

(Artículo Original)

Utilización del método de biotipaje para diferenciar cepas de *Escherichia coli* aisladas en muestras de orina de pacientes pediátricos

Hospital Pediátrico Docente "Juan Manuel Márquez". Facultad de Ciencias Médicas "Finlay – Albarrán". La Habana. Cuba

Lic. Ernesto Hernández Robledo¹, Dra. M. Margarita Valdés-Dapena Vivanco², Lic. Karelia Torres Mosqueda³, Lic. Yigany Vila de Armas⁴.

¹Licenciado en Microbiología, Profesor Asistente, Máster en Bacteriología-Micología, Departamento de Microbiología, Hospital Pediátrico Docente "Juan Manuel Márquez", La Habana, Cuba. ²Especialista de primero y segundo grado en Microbiología, Profesor Titular, Consultante, Doctor en Ciencias Médicas, Investigador Titular. Departamento de Microbiología, Hospital Pediátrico Docente "Juan Manuel Márquez", La Habana, Cuba. ³Licenciada en Microbiología, Máster en Enfermedades Infecciosas, Profesor Asistente. Departamento de Microbiología, Hospital Pediátrico Docente "Juan Manuel Márquez", La Habana, Cuba. ⁴Licenciada en Tecnología de la Salud Perfil Microbiología, Departamento de Microbiología, Hospital Pediátrico Docente "Juan Manuel Márquez", La Habana, Cuba.

RESUMEN

Objetivo: Introducir en el diagnóstico clínico de las infecciones urinarias el biotipaje de las cepas de *Escherichia coli* identificadas en muestras de orina.

Materiales y Métodos: Se realizó un estudio observacional retrospectivo durante el período comprendido desde octubre de 2012 hasta septiembre de 2013, en el Hospital Pediátrico Docente "Juan Manuel Márquez". El trabajo incluyó 539 cepas de *E. coli* aisladas a partir de muestras de orina obtenidas en pacientes con sospecha clínica de padecer una infección del tracto urinario. A dichas cepas se les aplicó el esquema de biotipaje descrito por Crichton y Old en 1993, que permitió la diferenciación de este microorganismo en diferentes biotipos.

Resultados: Se demostró la presencia de 16 biotipos diferentes de *E. coli* en las cepas estudiadas. Los biotipos 1 y 10 fueron los más identificados con 20,59 y 17,62%, respectivamente.

Conclusiones: En correspondencia con lo descrito en la literatura, el esquema de biotipaje empleado muestra su utilidad para la discriminación de una amplia gama de biotipos de *E. coli* recuperados a partir de las muestras de orina obtenidas en pacientes con una sospecha clínica de infección del tracto urinario.

Palabras clave: *Escherichia coli*; biotipo; infección del tracto urinario.

INTRODUCCIÓN

La infección del tracto urinario (ITU) es la enfermedad infecciosa de carácter no epidémico más frecuente en pediatría. Se plantea que los niños se afectan a lo largo de su infancia, con al menos un episodio. Las ITU pueden ser recurrentes en aquellos pacientes que presentan factores predisponentes. La mayoría de los patógenos urinarios provienen de la microbiota intestinal y llegan al tracto urinario por vía retrógrada ascendente, siendo *Escherichia coli* la bacteria más identificada, con 80% del total de aislamientos a partir de los cultivos de orina investigados. (1-4)

Entre los autores estudiosos de este tema, existe el consenso general de que las infecciones urinarias son

producidas por diferentes tipos de *E. coli* y los métodos para su diferenciación son importantes desde el punto de vista clínico y epidemiológico, sobre todo, en aquellos pacientes con infecciones urinarias recurrentes. La diferenciación permite la clasificación de las mismas en reinfección y persistencia bacteriana, esta última condición es muy importante desde el punto de vista clínico, pues se asocia con pielonefritis y está provocada por la misma cepa, la cual desarrolla mecanismos de resistencia antimicrobiana que conlleva a un fracaso terapéutico. Por otra parte, la reinfección es provocada por una cepa diferente a la causante de la infección primaria y por lo general, se asocia con formas menos graves de la enfermedad, tales como la cistitis. (5-7)

Las técnicas de tipaje son aquellas que permiten

la diferenciación de los microorganismos de una misma especie. Estas técnicas tienen un alto poder de discriminación, pero en su mayoría son laboriosas, costosas y difíciles de implantar en el diagnóstico cotidiano de un laboratorio de diagnóstico clínico microbiológico, especialmente en los pequeños laboratorios o de escasos recursos. Dentro de las técnicas utilizadas para hacer el diagnóstico de los diferentes tipos de *E. coli* se encuentran el serotipaje, el fagotipaje, el colistotipaje, el antibiotipaje y los métodos de biología molecular. (8)

En 1982, Crichton y Old publican un esquema de biotipaje para *E. coli*, modificado en 1993. El método se basa en la utilización de tres azúcares y un aminoácido, es sencillo, económico y de fácil ejecución. Su aplicación permite la diferenciación de cepas de *E. coli* en 16 biotipos. (8) En la literatura consultada de Cuba, no existen trabajos publicados sobre métodos de biotipaje para la diferenciación de aislamientos de *E. coli* causantes de ITU; los datos disponibles referentes a este tema se corresponden con una tesis para optar por el título de Máster en Bacteriología-Micología, realizados por el autor del presente trabajo en el Hospital Pediátrico "Juan Manuel Márquez" (HPJMM), en el año 2002. (9)

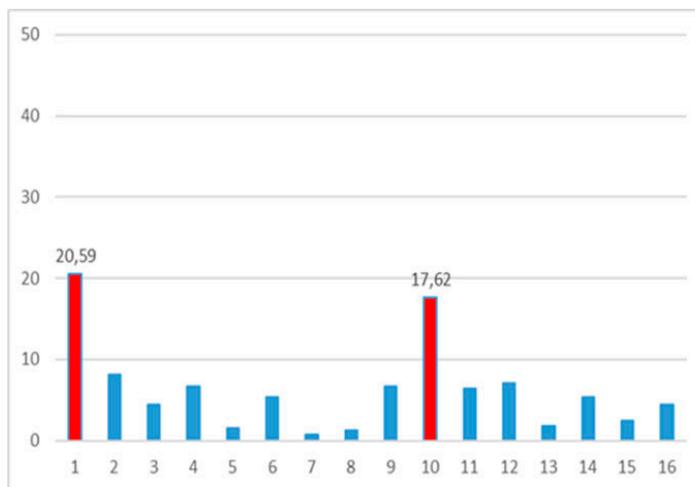
Tomando en consideración los planteamientos anteriores, esta investigación se propone introducir en el diagnóstico clínico, el biotipaje de los aislamientos de *E. coli* identificados en pacientes con esta afección. Esto permitirá al pediatra determinar si la infección por este microorganismo es una reinfección o una infección persistente.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó un estudio retrospectivo descriptivo para diferenciar los aislamientos de *E. coli* recuperados a partir de muestras de orina tomadas en los pacientes con una sospecha clínica de ITU en el HPJMM de La Habana. El universo estuvo constituido por 539 cepas de *E. coli*, que se correspondieron con el total de aislamientos obtenidos a partir de muestras de orina tomadas en esos pacientes durante el período comprendido desde octubre de 2012 hasta septiembre de 2013. La identificación microbiológica de estos aislamientos se realizó mediante las marchas técnicas del laboratorio. La determinación del biotipo se realizó según el método descrito por Crichton y Old en 1993, (8) en el cual, a partir de las reacciones de tres azúcares (sorbosa, rafinosa y dulcitol) y un aminoácido (ornitina) se identificaron los 16 biotipos de *E. coli* (tabla 1).

RESULTADOS

En la figura 1 se observa que el método utilizado fue capaz de diferenciar las cepas de *E. coli* en 16 biotipos diferentes. Los biotipos 1 y 10 fueron los más frecuentes, con 20,59 y 17,62%, respectivamente. Los otros mostraron variaciones en su frecuencia, pero los porcentajes estuvieron por debajo de 9%. El método fue de fácil aplicación y poco costo.



(n= 539)

Figura1. Biotipos de *Escherichia coli* identificados. Hospital Pediátrico Docente "Juan Manuel Márquez"

DISCUSIÓN

E. coli es el principal patógeno causante de ITU, la diferenciación de las cepas de esta especie constituye un

problema práctico en los laboratorios de microbiología pues las técnicas para lograr dicha diferenciación son a menudo laboriosas y costosas. El biotipaje descrito por Crichton y Old en 1993, (8) aplicado en esta investigación, es un

Tabla 1. Determinación de biotipos según el método propuesto por Crichton y Old⁽⁸⁾

Biotipo	Rafinosa	Sorbosa	Ornitina	Dulcitol
1	+	+	+	+
2	+	+	+	-
3	+	+	-	+
4	+	+	-	-
5	+	-	+	+
6	+	-	+	-
7	+	-	-	+
8	+	-	-	-
9	-	+	+	+
10	-	+	+	-
11	-	+	-	+
12	-	+	-	-
13	-	-	+	+
14	-	-	+	-
15	-	-	-	+
16	-	-	-	-

esquema económico, sencillo y de fácil ejecución. Por sus ventajas, pudiera ser una solución para la determinación de los biotipos de *E. coli* y constituiría una herramienta importante en el manejo de las infecciones urinarias producidas por esta bacteria.

En este estudio se demostró la presencia de 16 biotipos diferentes de *E. coli* aisladas de muestras de orina obtenidas de pacientes pediátricos con sospecha de ITU. Estos resultados se correspondieron con los hallados descritos por Crichton y Old en 1993. Ellos describen todos los biotipos posibles según el método descrito, en cepas aisladas de pacientes con ITU. (8) Por otro lado, en la investigación realizada por este autor en el 2002, se identifican 13 de 16 biotipos posibles en estudios realizados en aislamientos obtenidos a partir de muestras de orina de pacientes con sospecha de ITU en el HPJMM. (9) Los hallazgos encontrados en la presente investigación, mediante la aplicación del método de biotipaje descrito por Crichton y Old, así como los obtenidos por este autor en 2002, permiten llegar a la conclusión de que este método es capaz de discriminar entre las cepas de *E. coli* uropatógenas.

En la amplia gama de biotipos encontrados en el presente estudio, predominaron los biotipos 1 y 10, los demás se

identificaron en bajos porcentajes. Estos resultados se correspondieron con las investigaciones realizadas con anterioridad, (8-9) por lo que, apoyan la idea de que los biotipos detectados con mayor frecuencia en esta investigación pudieran jugar un papel importante en la patogénesis de las ITU, aunque se necesitan más estudios para avalar esta afirmación.

La variabilidad en las cepas de *E. coli* halladas en este estudio, mediante un método sencillo y económico como el biotipaje, pudiera constituir una alternativa en los laboratorios de microbiología con escasos recursos disponibles para la clasificación de infecciones tan frecuentes como las urinarias, en las reinfecciones o la persistencia bacteriana. Estudios posteriores donde se correlacione el biotipo con la clínica pediátrica y la susceptibilidad antimicrobiana, podrán incrementar la utilidad de esta técnica en el manejo de la ITU.

CONCLUSIONES

El esquema de biotipaje empleado es útil para la discriminación de una amplia gama de biotipos de *E. coli* aisladas a partir de las muestras de orina obtenidas en pacientes con sospecha de ITU.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Koyle MA, Shifrin D. *Issues in Febrile Urinary Tract Infection Management. Pediatr Clin N Am* 2012; 59: 909–922.
2. Newman DH; Shreves AE; Runde DP. *Pediatric Urinary Tract Infection: Does the Evidence Support Aggressively Pursuing the Diagnosis?. Ann Emerg Med* 2013;61:559-565.
3. Bhat RG, Katy TA, Place FC. *Pediatric Urinary Tract Infections. Emerg Med Clin N Am* 2011; 29:637–653.
4. Puñales Medel I, Monzote López A, Torres Amaro G, Hernández Robledo E. *Etiología bacteriana de la infección urinaria en niños. Rev Cubana Med Gen Integr vol.28 no.4 Ciudad de La Habana oct.-dic. 2012*
5. Barber AE, Norton JP, Spivak AM, Mulvey MA. *Urinary tract infections: current and emerging management strategies. Clin*

Infect Dis 2013;57(5):719-24.

6. Schwartz DJ, Chen SL, Hultgren SJ, Seed PC. Population dynamics and niche distribution of uropathogenic *Escherichia coli* during acute and chronic urinary tract infection. *Infect Immun* 2011;79:4250-4259.

7. Köhler CD, Dobrindt U. What defines extraintestinal pathogenic *Escherichia coli*? *Int J Med Microbiol* 2011;301:642-7.

8. Crichton PB, Old DC. A miniaturized biotyping system for strain discrimination in *E.coli*. *Epidemiol Infect* 1993;111:81-88

9. Hernández E. Caracterización fenotípica de cepas de *Escherichia coli* uropatógenas. [Trabajo para optar por el título de Máster en Bacteriología-Micología]. La Habana. Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí";2002.

Using biotyping method to differentiate strains of *Escherichia coli* isolated from urine samples of pediatric patients

SUMMARY

Objective: To introduce in the clinical diagnosis of urinary infections the biotyping strains of *Escherichia coli* identified in urine samples.

Materials and Methods: A retrospective observational study was conducted during the period from October 2012 to September 2013, at "Juan Manuel Márquez". Pediatric Teaching Hospital The work included 539 strains of *Escherichia coli* isolated from urine samples obtained from patients suspected of suffering from a urinary tract infection. In these strains were applied the biotyping scheme described by Crichton and Old in 1993, which allowed the differentiation of this microorganism in different biotypes.

Results: The presence of 16 different biotypes of *Escherichia coli* strains studied was demonstrated. Biotypes 1 and 10 were the most identified with 20.59 and 17.62%, respectively.

Conclusions: According to the one described in the literature, the biotyping scheme used, shows its usefulness for discrimination in a wide range of biotypes of *Escherichia coli* recovered from urine samples obtained from patients with a clinical suspicion of infection urinary tract.

Keywords: *Escherichia coli*; biotype; urinary tract infection.

Dirección para la correspondencia: Lic. Ernesto Hernández Robledo. Hospital Pediátrico Docente "Juan Manuel Márquez"

Correo electrónico: ernestohdez@infomed.sld.cu