

ARTICULO ORIGINAL / ORIGINAL ARTICLE

Prevalencia de patógenos causantes de enfermedad diarreica aguda en el área Metropolitana de Asunción y Central

Prevalence of pathogens causing acute diarrheal disease in the Asunción and Central Metropolitan area

Claudia Huber¹, María Verónica Orrego¹, Flavia Ortiz¹, Mercedes Álvarez¹, Natalie Weiler¹.¹Ministerio de Salud Pública y Bienestar Social, Laboratorio Central de Salud Pública, Asunción, Paraguay.Correspondencia: Natalie Weiler natalieweiler@gmail.com
Recibido 19/09/2019, aprobado para publicación el 16/10/2019
Editor Responsable: Carlos Miguel Ríos-González**RESUMEN****Introducción:** Las enfermedades diarreicas agudas (EDA) constituyen un problema de salud pública y son una de las causas más importantes de mortalidad y morbilidad en niños a nivel mundial.**Objetivo:** Determinar la prevalencia de enteropatógenos causantes de EDA en el área metropolitana de Asunción y Central.**Materiales y métodos:** Se realizó un estudio observacional, descriptivo de corte transverso. Se analizaron 743 muestras de heces diarreicas, en las cuales se investigó la presencia de *Salmonella* spp., *Shigella* spp., *Campylobacter* spp., *Escherichia coli* diarreigénicas y Rotavirus, utilizando técnicas de referencia.**Resultados:** En el 31,2% (232/743) de las muestras fue posible identificar al menos uno de los patógenos entéricos investigados, siendo las *E. coli* diarreigénicas fueron las bacterias identificadas con mayor frecuencia, seguido por Rotavirus, *Campylobacter* spp., *Shigella* spp. y en último lugar, *Salmonella* spp.**Conclusión:** La población más afectada corresponde a niños menores de 5 años. El principal patógeno identificado como agente causal de diarreas fueron las *E. coli* diarreigénicas en primer lugar, seguido por Rotavirus, *Campylobacter* spp., *Shigella* spp. y *Salmonella* spp. En algunas muestras se detectaron más de un patógeno entérico, encontrando incluso casos de coinfección con hasta cuatro patógenos diferentes.**Palabras clave:** Enfermedad diarreica aguda; Prevalencia; Enteropatógenos. Fuente: DeCs (BIREME)**ABSTRACT:****Introduction:** Acute diarrheal diseases (ADD) constitute a public health problem and are one of the most important causes of mortality and morbidity in children worldwide.**Objective:** To determine the prevalence of enteropathogens causing ADD in the metropolitan area of Asunción and Central.**Materials and methods:** An observational, descriptive cross-sectional study was conducted. 743 samples of diarrheic feces were analyzed, in which the presence of *Salmonella* spp., *Shigella* spp., *Campylobacter* spp., *Escherichia coli* diarreigenic and Rotavirus was investigated, using reference techniques.**Results:** In 31.2% (232/743) of the samples it was possible to identify at least one of the enteric pathogens investigated, being the diarrhenetic *E. coli* were the most frequently identified bacteria, followed by Rotavirus, *Campylobacter* spp., *Shigella* spp. and lastly, *Salmonella* spp.**Conclusion:** The most affected population corresponds to children under 5 years of age. The main pathogen identified as the causative agent of diarrhea was diarrigenic *E. coli*, followed by Rotavirus, *Campylobacter* spp., *Shigella* spp. and *Salmonella* spp. In some samples more than one enteric pathogen was detected, even finding cases of coinfection with up to four different pathogens.**Keywords:** Acute diarrheal disease; Prevalence; Enteric pathogens. MeSH (NLM)

INTRODUCCIÓN

Las enfermedades diarreicas agudas (EDA) constituyen aún un grave problema de salud pública y son una de las causas más importantes de mortalidad y morbilidad en niños a nivel mundial, por lo general como consecuencia del consumo de alimentos o agua contaminados. Según datos de la Organización Mundial de Salud (OMS), se estima que anualmente 1700 millones de niños sufren de diarrea y 525000 niños menores de cinco años mueren cada año.⁽¹⁾

La causa más frecuente de EDA es de origen infeccioso, producidas por bacterias, virus y en menor proporción parásitos. Los agentes infecciosos detectados con mayor frecuencia en muestras de heces diarreicas son las *Escherichia coli* diarreigénicas, *Salmonella* spp., *Shigella* spp., *Campylobacter* spp., y Rotavirus.^(1,2)

Debido a la gran diversidad de agentes causales, cada uno con requerimientos y pruebas específicas para su detección, un gran porcentaje de las diarreas queda sin un patógeno identificado, lo que se estima ocurre en un 45–60% de los casos.⁽³⁾

A través de un análisis realizado a 163 trabajos publicados en 31 países diferentes se determinó que los patógenos entéricos prevalentes a nivel mundial son Rotavirus, *E. coli* enteropatógena, calicivirus y *E. coli* enterotoxigénica, pero debido a las diferencias en las condiciones socioeconómicas y sanitarias, la prevalencia varía según cada país, como por ejemplo en Perú, donde los agentes parasitarios fueron los principales, seguido por las infecciones de causa bacterianas y por último virales.^(4,5)

Investigaciones realizadas en el país encontraron patógenos en muestras diarreicas con prevalencias de 13% para *E. coli* diarreigénicas, 16% *Campylobacter* spp. y 17,3% Rotavirus.^(6,7,8)

Sin embargo existe poca información sobre la prevalencia de los diferentes patógenos como agentes causantes de diarrea y la presencia de coinfecciones.

Identificar los principales agentes etiológicos de EDA permite adoptar medidas de intervención oportunas y eficaces en Salud Pública, por lo cual, el objetivo de este estudio fue determinar la prevalencia de patógenos causantes de EDA en el área metropolitana de Asunción y Central, a modo de conocer la epidemiología de los mismos, sus perfiles de sensibilidad y población más afectada, y que la información obtenida pueda ser utilizada para la implementación de las acciones preventivas necesarias, por lo que el objetivo del estudio fue determinar la prevalencia de enteropatógenos

causantes de EDA en el área metropolitana de Asunción y Central.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó un estudio observacional, descriptivo de corte transversal, muestreo no probabilístico de casos consecutivos.

Para el estudio fueron analizadas 743 muestras de heces diarreicas entre abril y octubre del 2017 derivadas al Laboratorio Central de Salud Pública por servicios de salud de las principales ciudades del área metropolitana, la cual incluye Asunción, donde fueron seleccionados los servicios de salud del barrio San Pablo y Barrio Obrero, y del departamento Central, San Lorenzo, Luque, Capiatá, Fernando de la Mora y Ñemby. El área de estudio fue seleccionada por incluir ciudades con mayor densidad demográfica del país, y servicios que aceptaron participar del estudio.

Las muestras fueron recolectadas por evacuación espontánea en un recipiente estéril y procesadas en el Laboratorio Central de Salud Pública, en las cuales se investigó la presencia de *Salmonella* spp., *Shigella* spp., *Campylobacter* spp., *Escherichia coli* diarreigénicas y Rotavirus.

La presencia de Rotavirus se determinó utilizando pruebas inmunocromatográficas CerTest (Biotec) y para la presencia de enteropatógenos bacterianos las muestras fueron sembradas en agar de McConkey sorbitol, agar *Salmonella-Shigella* (SS), agar Skirrow modificado. Se realizaron pruebas bioquímicas para identificación de *Salmonella* spp., *Shigella* spp. y *Campylobacter* spp., Según el Manual de Procedimientos de EDAS INEI-ANLIS 2011. Una vez aisladas e identificadas las cepas de *Salmonella*, se realizó la serotipificación haciendo uso de antiseros polivalentes y monovalentes, según esquema de Kauffmann-White.⁽⁴⁾

Para identificación de *E. coli* diarreigénicas se realizó PCR de punto final según Manual de Procedimientos de EDAS INEI-ANLIS 2011, el cual permite la detección de *E. coli* Enterotoxigénica (ETEC), *E. coli* Enteropatógena (EPEC), *E. coli* Enteroagregativa (EAEC), *E. coli* Enteroinvasiva (EIEC), *E. coli* Enterohemorrágica (ECEH) y *E. coli* productora de Toxina Shiga (STEC).⁽⁴⁾

A las cepas aisladas de *Salmonella* spp., *Shigella* spp. fue determinada la susceptibilidad antimicrobiana *in Vitro* a Ampicilina, Cotrimoxazol, Ciprofloxacina, y Cefotaxima por la técnica de difusión por discos en placas con agar, según Kirby-Bauer, y Ciprofloxacina y Eritromicina por epsilometría para las cepas de *Campylobacter* spp. (E-test®). La interpretación de

los puntos de corte se realizó utilizando las tablas estándares CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute).^(5,6)

El protocolo contó con la aprobación del Comité de Ética Internacional del LCSP (CEI-LCSP). Para el trabajo se consideran las cuestiones éticas de autonomía, beneficencia y justicia.

La participación fue voluntaria y los pacientes que decidieron participar firmaron un consentimiento informado, previa explicación correspondiente. Para pacientes pediátricos el consentimiento fue firmado por el padre o tutor. La toma de muestras no involucró en ningún caso intervenciones o procedimientos riesgosos, el análisis realizado fue gratuito y los resultados entregados al laboratorio para su posterior entrega al paciente.

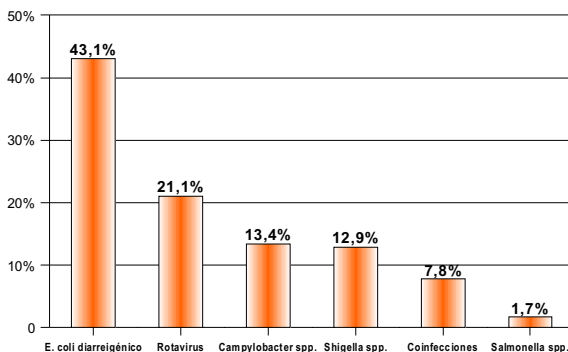
Los datos personales y resultados obtenidos fueron resguardados manteniendo siempre la confidencialidad de los participantes. Los datos fueron registrados en una base de datos utilizando Microsoft Excel (Microsoft Corporation) y posteriormente analizados con el software EPI INFO versión 7TM, utilizando frecuencias relativas (%).

RESULTADOS

En el 31,2% (232/743) de las muestras fue posible identificar al menos uno de los patógenos entéricos investigados, de las cuales el 60,8% correspondieron a niños menores de 5 años, con ligero predominio del género femenino (52,6%).

En el 43,1% de los casos positivos se identificaron a las *E. coli* diarraigénicas como agente etiológico, seguido por Rotavirus en el 21,1%, *Campylobacter* spp. 13,2%, *Shigella* spp. 12,9% y por último *Salmonella* spp en 1,7%. Además, se identificaron casos de coinfección, con la detección de más de un agente patógeno, e incluso hasta 4 patógenos diferentes en una misma muestra en un 7,8% (Gráfico 1).

Gráfico 1. Distribución de patógenos entéricos detectados en las muestras con resultado positivo. n=232



Las *E. coli* diarraigénicas fueron las bacterias identificadas con mayor frecuencia, de las cuales el patotipo principal fue ETEC con el 36,2%, seguido por EAEC y EPEC con resultados similares del 31% y 30,2% respectivamente, y en menor porcentaje, pero con gran importancia clínica, STEC con 2,6%. Además se encontraron dos patotipos en una misma muestra, EAEC y ETEC (0,9%). No se detectó ningún caso de ECEI.

Se identificó el serotipo de 5 de las 6 cepas de *Salmonella* spp.: Typhimurium (2), Hadar (1), Infantis (1) y Newport (1) (Tabla 1).

Tabla 1. Patógenos entéricos identificados en coinfecciones. n= 18

Patógeno	Cantidad detectada
ECEA + ECET	1
ECET + <i>Shigella</i> sp.	3
ECEP + <i>Shigella</i> sp.	2
ECET + <i>Salmonella</i> sp.	1
ECEA + <i>Salmonella</i> sp.	1
ECET + <i>Campylobacter</i> sp.	1
ECEP + <i>Campylobacter</i> sp.	1
ECEA + Rotavirus	2
ECEP + Rotavirus	4
ECEP + Rotavirus + <i>Campylobacter</i> sp. + <i>Shigella</i> sp.	1
Rotavirus + <i>Shigella</i> sp.	1

En relación al perfil de susceptibilidad, tres cepas no presentaron resistencia a ninguno de los fármacos analizados, dos cepas presentaron susceptibilidad intermedia a Ciprofloxacina y una cepa resistente a Ampicilina.

La principal especie que fue aislada corresponde a *S. sonnei*, con el 70%, seguida por *S. flexneri* con el 30%.

El análisis de la susceptibilidad antimicrobiana de las cepas demostró que el 90% de las cepas presentaron resistencia a Cotrimoxazol, el 70% a Ampicilina y el 20% fueron cepas portadoras de Betalactamasa de espectro extendido. El patrón de resistencia más frecuente fue Ampicilina-Cotrimoxazol en 19 cepas.

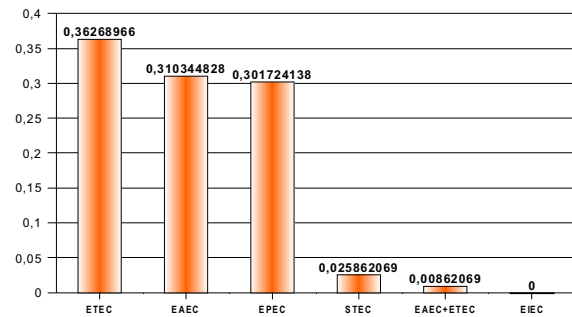
Se logró analizar el perfil de susceptibilidad de 29 cepas, de las cuales el 48% presentó resistencia a Ciprofloxacina y 100% de sensibilidad a Eritromicina (Gráfico 2--> siguiente página).

DISCUSIÓN

Este estudio presenta una estimación de la prevalencia de agentes causantes de diarrea en el área metropolitana de Asunción y Gran Asunción, demostrando además el porcentaje de casos de EDA que no cuentan con un agente etiológico identificado,

resultado similar a lo encontrado en otros estudios, como el realizado a pacientes pediátricos en Córdoba por Vanina Huerta, et al. con una recuperación de patógenos bacterianos del 34,1%, pero más bajo a lo obtenido por Mauricio Farfán et al. con un 67,5%, el cual fue realizado utilizando la técnica de Filmarray. Esta diferencia se debe a que Filmarray constituye una metodología más sensible y completa capaz de detectar la presencia de hasta 23 patógenos entéricos, incluyendo algunos parásitos intestinales.^(13,14)

Gráfico 2. Patotipos de *E. coli* diarreigénica detectados. n=117



El bajo porcentaje de recuperación puede deberse además al tiempo transcurrido entre la toma de muestra y su procesamiento, ya que algunas son bacterias lábiles y además se encuentran en competencia continua con la microbiota presente en las heces.

Un resultado interesante en este estudio fue la presencia de más de un patógeno en 7,8% de las muestras positivas que, si bien es similar a lo obtenido por otros estudios al utilizar metodologías convencionales, es mucho menor al compararlo con lo obtenido por Filmarray, con porcentajes que van del 30,2% al 48,1%.^(14,15)

El principal agente causal encontrado corresponde al grupo de las *E. coli* diarreigénicas, patógenos no investigados habitualmente en coprocultivos por requerir de técnicas moleculares para su diagnóstico.

El segundo agente detectado con mayor frecuencia es Rotavirus, pero debido a que el diagnóstico fue realizado utilizando pruebas inmunocromatográficas, este valor puede verse afectado por las limitaciones que esta técnica presenta en cuanto a especificidad, debiendo ser realizada una confirmación posterior por pruebas moleculares.⁽¹⁶⁾

Con relación a la resistencia a antimicrobianos en las cepas estudiadas se destaca el gran porcentaje de resistencia en *Shigella* spp. a Cotrimoxazol y a Ampicilina, además de la resistencia encontrada en *Campylobacter* spp. a Ciprofloxacina.

Debemos considerar las limitaciones de este estudio como el número de centros seleccionados, no todos los pacientes con cuadro diarreico agudo acuden a

consultar al servicio o se realizan coprocultivos, en especial adultos, además del corto periodo de muestreo, el tiempo transcurrido entre la toma de muestra y el procesamiento de las mismas y las muestras muchas veces son transportadas sin refrigerar.

A modo de conclusión es posible mencionar que la población más afectada corresponde a niños menores de 5 años, sin prevalencia significativa entre el sexo femenino y masculino. El principal patógeno identificado como agente causal de diarreas fue de origen bacteriano con las *E. coli* diarreigénicas en primer lugar, seguido por Rotavirus, *Campylobacter* spp., *Shigella* spp. y en último lugar *Salmonella* spp. En algunas muestras se detectaron más de un patógeno entérico, encontrando incluso casos de coinfección con hasta cuatro patógenos diferentes.

El principal patotipo de *E. coli* diarreigénica identificado corresponde a *E. coli* enterotoxigénica, y cabe destacar la detección de *E. coli* productora de toxina Shiga, que si bien el porcentaje fue bajo, la circulación de las mismas en el país resulta de gran importancia debido a la alta virulencia y potenciales complicaciones de esta bacteria.

El elevado porcentaje de cepas de *Shigella* spp. y *Campylobacter* spp. que presentaron resistencia a algún antimicrobiano de elección demuestra la dificultad de seleccionar un tratamiento empírico, siendo necesario conocer el agente causal y su sensibilidad para un correcto manejo clínico del paciente.

Declaración de conflicto de intereses: Los autores no declaran conflictos de intereses.

Financiación: La presente investigación fue realizada en marco del proyecto “Estudio de carga de gastroenteritis según agente etiológico. Área metropolitana de Paraguay 2017” (PINV15-711), financiado por el Programa Paraguayo para el Desarrollo de la Ciencia y Tecnología (PROCIENCIA) del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT).

Contribuciones: CH, MO colaboraron en la concepción del estudio original, análisis e interpretación de datos, redacción del manuscrito y búsqueda de financiación, FO, MÁ, NW, participó en la concepción del estudio original, recolectó los datos y colaboró en la redacción del manuscrito. Todos los autores revisaron y aprobaron la versión final.

Declaración. Las opiniones expresadas en este manuscrito son responsabilidad del autor y no reflejan necesariamente los criterios ni la política de la RSPP y/o del INS.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Hernández del Sol CR, Vázquez G, Mesa Z, Bermúdez RI, Sotolongo Y, Vázquez G. Bacterias enteropatógenas asociadas a enfermedad diarreica aguda en niños. Acta Médica del Centro [Internet]. 2017; 11(2):[aprox. 6 p.]. Disponible en : <http://www.revactamedicacentro.sld.cu/index.php/amc/article/view/813>
- Gómez-Duarte O. Enfermedad diarreica aguda por *Escherichia coli* patógenas en Colombia. Rev Chilena Infectol. 2014; 31(5): 577–586. doi:10.4067/S0716-10182014000500010.
- Yalda LA. Etiología y manejo de la gastroenteritis aguda infecciosa en niños y adultos. Rev Med Clin Condes. 2014; 25(3): 463-472. Doi:10.1016/S0716-8640(14)70063-X.
- Lanata CF, Fischer-Walker CL, Olascoaga AC, Torres CX, Aryee MJ, et al. Global Causes of Diarrheal Disease Mortality in Children <5 Years of Age: A Systematic Review. PLOS ONE . 2013; 8(9): e72788. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0072788>
- Silvia-Díaz H, Bustamante-Canelo O, Aguilar-Gamboa FR, Mera-Villasis K, Ipanaque-Chozo J, Seclen-Bernabe E, et al. Enteropatógenos predominantes en diarreas agudas y variables asociadas en niños atendidos en el Hospital Regional Lambayeque, Perú. Horiz Med. 2017; 17(1): 38-44.
- Weiler N, Orrego M, Alvarez M, Huber C. Detección molecular de *Escherichia coli* diarreogénicas en pacientes pediátricos con síndrome diarreico agudo. Paraguay. Mem Inst Investig Cienc Salud. 2017; 15(1): 16-21.
- Orrego M, Weiler N, Portillo R, Lird G, Acosta L, Ortiz F, et al. Síndrome diarreico agudo causado por *Campylobacter* spp. en pacientes menores de 11 años y su resistencia antimicrobiana a las drogas de elección para el tratamiento 2010-2012, Paraguay. Pediatr (Asunción), 2014; 41(2): 127-130.
- Martínez M, Fariña N, Rodríguez M, Russomando G, Parra G. Presencia de rotavirus en adultos con diarrea en Asunción, Paraguay. Rev Argent Microbiol. 2005; 37: 99-101.
- Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas - A.N.L.I.S. “Dr. Carlos G. Malbrán” – OPS. Manual de Procedimientos. Detección de patógenos asociados a Enfermedad Diarreica Aguda, incluyendo *Vibrio cholerae*. Buenos Aires, 2011.
- Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; seventeenth informational supplement. CLSI document M100-S17. Wayne, Pennsylvania: Clinical and Laboratory Standards Institute. 2016; 130-132.
- Clinical and Laboratory Standards Institute. Methods for antimicrobial dilution and disk susceptibility testing of infrequently isolated or fastidious bacteria: proposed guideline. CLSI document M45-P Wayne, Pennsylvania: Clinical and Laboratory Standards Institute. 2016; 16, 39.
- Chamorro G. Comité de Ética en Investigación (CEI LCSP). Rev Salud Pública Parag. 2012; 2(2): 37-38.
- Huerta V, González P, Contreras V, Barcudi D, Dichiará D, Cortés P. Etiología de la diarrea bacteriana aguda en pacientes pediátricos de la ciudad de Córdoba. Boletín Colegio de Bioquímicos de Córdoba. (Fecha de acceso: 16 de septiembre de 2019). Disponible en : <http://cobico.com.ar/wp-content/archivos/2014/02/Dra.-Huerta-VERSION-FINAL-correcto-noviembre-2013-febrero.pdf>
- Farfán M, Piemonte P, Labra Y, Henríquez J, Candía E, Torres J. Panel Filmarray GI® en la detección de patógenos entéricos en deposiciones: experiencia preliminar. Rev chil Infectol. 2016; 33(1): 89-91. Disponible en : https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-10182016000100016&lng=es. <http://dx.doi.org/10.4067/S0716-10182016000100016>.
- Spina A, Kerr K, Cormican M, Barbut F, Eigentler A, Zerva L, et al. Spectrum of enteropathogens detected by the Filmarray GI® Panel in a multicentre study of community-acquired gastroenteritis. Clin Microbiol Infect. 2015; 21: 719-28.
- Fariña N, Galeano M, Martínez M, Ferreira R, Vega M, Espínola E, et al. Sensibilidad y especificidad del método inmunocromatográfico utilizado para el diagnóstico de rotavirus. Mem Inst Investig Cienc Salud 2008; 6(2). Disponible en : <http://scielo.iics.una.py/pdf/iics/v6n2/v6n2a02.pdf>