes y derivados cárnicos. *Sanidad mil*. [Internet]. 2017; 73 (3): 147-152, ISSN: 1887-8571. Disponible en: <https://doi:10.4321/S1887-85712017000300002>.
 20. Croxen MA, Law RJ, Scholz R, Keeney KM, Wlodarska M, et al. Recent Advances in Understanding Enteric Pathogenic *Escherichia coli*. *Clin Microbiol Rev*. [Internet]. 2013; 26(4):822-80. Disponible en: <https://doi:10.1038/nrmicro2265>.

21. Stanchi NO. *Microbiología Veterinaria 2007*. (Inter-Médica, Ed.) (Primera Ed). Buenos Aires.
22. Morales Cruz VG, Huerta Romano JF. *Escherichia coli* diarrogénicas. Conocimientos vigentes. Rev. Mex. Pediatr. [Internet]. 2010; 77(6); 271-276. Disponible en: <http://www.medigraphic.com/rmp>
23. Stenutz R, Widmalm G. The structures of *Escherichia coli* O-polysaccharide antigens. *Escherichia coli* O-Antigen Database, from FEMS. Microbiol. Rev. [Internet]. 2006.
24. Joensen, KG, Tetzschner, AM, Iguchi A, Arestrup FM, Scheutz F. (2015). Rapid and Easy in Silico Serotyping of *Escherichia coli* Isolates by Use of Whole-Genome Sequencing Data. *J Clin Microbiol*. [Internet]. 53(8), 2410-2426. Disponible en: <https://doi:10.1128/jcm.00008-15>.
25. Sun Y, Ma Y, Lin P, Wei Tang Y, Yang L, Shen Y. *et al*. Fecal bacterial microbiome diversity in chronic HIV-infected patients in China. *Emerging Microbes and Infections*. [Internet]. 2016 5, e31; Disponible en: <https://doi:10.1038/emi.2016.25>.
26. Frömmel U, Böhm A, Nitschke J, Weinreich J, Groß J, Rödiger S, *et al*. Adhesion patterns of commensal and pathogenic *Escherichia coli* from humans and wild animals on human and porcine epithelial cell lines. *Gut Pathogens*. [Internet]. 2013; 5(31). Disponible en: <http://www.gutpathogens.com/content/5/1/31>.
27. Canata M, Navarro R, Velázquez G, Rivelli S, Rodríguez F, Céspedes, A. Caracterización molecular de factores de virulencia de aislados *Escherichia coli* obtenidas de heces de niños con gastroenteritis del Hospital Central de Instituto de Previsión Social en el 2012. *Pediatr (Asunción)*. [Internet]. 2016; 43(1):13-7. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.18004/ped.2016.abril.13-17>.
28. Gómez-Duarte O. Enfermedad diarreica aguda por *Escherichia coli* patógenas en Colombia. *Rev Chil Infect*. [Internet]. 2014; 31(5): 577–586. Disponible en: <https://doi:10.4067/S0716-10182014000500010>.
29. Farfán García AE, Ariza Rojas SC, Vargas Cárdenas, FA, Vargas Remolina LV. Mecanismo de virulencia de *Escherichia coli* enteropatóge-

- na. Rev chil Infect. [Internet]. 2016; 33(4):438-50. Disponible en: www.sochinf.cl.
30. Vidal JE, Cañizales Román A, Gutiérrez-Jiménez J, Navarro García F. Patogénesis molecular, epidemiología y diagnóstico de *Escherichia coli* enteropatógena. Salud Pública Mex. [Internet].2007; 49:376-386. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=48709108>.
31. De Oliveira Souza C. *Escherichia coli* enteropatógena: uma categoria diarreioagênica versátil. Rev. Pan-Amaz Saude. [Internet].2016; 7(2):79-91. Disponible en: <https://revista.iec.pa.gov.br>.
32. Ríos-Muñiz D, Cerna Cortés JF, Morán García N, Meza-Segura M, Estrada García T. *Escherichia coli* enterotoxigénica y enteroagregativa: prevalencia, patogénesis y modelos murinos. Gac Med Mex. [Internet]. 2019; 155:410-416 Disponible en PubMed: <https://www.gacetamedicademexico.com>.
33. Villalobos de Bastardo LB. Caracterización de cepas de *Escherichia coli* enteroinvasiva en un producto cárnico. Revista Científica, FCV-LUZ. [Internet]. 2003; 13(1): 7-11.
34. Lagerqvist N, Löf E, Enkirsch T, Nilsson P, Roth A, Jernberg C. Outbreak of gastroenteritis highlighting the diagnostic and epidemiological challenges of enteroinvasive *Escherichia coli*, County of Halland, Sweden, November 2017. Euro Surveill. [Internet]. 2020; 25(9): pii=1900466. Disponible en:<https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2020.25.9.1900466>.
35. Oderiz S, Leottab GA, Galli L. Detección y caracterización de *Escherichia coli* productor de toxina Shiga en niños atendidos en un hospital pediátrico interzonal de la ciudad de La Plata. Rev. Argent Microbiol. [Internet].2018;50(4):341---350.Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.ram.2017.08.008>.
36. Saxena T, Kaushik P, Krishna Mohan M. Prevalence of *E. coli* O157:H7 in water sources: an overview on associated diseases, outbreaks and detection methods. Diagn Microbiol Infect Dis. [Internet].2015; 82:249–64. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2015.03.015>

37. Rivero M, Padola NI, Analía, Alberto E. Parma *Escherichia coli* enterohemorrágica y síndrome urémico hemolítico en Argentina. MEDICINA (Buenos Aires). [Internet]. 2004; 64: 352-356.
38. Balgradean M, Croitoru A, Leibovitz E. An outbreak of hemolytic uremic syndrome in southern Romania during 2015e2016: Epidemiologic, clinical, laboratory, microbiologic, therapeutic and outcome characteristics. Pediatrics and Neonatology. [Internet]. 2019;60:87e94. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.pedneo.2018.04.011>.
39. Taborda LM, Silva LA, Orlandi PP, Batista FS, Rodríguez RS, Matos NB. Caracterización of enteroaggregative *Escherichia coli* among diarrheal children in Western Brazilian Amazon. Arq. Gastroenterol. [Internet]. 2018. v. 55 n° 4 out/dez. Disponible en: <https://doi.org/10.1590/S0004-2803.201800000-84>.
40. Lösch L, Gariboglio-Vázquez ML., Rivasc M, Merinoa LA. Detección de genes de virulencia del patotipo enteroagregativo en cepas de *Escherichia coli* aisladas de fuentes de agua subterránea de la provincia del Chaco, Argentina. Rev Argent Microbiol. [Internet]. 2015; 47(2):88-94. Disponible en: <https://dx.doi.org/10.1016/j.ram.2015.03.004>.
41. Riveros M, Barletta F, Cabello M, Durand D, Mercado EH, Contreras CA, et al. Patrones de adherencia de cepas de *Escherichia coli* difusamente adherente (DAEC) provenientes de niños con y sin diarrea. Rev. Perú Med Exp Salud Pública. [Internet]. 2011; 28(1): 21-28. Disponible en: www.ins.gob.pe/rpmesp.
42. González Mendoza J, Maguiña Vargas C, González Ponce FM. La resistencia a los antibióticos: un problema muy serio. Acta Med Perú. [Internet]. 2019; 36(2):145-51.
43. Giono Cerezo S, Santos-Preciado JI, Morfín-Otero MR, Torres López FJ, Alcántar Curie MD. Estrategia nacional de acción contra la resistencia antimicrobiana, las redes de laboratorios, el grupo ESKAPE en México y el manejo de la resistencia antimicrobiana en el tratamiento de infecciones causadas por *Helicobacter pylori* Gac Med Mex. [Internet]. 2020; 156:1-9. Disponible en: <https://doi:10.24875/GMM.20005624>.

44. Bisso-Andrade A. Resistencia a antimicrobianos. Rev.Soc Perú Med Interna. [Internet]. 2018; 31(2):50-59.
45. Serra Valdés MA. La resistencia microbiana en el contexto actual y la importancia del conocimiento y aplicación en la política antimicrobiana. Revista Habanera de Ciencias Médicas. [Internet]. 2017; 16(3): [402-419]. Disponible en: <https://www.revhabanera.sld.cu/index.php/rhab/article/view/2013>.
46. Clinical & Laboratory Standards Institute. M100: Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, 30th edition. Clinical & Laboratory Standards Institute. Fecha de consulta: 1 de mayo de 2022. Disponible en: <https://clsi.org/standards/products/microbiology/documents/m100/>.
47. Salina Quesada C. Identificación de patotipos de *Escherichia coli* diarragénicas y susceptibilidad antimicrobiana en Cuba, en el periodo de enero a diciembre 2016. [Tesis para optar por el grado de Máster en Bacteriología Micología]. La Habana, Cuba: Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí" 2017.
48. Roque M. Frecuencia de *Escherichia coli* diarragénicas aisladas de niños en un hospital pediátrico en Lima-Perú. Ciencia e Investigación. 2017, 20(2):23-28.
49. Giugno S, Oderiz S. Etiología bacteriana de la diarrea aguda en pacientes pediátricos. Acta Bioquím Clín Latinoam. [Internet]. 2010; 44 (1): 63-9.
50. Konaté A, Dembélé R, Kagambèga A, Soulama I, Kaboré WAD, Sampo E, et al. Molecular characterization of diarrheagenic *Escherichia coli* in children less than 5 years of age with diarrhea in ou agadougou, Burkina Faso European Journal of Microbiology and Immunology. [Internet]. (2017) 3:220–228. Disponible en: <https://doi/10.1556/1886.2017.00011>.
51. Raghavan R, Roy S, Thamizhmani R, Attayur Purushothaman S. Diarrheagenic *Escherichia coli* infections among the children of Andaman Islands with special reference to pathotype distribution and clínica profile.

- Journal of Epidemiology and Global Health. [Internet]. 2017; 7:305–308. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jegh.2017.07.003>.
52. Verma S, Venkatesh V, Kumar R, Kashyap S, Kumar M, Maurya AK, *et al*. Etiological agents of diarrhea in hospitalized pediatric patients with special emphasis on diarrheagenic *Escherichia coli* in North India. J Lab Physicians. [Internet]. 2019; 11:68-74. Disponible en: <https://doi:10.4103/jlp.ilp.123.18>.
 53. Huma Z, Malik Tareen A, Ullah K, Asmat T, Samad A, Asim Iqbal A, Zahid Mustafa M, Ahmad Rahman S. Incidence of Diarrheagenic *Escherichia coli* Pathotypes in Children Suffering from Diarrhea in Tertiary Care Hospitals, Quetta, Pakistan. Pakistan J. Zool. vol. [Internet]. 2019. 51(6):2015-2021. Disponible en: <https://dx.doi.org/10.17582/journal.pjz/2019.51.6.2015.2021>.
 54. Alizade H, Hosseini Teshnizi S, Azad M, Shojae S, Gouklani H, Davoodian P, *et al*. An overview of diarrheagenic *Escherichia coli* in Iran: A systematic review and meta-analysis. J Res Med Sci. [Internet]. 2019; 24:23. Disponible en: https://doi:10.4103/jrms.JRMS_256_18.
 55. Quesada Oña Y. Patotipos de *Escherichia coli* diarrogénicos aislados en Cuba, y sus fenotipos de resistencia antimicrobiana. [Tesis] La Habana: Instituto Pedro Kourí; 2014.
 56. Cortés-Ortiz IA, Rodríguez-angeles G, Moreno-escobar EA, Qfb JMT, Torres Mazadiego BP, *et al*. Brote causado por *Escherichia coli* en Chalco , México. Rev Salud Pública de Mex. [Internet]. 2002;44(4):297–302. <http://www.insp.mx/salud/index.html>.
 57. Molina NB, Oderiz S, Vescina C, Córdoba A, Basualdo JA, Sparoa MD. Primer reporte de *Escherichia coli* diarreogénica en población pediátrica ambulatoria con diarrea atendida en la ciudad de La Plata, Argentina. Revista Argentina de Microbiología. [Internet]. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.ram.2021.02.006>.
 58. Pérez-Corrales C, Kevin Leandro-Sandi K Diarrheagenic *Escherichia coli* in Costa Rica children: a 9-year retrospective study. Pérez-Corrales

- and Leandro-Sandi *BMC Res Notes* (2019) 12:297.
<https://doi.org/10.1186/s13104-019-4313-1>
59. Singh AK, Das S, Singh S, Gajamer VR, Pradhan N, Lepcha YD, et al. (2018) Prevalence of antibiotic resistance in commensal *Escherichia coli* among the children in rural hill communities of Northeast India. *PLoS ONE*. [Internet]. 13(6):0199179. Disponible en: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0199179>.
60. Reyes-Baque JM, Schettini-Alava MB, Castro-Ponce KM, Valero-Cedeño NJ. *Resistencia antimicrobiana en Escherichia coli aislada de materia fecal de avicultores, asociado al uso de antibióticos en la crianza de pollos, Calceta-Bolívar*. Dom. Cien. [Internet]. 2021;7: (2)1343-1370. disponible en: <https://dx.doi.org/10.23857/dc.v7i2.1885>.
61. Zhou Y, Zhu X, Hou H, Lu Y, Yu J, Mao L, Mao L, et al. Characteristics of diarrheagenic *Escherichia coli* among children under 5 years of age with acute diarrhea: a hospital based study. *BMC Infectious Diseases*. [Internet]. 2018; 18:63. Disponible en: <https://doi.org/10.1186/s12879-017-2936-1>.
62. Eltai NO, Yassine HM, Thani AA Al, Madi MAA, Ismail A, Ibrahim E, et al. Prevalence of antibiotic resistant *Escherichia coli* isolates from fecal samples of food handlers in Qatar. *Antimicrobial Resistance and Infection Control*. [Internet]. 2018;7:782018;1–7. Disponible en: <https://doi.org/10.1186/s13756-018-0369-2>.
63. GebreSilasie YM, Desta Tullu K, Gize Yeshanew A. Resistance pattern and maternal knowledge, attitude and practices of suspected Diarrheagenic *Escherichia coli* among children under 5 years of age in Addis Ababa, Ethiopia: cross sectional study. *Antimicrobial Resistance and Infection Control*. [Internet]. 2018; 7:110. Disponible en: <https://doi.org/10.1186/s13756-018-0402-5>.
64. Martínez Orgániz A, Garza-Ramos ML, González J, Nava Faustin G, Toribio Jiménez J. Patotipos y resistencia a antibióticos de *Escherichia coli* en agua residual. *Rev. Int. Contam. Ambie*. [Internet]. 2020;36:(4) 957-966. Disponible en: <https://doi.org/10.20937/RICA.53711>.

65. Pérez Giráldez MJ, Vázquez corpas MA, Del castillo quesada A. Uso de antibióticos en ganadería y su influencia en la antibiorresistencia en humanos. Hig. Sanid. Ambient. [Internet]. 2018; 18:(2) 1605-1609.
66. Silveyra IM, Pereyra AM, Álvarez MG, Villagrán MD, Baroni AB, Deza N, et al. Aislamiento de *Escherichia coli* enteropatógeno O157:H16 de un caso de diarrea infantil y sus contactos familiares en La Pampa, Argentina. Rev Argent Microbiol. [Internet]. 2015; 47(4):317-321. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ram.2015.08.006>
67. Lara Rosa J, Ferreira Barros R, de Oliveira Santos M. Características da *Escherichia coli* enterohemorrágica (EHEC). Revista Acadêmica do Instituto de Ciências da Saúde. [Internet]. 2016; 2:(1): Jan-Julho 2016 ISSN: 2447 9330.
68. Martínez Suárez V, Dalmau Serra J, Martínez-Suárez JV. Las cepas enterohemorrágicas de «*Escherichia coli*» como paradigma de patógenos emergentes. Lecciones de la gran epidemia de infección alimentaria centrada en Alemania en mayo y junio de 2011. Acta Pediatr Esp. [Internet]. 2012; 70(2): 57-60.
69. Paniagua-Contreras GL, Monroy-Pérez E, Vaca-Pacheco S. Fenotipos de resistencia a antibióticos en cepas de *Escherichia coli* diarreogénicas detectadas en infantes mediante reacción en cadena de la polimerasa multiplex. Rev Med Hosp Gen Mex. [Internet]. 2007; 70 (4): 158-167.
70. Solórzano-Santos F, Piña-Flores LI, Priego-Hernández G, Sierra-Amor A, Zaidi-Jacobson M, Frati-Munari AC, Novoa-Farías O. Actividad antibacteriana de la rifaximina y otros siete antimicrobianos contra bacterias enteropatógenas aisladas de niños con diarrea aguda. Rev Mex Pediatr. [Internet]. 2018; 85(2); 45-52. Disponible en: www.medigraphic.com/rmp.
71. Rivera M, Quintana H. Resistencia antimicrobiana. Rev Med HJCA. [Internet]. 2021; 13(1):11-14. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.14410/2021.13.1.ed.01>
72. Alzamora MC, Echevarría AC, Ferraro VM, Riveros MD, Zambruni M, Ochoa TJ. Resistencia antimicrobiana de cepas comensales de *Escherichia coli* en niños de dos comunidades rurales peruanas. Rev Perú

- Med Exp Salud Publica. [Internet]. 2019;36(3):459-63. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.17843/rpmesp>.
73. Abbasi E, Mondanizadeh M, Belkum A, Ghaznavi Rad E. Multi-Drug-Resistant Diarrheagenic *Escherichia coli* Pathotypes in pediatric Patients with Gastroenteritis from Central Irán. Infection and Drug Resistance. [Internet] 2020;13. Disponible en: <https://www.dovepress.com/terms>.
74. Medina MG, Esquivel P, Lifschitz V, Medina ML, Löscher LS, Merino LA. Detección de *Escherichia coli* diarrogénicos en niños de barrios humildes de Corrientes, Argentina. Rev cubana Med Trop. [Internet] 2010;62(1):42-7.
75. Cardona López MA, Padilla- Frausto JJ, Madriz-Elizondo AL, Hinojosa Dávalos J, Navarro-Villarroel CL, Varela-Hernández JJ, Ibarra-Velázquez, LM. Identification of *Escherichia coli* pathotypes in ground beef from butcher shops of Guadalajara, Jalisco, Mexico Revisit Bio Ciencias[Internet].2020;7: e924.disponible en: <https://doi.org/10.15741/revbio.07. e924>.
76. Mare A, Man A, Toma F, Ciurea CN, Cos RL, Vintila C, Cornel Maier A. Hemolysin-Producing Strains among Diarrheagenic *Escherichia coli* Isolated from Children under 2-Year-Old with Diarrheal Disease. Pathogens. [Internet]. 2020; 9:1022; Disponible en: doi: <https://10.3390/pathogens9121022>.
77. León-Luna D, Fajardo-Loyola A, Yareta-Yareta J, Burgos-Espejo A, Peralta-Siesquen C, Galarza-Pérez M, et al. Caracterización molecular de enterobacterias multirresistentes en dos departamentos de la selva peruana. Biomedica. [Internet]. 2021;41(Supl.2):180-7.disponible en: <https://doi.org/10.7705/biomedica.5720>.
78. Pérez-Corrales C, Sandi KL. Diarrheagenic *Escherichia coli* in Costa Rican children: a 9-year retrospective study. BMC Res Notes. [Internet]. (2019) 12:297. Disponible en: <https://doi.org/10.1186/s13104-019-4313>.
79. Chávez-Bravo E, Rivera-Tapia JA, Castañeda-Roldán EI, Gil-Juárez C, Ochoa-Huilot M Á, Cedillo-Ramírez ML. Multiresistencia antimicrobiana

- de *Escherichia coli* enteropatógena y Enterotoxigénica, detectadas en muestras Clínicas mediante reacción en cadena de la Polimerasa. Rev.cienc. biomed. [Internet]. 2012; 3(1):40-48.
80. Cordero Arellano CC. *Escherichia coli* enteropatógena en un efluente tratado de la ciudad de Puebla, resistente a antibióticos y a metales pesados. [Tesis presentada para obtener el título de licenciatura en biología.] Universidad autónoma de Puebla.2018.
81. Mairena Acuña C. Perfil epidemiológico y filogenético de *escherichia coli* enteropatógena asociadas a gastroenteritis en pacientes pediátricos del hospital nacional de niños “dr. Carlos Sáenz Herrera”, enero 2015 a septiembre 2019. [Tesis para optar por el grado de Máster en Bacteriología Medica]. Costa Rica: Ciudad universitaria Rodrigo Facio, costa rica.2020.
82. Toledo E, Falcón N, Flores C, Rebatta M, Guevara J, Ramos D. Susceptibilidad antimicrobiana de cepas de *Escherichia coli* obtenidas de muestras de heces de cerdos destinados a Consumo Humano. Salud y Tecnología Veterinaria. [Internet]. 2015 3(2), 35-40.
83. Barbosa G, Cristiane D, Costa DDC. (*Escherichia coli* enterohemorrágica e perfil de resistência a antimicrobianos em suínos criados no estado do Pará) Enterohemorrhagic *Escherichia coli* and antimicrobial resistance of swines bred in the state of Pará. Archives of Veterinary Science. [Internet].2022; 27:105–13. www.ser.ufpr.br/veterinary.
84. Pons M, Mosquito S, Ochoa T, Vargas M, Molina M, Iluque A, et al. Niveles de resistencia a quinolonas y otros antimicrobianos en cepas de *Escherichia coli* comensales en niños de la zona periurbana de Lima, Perú. Salud Pública. [Internet].2012;29(1):82-86.disponible en: doi: <https://dx.doi.org/10.17843/rpmesp.2019.363.4366>.
85. Jiménez Mejía R, Gudiño Sosa LF, Aguilar López JA, Loeza Lara PD. Caracterización molecular de *Escherichia coli* resistente a antibióticos aislada de mastitis bovina en Michoacán, México. Rev Mex Cienc Pecu.

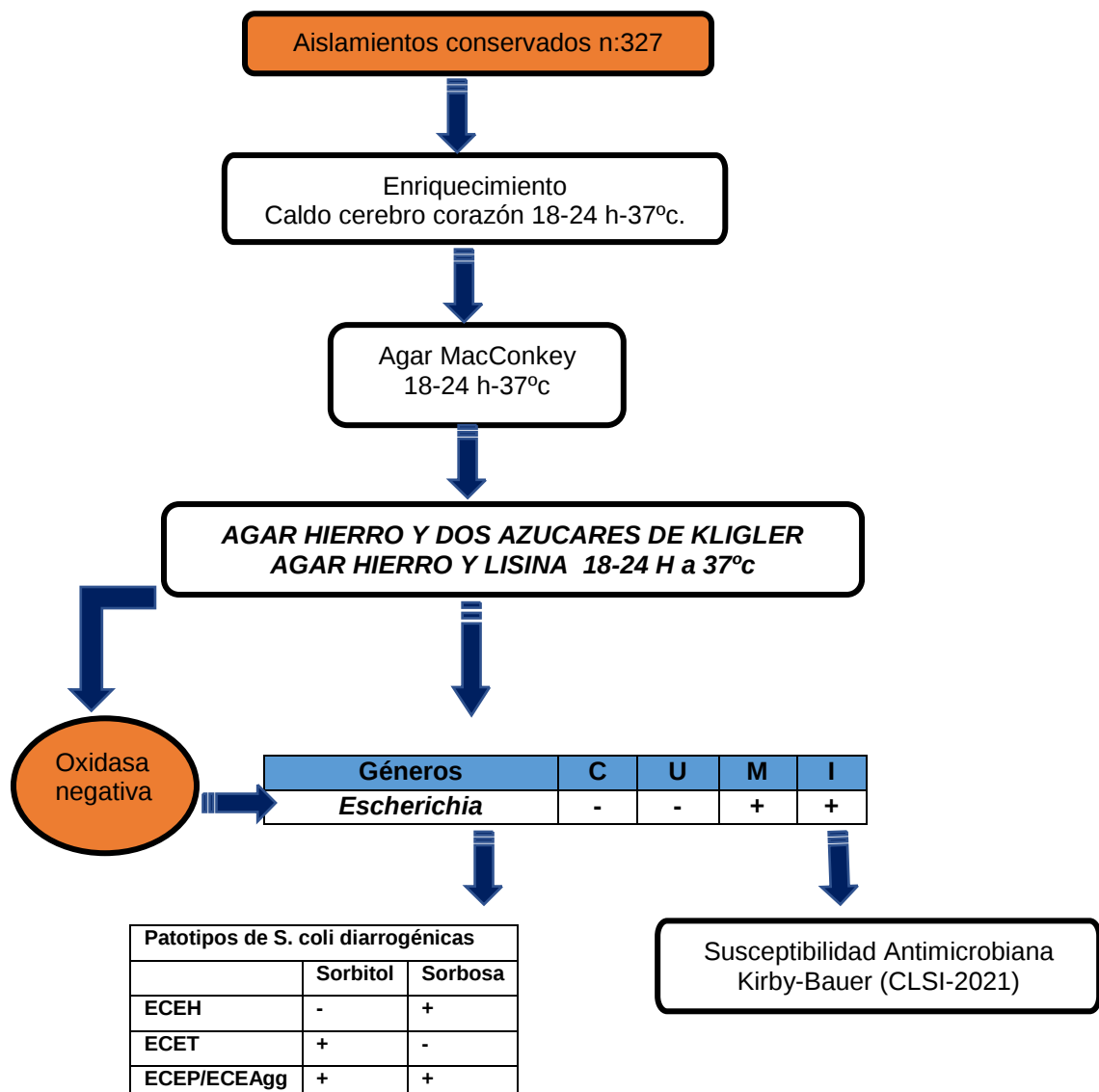
[Internet].2017;8(4):387-396.Disponible en:
<https://dx.doi.org/10.22319/rmcp.v8i4.4251>.

- 86.** Vega Sánchez V, Talavera Rojas M, Barba León J, Zepeda Velázquez AP, Reyes Rodríguez NE. La resistencia antimicrobiana en *Escherichia coli* aislada de canales y heces bovinas de rastros en el centro de México. Rev Mex Cienc Pecu. [Internet]. 2020;11(4):991-1003.Disponible en:
<https://doi.org/10.22319/rmcp.v11i4.5073>

VIII. ANEXOS

Anexo # 1

Algoritmo para la identificación fenotípica de *E. coli*.



Anexo # 2

Cuadro 1. Agentes antimicrobianos utilizados, su concentración en el disco y las categorías para la interpretación de los resultados.

Agentes antimicrobianos		Concentración en el disco	Diámetros en mm para definir categorías		
			S	I	R
Aminoglucósidos	Gentamicina (CN)	10 µg	≥15	13-14	≤12
	Amikacina (AK)	30 µg	≥17	15-16	≤14
Carbapenems	Meropem (MRP)	10 µg	≥23	20-22	≤19
Cefalosporinas	Ceftriaxona (CRO)	30 µg	≥23	20-22	≤19
	Cefoxitin (FOX)	5 µg	≥26	22-25	≤21
Fluoroquinolona	Ciprofloxacina (CIP)	30 µg	≥18	15-17	≤14
Penicilinas	Ampicilina (AMP)	10 µg	≥17	14-16	≤13
Phenicoles	Cloranfenicol (C)	30 µg	≥18	13-17	≤12
Macrólidos	Azitromicina (AZM)	15 µg	≥13	-	≤12
Sulfas	Trimetoprim- sulfametoxazol (SXT)	1.25/23.75 µg	≥16	11-15	≤10
Tetraciclinas	Tetraciclina (TE)	30 µg	≥15	12-14	≤11

R: resistente I: susceptibilidad intermedia S: sensible

Fuente: CLSI 2022

Anexo # 3

Tabla 1. Descripción, por regiones del país y momento del periodo que se recibieron las muestras de aislados de ECD (n 302) estudiados en el LNR/EDA/IPK, enero 2019 a marzo 2020.

Regiones	Provincias	Trimestre 1	Trimestre 2	Trimestre 3	Trimestre 4	Trimestre 5	Total
Occidental	Pinar del Rio	0	4	2	1	4	11
	La Habana	5	0	2	4	0	11
	Matanzas	2	10	0	1	0	13
	La Isla de la juventud	5	0	0	0	0	5
Central	Cienfuegos	17	11	2	2	0	32
	Villa Clara	20	3	7	0	37	67
	Ciego de Ávila	19	20	11	0	26	76
	Camagüey	2	2	2	2	4	12
Oriental	Las Tunas	0	0	2	0	1	3
	Holguín	3	4	5	2	15	29
	Granma	0	0	6	2	6	14
	Santiago de Cuba	10	0	0	0	0	10
	Guantánamo	0	1	1	5	12	19
Total		83	55	40	19	105	302

Anexo # 4

Tabla 2. Descripción, por regiones del país y grupos de edades, de la muestra de aislados de *E. coli* diarrogénicos (n 302) estudiados en el LNR/EDA/IPK, enero 2019 a marzo 2020.

Regiones	Provincias	< 5	5 a 19	20 a 39	40 a 59	>60	Total
Occidental n=40	Pinar del Rio	9	2	0	0	0	11
	La Habana	5	5	0	1	0	11
	Matanzas	11	2	0	0	0	13
	La Isla	4	1	0	0	0	5
Central n=187	Cienfuegos	16	8	6	1	0	31
	Villa Clara	36	16	2	11	4	69
	Ciego de Ávila	66	8	1	1	0	76
	Camagüey	6	3	1	0	2	12
Oriental n=75	Las Tunas	1	1	1	0	0	3
	Holguín	9	3	3	10	4	29
	Granma	8	0	1	3	1	13
	Santiago de Cuba	0	1	1	6	2	10
	Guantánamo	12	4	2	1	0	19
Total		183	54	18	34	13	302

