

Código: UMSS-DICYT-DCA-2013-GC0007



Una alternativa de alta sensibilidad y especificidad para la caracterización molecular, de virotipos de *Escherichia coli* asociada a procesos diarreicos infecciosos en pacientes pediátricos, mediante métodos microbiológicos y MULTIPLEX PCR

INVESTIGADOR: Fátima Funes Espinoza

UNIDAD: Instituto de Investigaciones de Bioquímica y Farmacia

CENTRO/LABORATORIO: Laboratorio Asistencias de Análisis Clínico

RESUMEN

Los Laboratorios Asistencial y de Biología Molecular de la Facultad de Bioquímica de la UMSS han estandarizado, mediante la técnica Multiplex PCR, un método para la detección de virotipos de *Escherichia coli* diarreogénica aislada mediante métodos microbiológicos de muestras de heces. La elevada especificidad del método le confiere un alto valor diagnóstico. Paralelamente a la virotipificación es posible determinar el perfil de resistencia de *Escherichia coli*, información que evitaría fracasos terapéuticos.

ABSTRACT

The Healthcare and Molecular Biology Laboratories of the UMSS Faculty of Biochemistry have standardized, through the Multiplex PCR technique, a method for detecting virotypes of diarrheogenic *Escherichia coli* isolated by microbiological methods from stool samples. The high specificity of the method gives it a high diagnostic value. Parallel to virotyping, it is possible to determine the resistance profile of *Escherichia coli*, information that would prevent therapeutic failures.

Descripción y características fundamentales

Escherichia coli diarreogénica en base al mecanismo de patogenicidad puede corresponder a diferentes virotipos. Se consideró la necesidad de conocer qué virotipos eran causantes de procesos diarreicos infecciosos, la sensibilidad a los antibióticos frecuentemente utilizados y el establecimiento de relaciones con grupos etéreos y manifestaciones clínicas.

Se analizaron muestras de 104 pacientes del Hospital del niño Manuel Ascencio Villarroel y del Hospital Tiquipaya (2011- 2012). Las muestras que dieron positivas para *E. coli* pasaron a la fase de determinación de virotipos para lo cual se estandarizó una técnica Multiplex PCR en la que se utilizó 6 pares de cebadores (primers) para determinar la presencia de 4 virotipos de *Escherichia coli* diarreogénica: *E. coli* enteropatogénica (EPEC); *E. coli* enterohemorrágica (STEC), *E. coli* enterotoxigenica (ETEC); *E. coli* enteroagregativa (EAEC).

Para la virotipificación se estableció un protocolo que adecua la técnica de selección del método de extracción de ADN bacterial y las condiciones de amplificación de la PCR.

La virotipificación se programó en base a la detección de genes de virulencia: *Eae* (EPEC); *eae* y *stx* (STEC); *elt,est,ipaH* (ETEC) y *AggR* (EAEC). El método está respaldado por el uso de cepas control de *Escherichia coli*.

El 59,6% de los pacientes estudiados portaban *E. coli*, el 40,39% presentaron otros enteropatógenos. El perfil de sensibilidad (Kirby Bahuer) de las cepas de *E. coli* reporto muy baja sensibilidad para sulfatrimetoprim 25,7%; ampicilina-sulbactam 55,9% y sensibilidad superior al 63% a cefotaxima, ciprofloxacina, ácido nalidixico, amoxicilina.

El 74,7% de las cepas de *E. coli* aisladas, no correspondió a ninguno de los virotipos en estudio. El 25,3% portaban algún gen de patogenicidad: 11,6% ETEC; 8,4% EPEC; 4,2% STEC y 1 % EAEC.

El 87,5% de los virotipos se detectó en pacientes menores de 2 años.

Aspectos Innovadores

- La estandarización de la técnica Multiplex PCR permite contar con una herramienta diagnóstica rápida y de gran eficiencia.
- La alta sensibilidad y especificidad del método estandarizado permite a los Centros de Salud e instituciones afines contar con resultados para ser utilizados en monitoreos epidemiológicos.
- La información del perfil de resistencia o sensibilidad a los antibióticos frecuentemente utilizados en procesos diarreicos permite un monitoreo periódico y garantiza el éxito terapéutico.

Ventajas competitivas

El método de Multiplex PCR estandarizado, debido a su elevada eficiencia analítica permite a los Hospitales e instituciones relacionadas, la identificación de *Escherichia coli* como agente etiológico y el monitoreo epidemiológico de procesos diarreicos infecciosos.

El monitoreo periódico del perfil de resistencia de *Escherichia coli* permite la disminución de casos de fracasos terapéuticos lo que se traduce en ventajas en cuanto a disminución de costos subsecuentes para el paciente, aumento de la disponibilidad de camas en los hospitales. Así mismo, el monitoreo evitaría el aumento de resistencia a los antibióticos de mayor uso por la población.

Tipo de asociación que busca

El conocimiento generado es importante para hospitales e instituciones de salud, los cuales pueden contactarse con la Facultad de Bioquímica y Farmacia- UMSS o Laboratorio Asistencial. Dado que, el estudio fue realizado con el Hospital del niño Manuel Ascencio Villarroel y Hospital Tiquipaya el conocimiento obtenido es de gran utilidad para monitoreo epidemiológico de estos hospitales y otros afines.



Proyecto: Detección y caracterización molecular de virotipos de *Escherichia coli* asociados a diarreas infantiles en pacientes hospitalizados en el hospital del niño Manuel Ascencio Villarroel de Cochabamba

Financiador: Agencia Sueca de Cooperación para el Desarrollo Internacional (ASDI)

Otras unidades de investigación:

- Laboratorio de Biología Molecular

Organizaciones asociadas al proyecto:

- Hospital del niño Manuel Ascencio Villarroel, Cercado Cochabamba
- Hospital Tiquipaya, Municipio de Tiquipaya de Cochabamba