

13

24



**Universidad Nacional Autónoma de México**

FACULTAD DE CIENCIAS

**Infección de vías urinarias por  
Escherichia coli en niños**

**TESIS PROFESIONAL**

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE  
**B I O L O G O**  
P R E S E N T A

**Alma Yasmina Andrade Jasso**

MEXICO, D. F.

1988.



Universidad Nacional  
Autónoma de México



## **UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso**

### **DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## I N D I C E

	Pág.
CAPITULO I	
RESUMEN	1
OBJETIVOS	8
HIPOTESIS	8
1.1 GENERALIDADES DE <u>ESCHERICHIA COLI</u>	9
1.2 DEFINICION DE INFECCION DE VIAS URINARIAS	13
1.3 IMPORTANCIA CLINICA	13
1.4 FACTORES PREDISPONENTES	15
1.5 CAUSAS Y VIAS DE INFECCION	15
1.6 SINTOMATOLOGIA DE INFECCION DE VIAS URINARIAS	18
CAPITULO II	
ANTECEDENTES EN LA PATOGENESIS DE VIAS URINARIAS	21
2.1 ANATOMIA Y FISIOPATOLOGIA DEL SISTEMA URINARIO	21
2.2 ETIOLOGIA Y ETIOPATOGENIA DE INFECCION DE VIAS URINARIAS	21
2.3 HISTORIA DE INFECCION DE VIAS URINARIAS POR <u>E. COLI</u>	24
CAPITULO III	
MARCO TEORICO	28
3.1 ADHERENCIA	28
3.2 HEMAGLUTINACION	33
3.3 COMPOSICION QUIMICA DE LAS ADHESINAS	35
CAPITULO IV	
DESARROLLO EXPERIMENTAL	39
4.1 MATERIAL UTILIZADO	39

	pág.
4.1.2 MEDIOS DE CULTIVO	39
4.1.3 ANTIMICROBIANOS UTILIZADOS	41
4.1.4 REACTIVOS Y SOLUCIONES	41
4.2 METODOLOGIA	42
4.2.1 OBTENCION PROCESAMIENTO Y AISLAMIENTO DE UN UROCULTIVO	42
4.2.2 IDENTIFICACION BIOQUIMICA	45
4.2.3 SENSIBILIDAD ANTIMICROBIANA	46
4.2.4 OBTENCION Y PROCESAMIENTO DE DIFERENTES TIPOS DE CELULAS EPITELIALES	50
4.2.5 ADHERENCIA Y HEMAGLUTINACION	55
CAPITULO V RESULTADOS	59
CAPITULO VI DISCUSIONES	69
CAPITULO VII CONCLUSIONES	76
CAPITULO VIII REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	79

R E S U M E N

Escherichia coli, es el agente etiológico más importante en infecciones de vías urinarias.

La presencia de cifras superiores a 100,000 unidades formadoras de colonias por mililitro (UFC/ml) a partir de un urocultivo, indica un proceso bacteriano urinario, el cual afecta principalmente a lactantes, mujeres embarazadas y pacientes con lesiones obstructivas del tracto urinario o a procesos neurológicos, que afectan la micción.

Debido a la existencia de múltiples factores que predisponen al paciente a sufrir infecciones por bacterias se considera que E. coli puede estar capacitada para colonizar distintas superficies. El objetivo del presente trabajo fue evaluar la capacidad de cepas de E. coli para adherirse a diferentes tipos de células.

La metodología empleada fue la siguiente: mediante el criterio de Kass, se realizó la cuantificación de UFC/ml. La identificación bioquímica de las colonias aisladas, se efectuó siguiendo los criterios comunmente usados en bacteriología diagnóstica. La adherencia bacteriana se hizo empleando células del epitelio bucal y urinario, así como cultivos de células HeLa y Hep-2 y eritrocitos humanos del grupo A, utilizando la metodología de McEachran, Scaletsky y Feutrier.

Los resultados obtenidos fueron los siguientes: De 2572 - muestrans de orina procesadas, el 5.5% resultaron positivas, de las cuales se seleccionaron 50 cepas de E. coli que al ser sometidas a la determinación de adherencia, se encontró lo siguiente:

* ADHERENCIA	CEL. 1	CEL. 2	CEL. 3	CEL. 4	HEMAGLUT.	4°C	22°C
LOCALIZADA	34 %	42 %	62 %	54 %	HAMS	28%	32%
DIFUSA	20 %	24 %	2 %	2 %	HAMR	64%	62%
LOCAL/DIF	46 %	26 %	12 %	12	NOHA	8%	6%
NO ADHERENCIA		8 %	24 %	32			

Con el empleo de las pruebas de adherencia a diferentes tipos de células y a la inhibición de hemaglutinación con D-manosa empleando eritrocitos tipo "A" determinamos que la adherencia más común fue la localizada debida probablemente a la fimbria tipo I (HAMS) y que la hemaglutinación manosa resistente (HAMR) fue la - menos frecuente y que esta adherencia es debida quizá al Factor - antigénico de Colonización tipo I (FAC/I) ó por otras propiedades de superficie o más serotipos.

- \* CELULA 1 = Células epiteliales de boca  
 CELULA 2 = Células epiteliales de orina  
 CELULA 3 = Células Hela  
 CELULA 4 = Células Hep-2  
 NOHA = Ausencia de hemaglutinación

## INTRODUCCION

La Familia Enterobactereaceas, se caracteriza por la capacidad de producir varios tipos de fimbrias, las cuales, facilitan su adherencia a células eucariotes. Estas estructuras de superficie han sido divididas en dos grandes clases: Manosa sensitivas (MS) y Manosa resistentes (MR), basadas en la habilidad del monosacárido D-manosa para inhibir o no la adherencia de la fimbria a la célula eucarionte (9, 18).

Escherichia coli, es el agente etiológico más importante en infecciones del tracto urinario (ITU) (23, 20). La habilidad bacteriana, de adherirse a éste, es un pre-requisito para que se efectúe una colonización y posteriormente se presente el cuadro clínico, por lo cual, la adherencia puede ser considerada como un factor de patogenicidad, en donde la interacción de los receptores específicos del hospedero y las adhesinas bacterianas dan como resultado una probable infección del tracto urinario (8, 23, 5, 30 y 20).

La adherencia es un factor importante para la permanencia de la bacteria en la superficie del hospedero, a través de un antígeno de superficie de naturaleza protéica (fimbria) (24, 46).

Entre las enterobacterias, E. coli causante de infección de vías urinarias, se une a determinadas células, por medio de distintas adhesinas y receptores (49). La característica de una

bacteria de ser portadora de diferentes tipos de adhesinas la capacidad para unirse a un receptor específico del tejido celular -- del hospedero (5).

La capacidad de la bacteria para producir daño, se encuentra incrementada por la característica de presentar hemaglutinación resistente (HAMR), causada por la adhesina FAC/I la cual se puede determinar empleando eritrocitos humanos del grupo "A". La expresión de la adhesina, se encuentra controlada por la presencia de material genético extracromosomal (plásmidos), transferible y la característica fenotípica se manifiesta por la adherencia, la cual es una etapa inicial en la patogénesis de la enfermedad (23, 1, 8).

La virulencia de una bacteria es una consecuencia de ciertos factores independientes que ocurren a la vez, entre los cuales están: Ciertos antígenos O y K, producción de hemolisinas múltiples tipos de fimbrias y la actividad bactericida del suero entre otros (50, 34, 39, 31 y 41).

La producción de hemolisinas y colicinas, se pueden considerar como caracteres fenotípicos que de alguna manera, están relacionados con las cepas invasivas, principalmente de localización extraintestinal.

Los factores que participan en la patogenicidad de un microorganismo se dividen en: Factores extrínsecos, dependientes -- del huésped y Factores intrínsecos, dependientes de la bacteria -

que incluyen la transmisibilidad, virulencia, invasividad y toxicidad (39, 18, 10, 31, 19 y 34).

Las diferencias específicas en la virulencia se localizan en estructuras de superficie celular tales como: Cápsulas, fimbrias y lipopolisacáridos (24).

Los receptores para la adherencia bacteriana, pueden ser carbohidratos de superficie de la célula hospedera, como glicoproteínas o glicolípidos, por ejemplo: la manosa, antígeno M (proteína) y Gal 1 → 4 Gal B. Las células uroepiteliales, eritrocitos, fagocitos y linfocitos, también, expresan una gran variedad de carbohidratos contenidos en las estructuras de superficie y así vemos que la combinación de los glicolípidos determina los grupos sanguíneos (49).

La presencia de estructuras del tipo de pili o fimbrias confieren a la bacteria la capacidad adherente a superficies epiteliales (23). Estas estructuras se estudiaron inicialmente en cepas de origen animal y se les denominó como antígenos K88 en cepas patógenas de E. coli. obtenidas de cerdos; posteriormente en cepas de bovinos se les denominó antígeno K99, con función similar a K88, los cuales difieren antigénicamente; y en cepas de origen humano se denominan como Factores de colonización (FC).

Las fimbrias son apéndices filamentosos de superficie, de naturaleza protéica, con estructura cilíndrica y diámetro varia--

ble, según el tipo (19).

La infección del tracto urinario, puede ser causada por cepas que no exhiben propiedades adherentes, por ejemplo, algunas cepas asociadas a bacteriuria asintomática (8).

La adherencia "IN VITRO", empleando células epiteliales, aisladas de la cavidad oral, sugieren que la función del pili tipo 1 manosa sensitiva, funciona como organelos de adherencia permitiendo a Escherichia coli, adherirse y colonizar la mucosa oral.

Las cepas de E. coli. pueden también adherirse a células HeLa en dos diferentes formas:

- 1) Adherencia localizada: la bacteria se adhiere en grupos o racimos, en determinadas áreas de la célula eucariote.
- 2) Adherencia difusa: La bacteria se adhiere difusamente en toda la superficie de la célula eucariote o rodeándola (45, 46).

Las cepas de E. coli aisladas de orina, probadas mediante las adherencias a células HeLa, determinan el patrón de adherencia; localizada o difusa, relacionados con el tipo de fimbria o factor antigénico de colonización (FAC). Para determinar estos antígenos de superficie se puede realizar su búsqueda mediante pruebas de hemaglutinación, empleando eritrocitos humanos, o de diferentes especies animales, o por aglutinación en presencia de

suero específico.

La habilidad del cambio entre la fimbriación y la no fimbriación, puede ser un importante factor de virulencia, ya que la presencia de esta estructura, puede ser una ventaja o desventaja para el organismo, dependiendo de la adherencia de la bacteria a células epiteliales o a leucocitos. La variación de fase que puede manifestarse es controlada a nivel de transcripción del operón oscilando entre los estados de fimbriación y no fimbriación con una frecuencia de aproximadamente un cambio por cada 1000 células por generación. (18, 19, ).

## OBJETIVOS

- 1) Aislamiento e identificación de Escherichia coli en -- urocultivos
- 2) Cuantificación de bacterias en muestras de orina
- 3) Adherencia de Escherichia coli a diferentes líneas celulares
- 4) Hemaglutinación empleando eritrocitos del grupo A (humanos)
- 5) Correlación entre la presencia de factores de adherencia y el número de microorganismos identificados por urocultivo.

## HIPOTESIS

Sí Escherichia coli, es la bacteria más frecuentemente aislada de infecciones del tracto urinario, y recuentos superiores a 100,000 unidades formadoras de colonias por mililitro de orina (UFC/ml de orina) indican una infección del tracto urinario, es de considerarse, que además de existir trastornos estructurales y fisiológicos en el paciente, la bacteria debe de presentar características especiales, para colonizar y posteriormente producir daño al hospedero.

### 1.1 GENERALIDADES DE ESCHERICHIA COLI;

Escherichia coli, es un bacilo gram negativo aerobio o anaerobio facultativo, que constituye parte importante de la flora normal del intestino humano. Está presente principalmente a nivel del colon y coloniza a éste poco después que el individuo nace. Se puede comportar como patógeno o sea, que es capaz de producir enfermedades importantes, tanto en el hombre como en los animales. Es una bacteria móvil mediante flagelos peritricos, las cepas lisas forman colonias incoloras convexas y brillantes, pero cuando son cultivadas repetidamente se convierten en cepas rugosas, que forman colonias granulares y opacas. Las variantes encapsuladas producen colonias mucoides, sobre todo cuando son incubadas a bajas temperaturas y en medios con baja concentración de nitrógeno y fósforo y a elevadas concentraciones de hidratos de carbono (12).

Las colonias típicas de E. coli, son reconocidas por su aspecto en ciertos medios diferenciales: Las colonias sobre agar nutritivo pueden ser lisas, débilmente convexas, húmedas, semitransparentes, de bordes definidos, grises y se disuelven fácilmente en solución salina; o también pueden ser rugosas, secas y tienden a aglutinar espontáneamente en solución salina (12, 32).

En caldo, el crecimiento se observa por un enturbiamiento difuso con formación de sedimento, el cual desaparece completamente al agitar (formas lisas); en cambio las formas rugosas hacen que se forme un sobrenadante claro y un depósito granular el cual no se desintegra completamente por agitación.

En placas de agar-gelosa sangre las colonias son poco elevadas convexas, lisas, blancas y brillantes; entre 12 y 24 horas, alcanzan un tamaño de 2 a 3 mm algunas cepas producen B-hemólisis y desarrollan rápidamente entre 18-24 horas en todos los medios usuales a temperaturas que varían entre 20° y 40°C.

Producen ácido y gas en la fermentación de una gran cantidad de hidratos de carbono, el ácido formado en dicha fermentación es principalmente ácido láctico, con pequeñas cantidades de ácido fórmico y acético. Se producen bióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) e hidrógeno (H<sub>2</sub>) en cantidades aproximadamente iguales.

Los cultivos de colibacilos se caracterizan por un olor fétido, semejante al de las heces diluídas, fermentan la lactosa y presentan brillos metálicos; aunque algunas cepas de E. coli fermentan la lactosa tardíamente o no lo hacen (32, 12).

El poder de síntesis de E. coli es tal, que los bacilos crecen en un medio compuesto por sales inorgánicas, una sal amoniacal y glucosa.

El género Escherichia se integra de bacilos móviles e inmóviles, las cepas móviles poseen flagelos peritricos, son gram negativos y pertenecen a la Familia Enterobacteriaceae. Escherichia coli es un bacilo grueso, corto de 0,4 a 0,7 micras de grosor y de 1 a 3 micras de longitud variando de forma coccoida a larga, se pueden presentar en pares o cadenas cortas, son facultativos no forman esporas y normalmente son capsulados, pero hay algu

nas cepas que desarrollan cápsula o microcápsula.

Escherichia coli posee tres grupos de antígenos y uno que es común para todas las enterobacterias. La proteína flagelar -- (Antígeno H) es serológicamente distinta en las diversas cepas, -- dentro de la misma especie. El antígeno K (proteína o polisacáridos de envoltura), puede enmascarar al antígeno polisacárido O, -- somático estructural que constituye parte integral de la pared celular. Se han identificado aproximadamente 150 antígenos "O" mediante reacciones de aglutinación, 50 antígenos "H" y más de 90 -- antígenos K.

La mayoría de las cepas de E. coli, no son patógenas en el intestino, y se considera que las cepas productoras de enterotoxinas son de gran importancia clínica en el hombre, debido a su comportamiento como agente patógeno oportunista, causante de infecciones en sangre, heridas y tracto urinario (12, 32).

Los colibacilos fermentativos son la causa más frecuente -- de septicemias hospitalarias. Aproximadamente de un 60-90 % de -- los casos se debe a E. coli, o al grupo Klebsiella-Enterobacter-Serratia aproximadamente en un 10% (48, 36, 28).

E. coli, constituye la causa más frecuente de infecciones urinarias que afectan la vejiga, Klebsiella a menudo resulta más virulenta que E. coli, Enterobacter y Serratia, afectan generalmente el sistema urinario a través de instrumentación (exploración quirúrgica). Los microorganismos coliformes también son res

ponsables de neumonias.

Las vías de infección al tracto urinario, pueden ser por desplazamiento del organismo al conducto intestinal, tracto urinario y a los riñones por vía hematógica, linfática o ascendente, desde la uretra, vejiga, ureteres y riñón (12, 13, 15, 37).

El tracto urinario normal se halla generalmente libre de bacterias, aunque en las mujeres, la bacteriuria asintomática sea relativamente frecuente. Cuando el recuento bacteriano en orina es mayor de 100,000 unidades formadoras de colonias por mililitro (UFC/ml), debe sospecharse la presencia de un proceso bacteriano urinario, el cual afecta principalmente a lactantes, mujeres embarazadas y a pacientes con lesiones obstructivas del tracto urinario o a procesos neurológicos que afectan la micción (12, 12, 48, 28).

Ciertas cepas de E. coli enteropatógenas, incluyen aproximadamente 14 tipos antigénicos diferentes y están implicados en procesos diarreicos, con dos mecanismos patogénicos distintos.

La invasión de algunas cepas de E. coli, facilitó que penetren al epitelio intestinal y produzcan un síndrome parecido al de la disentería bacilar (colitis). Otras, liberan una enterotoxina termolábil de gran potencia, actuando a nivel de la porción superior del intestino delgado, apareciendo un proceso patológico cuando lo colonizan. La producción de la enterotoxina, es debida a la acción de un plásmido transmisible (32, 12).

## 1.2 DEFINICION DE INFECCION DE VIAS URINARIAS (IVU);

La infección de vías urinarias puede ser definida como la presencia de microorganismos, generalmente bacterianos y su consiguiente reproducción en riñón y/o vías urinarias.

## 1.3 IMPORTANCIA CLINICA:

Las infecciones bacterianas del tracto urinario, afectan a personas de todas las edades y de ambos sexos, variando en gravedad desde las que pasan inadvertidas hasta las que comprometen seriamente e todo el organismo, aunque su incidencia es elevada en lactantes, principalmente varones en el primer año de vida, donde se presenta 10 veces más frecuentemente que en la mujer de la misma edad, siendo igualmente alta durante la vida sexual activa en la mujer, en el embarazo y en varones mayores de 50 años (13, 15).

La frecuencia de infección de vías urinarias a nivel mun---dial es variable. En Estados Unidos ocupa el segundo lugar como - causa de enfermedad, en tanto que en América Latina, las estadísticas varían de acuerdo a los autores y a las instituciones (48).

La presencia de bacterias en la orina, también conocidas como bacteriuria, es signo de infección, siendo la orina un excelente medio de cultivo para los gérmenes patógenos comunes de las -vías urinarias, en donde se multiplican extraordinariamente superando a veces el millón de bacterias por mililitro. (48, 12, 32).

La infección urinaria es la nefropatía más común y como infección ocupa el tercer lugar después de las enfermedades del árbol respiratorio y digestivo. Las infecciones de vías urinarias pertenecen al grupo de los procesos infecciosos más frecuentes de la patología médica y su importancia radica en el daño que pueden ocasionar sobre la función renal, involucrando sólo un sitio como la uretra (uretritis), próstata (prostatitis), vejiga (cistitis), ureteros (ureteritis), riñones (pielonefritis); aunque frecuentemente afectan a más de una región de éste sistema, como es el caso de la uretra y vejiga (uretritis); ureteres, pelvis y parénquima renal (uretropielonefritis).

La pielonefritis y las infecciones acompañantes del tracto urinario son causas frecuentes de insuficiencia renal y producen una considerable morbilidad, sobre todo en adolescentes; y son -- una complicación frecuente durante el embarazo y cuando se aso-- cian a lesiones estructurales o neurológicas del tracto urinario a cualquier edad originan a menudo incapacidad severa y muerte.

La sepsis bacteriana por bacilos gram negativos, asociados a los problemas derivados de la colocación prolongada de un cate- ter urinario, alcanzan enormes proporciones en hospitales y en- tre enfermos crónicos. Por lo tanto, uno de los problemas más importantes con respecto a la infección de vías urinarias, es deter- minar qué tan frecuentemente las infecciones asintomáticas origi- nan infecciones sintomáticas, y en qué medida las infecciones --- asintomáticas representan la parte oculta que es responsable de -

la alta morbilidad, y quizá también de la frecuente mortalidad -- por enfermedad de vías urinarias (21, 28)

#### 1.4 FACTORES PREDISPONENTES:

La presencia de factores predisponentes en la patogénesis de las enfermedades urinarias, facilitan la aparición de la infección urinaria, y por tanto, es más factible la presencia de malformaciones congénitas urinarias. Los principales factores predisponentes son:

- a) Edad y sexo
- b) Embarazo
- c) Bacteriuria en el varón
- d) Obstrucciones urinarias
- e) Reflujo vesicouretral
- f) Instrumentación o sondeos urinarios (endoscopía)
- g) Infecciones genitales
- h) Coito
- i) Enfermedades metabólicas (Diabetes mellitus)
- j) Hábitos higiénicos inadecuados

(21, 11, 40, 36, 13, 15, 28, 7, 8).

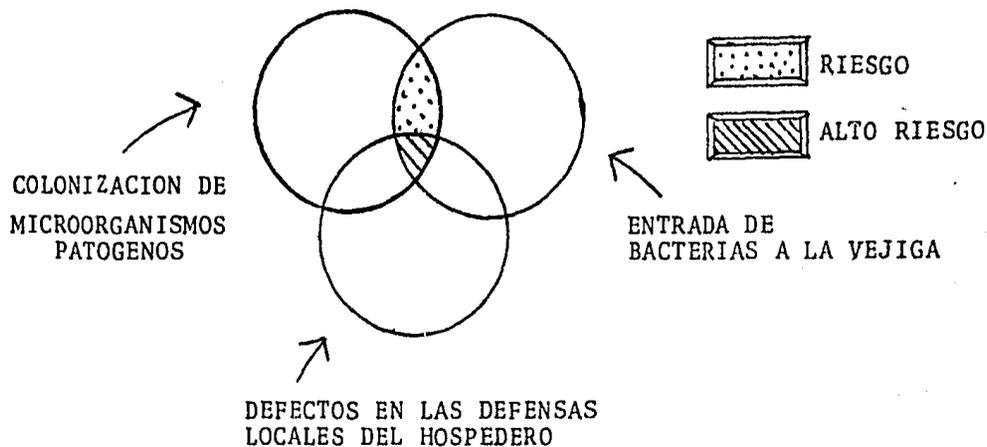
#### 1.5 CAUSAS Y VIAS DE INFECCION

Las enterobacterias son por lo general la causa de infecciones iniciales en la parte baja del tracto urinario. La primera etapa en el desarrollo de la infección del tracto urinario, es la entrada de microorganismos uropatógenos en la uretra, princi-

palmente E. coli.

Las causas de la alta frecuencia de infección del tracto urinario de la mujer, son debidas como ya se mencionó antes a que la uretra femenina es más corta, que los conductos de las vías digestivas y urogenitales están muy próximos uno del otro, por lo cual conducen frecuentemente a una contaminación. La susceptibilidad a la colonización es la base de una predisposición biológica de una infección recurrente, donde la susceptibilidad del hospedero incrementa la densidad de los sitios del receptor (13, 15, 48, 28, 47, 37, 14).

En diversos estudios se ha encontrado que no hay diferencia en los niveles de Inmunoglobulinas A y G, en secreciones cervicovaginales entre mujeres propensas a infecciones y mujeres que no tienen infección del tracto urinario. La relación sexual es uno de los principales factores en la entrada de bacterias en la vejiga provocando un estado autolimitado de colonización de la vejiga. (26, 19, 13, 15, 37, 47).



La infección por vía ascendente, es responsable de la gran mayoría de las infecciones del tracto urinario y la colonización en la región periuretral principalmente por E. coli.

La infección del tracto urinario en niños es muy importante, porque su ocurrencia puede estar asociada con algunas anomalías congénitas en el tracto urinario o por algún error en el manejo de instrumentación. Las bacterias ascienden por el tracto urinario por simple movimiento browniano y pueden llegar al riñón sin que exista una alteración del flujo urinario. Otra vía de infección hasta el riñón es mediante vasos linfáticos (vía linfática). La vía hematogena es menos frecuente que la ascendente, pero también es importante.

La vía ascendente es usada por microorganismos que provienen de la parte inferior del tracto, introduciéndose por el meato urinario, que está expuesto a las evacuaciones vaginales y/o rectales, iniciándose la infección en la parte inferior del tracto urinario, ascendiendo luego a la vejiga y ureteros hasta llegar a los riñones.

Los microorganismos que infectan mediante esta vía proceden de:

- flora habitual de la uretra anterior
- flora habitual de la zona prepucial (siendo muy abundante en individuos no circuncidados).
- flora habitual de la región vulvo vaginal
- contaminación fecal (13, 15, 17).

La capacidad de los microorganismos, para adherirse a las células epiteliales de la vejiga, tiene una gran importancia en la colonización inicial en la mucosa de la vejiga. La incidencia de infección del tracto urinario en la primera infancia es mayor en niños, que en niñas, debido a la disminución de la resistencia a la infección, del vaciamiento incompleto de la vejiga y a la incidencia de anomalías estructurales. La circuncisión puede reducir el grado de contaminación y así, disminuir la posibilidad del ascenso bacteriano en la vejiga. La infección del tracto urinario es mayor en niños no circuncidados que en los niños que tienen circuncisión, aunque existe una controversia de que la circuncisión no previene la infección del tracto urinario.

Los recién nacidos pueden infectarse en el momento del alumbramiento de las madres que presentan bacteriuria y así, los niños pueden presentar bacteriuria en el prepucio y las niñas en el perineo.

Dentro de los factores de virulencia bacteriana se incluyen la producción de hemolisinas, resistencia a la actividad del suero, la alta cantidad de antígeno K y la capacidad para adherirse a células uroepiteliales (26, 19, 36, 28, 47).

#### 1.6 SINTOMATOLOGIA DE INFECCION DE VIAS URINARIAS;

Los síntomas de una infección urinaria son: Disuria, oliguria, polaquiuria, en ocasiones urgencia para la micción, tenesmo vesical, orina fétida y turbia, hematuria, dolor en flanco o su-

prapúbico y fiebre, constituye la posibilidad de una implicación renal aunque la presencia de síntomas de vejiga irritable sólo hacen pensar en cistitis, aunque estos síntomas sugieran infección del tracto urinario, pueden también resultar de una irritación -- uretral no específica o vulvovaginitis, y aún así no tener <sup>N</sup> infección urinaria.

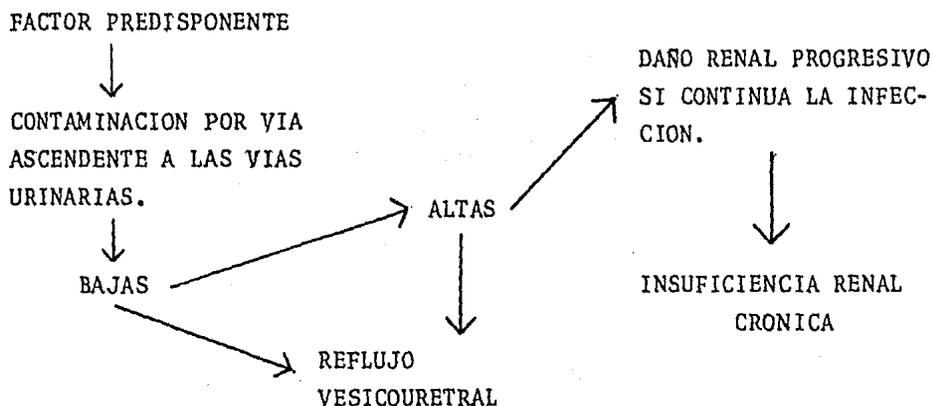
En recién nacidos, lactantes y niños menores de 5 años de edad frecuentemente son asintomáticos de infección de vías urinarias, por lo cual, estos forman un grupo altamente riesgoso, por incurrir en el daño renal de infección de vías urinarias. En estos niños la sospecha diagnóstica puede basarse en datos totalmente inespecíficos como: pérdida de peso, trastornos en el crecimiento y desarrollo, vómito, diarreas frecuentes, fiebre inexplicable, o en algunos casos, cuando la madre es observadora y detecta algún trastorno miccional, como el llamado transmiccional, polaquiuria, orina fétida, anorexia, palidez, etc.

En el pre-escolar y escolar, los síntomas orientan al árbol urinario como: Disuria, polaquiuria, enuresis secundaria, hematuria, orinas de mal olor y ocasionalmente dolor lumbar.

Estos síntomas se presentan también en el síndrome ure---tral, síndrome disúrico o abacteriuria sintomática, que corresponde a infecciones de la uretra, glándulas adyacentes y vaginitis. Así podemos observar que las manifestaciones clínicas de la infección del tracto urinario varían de acuerdo con la edad. (48, 36, 28, 47, 51, 37, 14).

Las complicaciones de infección del tracto urinario son --  
pielonefritis, hipoplasia renal secundaria, glomerulonefritis pro  
gresivo y nefritis tubulointerstitial (13, 15):

FISIOPATOLOGIA DE INFECCION DEL TRACTO URINARIO:



## C A P I T U L O    I I

### ANTECEDENTES EN LA PATOGENESIS DE VIAS URINARIAS

#### 2.1 ANATOMIA Y FISIOLOGIA DEL SISTEMA URINARIO;

Está constituido por: riñones, vejiga urinaria, uretra y ureteres. Su función principal es la formación y eliminación de orina, que es una solución acuosa, de productos de desecho metabólico y de otros compuestos, que son potencialmente tóxicos para el mantenimiento de la homeostasis. Esta función es llevada a cabo por los procesos de:

- a) La filtración de los desechos metabólicos, eliminándolos del organismo.
- b) Regulación del equilibrio hídrico.
- c) Regulación del equilibrio ácido-base de la sangre.

Como parte de la función del sistema urinario, la orina se secretada continuamente por los riñones, es conducida por los ureteres a la vejiga urinaria, donde es almacenada hasta el momento de la evacuación a través de la uretra.

#### 2.2 ETIOLOGIA Y ETIOPATOGENIA DE ITU:

ETIOLOGIA DE ITU: La iniciación del evento en ITU, es la adherencia entre la bacteria y las células epiteliales. Por medio de los factores de adherencia, las bacterias tienen un incremento potencial para causar pielonefritis, donde el microorganismo es responsable de una simple cistitis o bacteriuria asintomática. De

una manera similar, las células epiteliales del hospedero varían en su habilidad para unir los organismos patógenos y hacer más resistente la ITU (48, 11, 36, 13, 15).

Han sido identificados varios factores de virulencia bacteriana, sin embargo, los factores de resistencia del hospedero son los más importantes. Cox y Hinman demostraron que una vejiga urinaria normal, es decir, que nunca ha sufrido una ITU, es resistente a la primera infección. Urocultivos realizados a intervalos regulares y hasta de 72 horas, demostraban que no había infección, y que esto lo dan los factores de resistencia del hospedero.

La etiología de ITU es de un 85% de organismo Gram negativos (E. coli Pseudomonas sp, Klebsiella sp y Proteus sp) y de un 15% de otros microorganismos.

ETIOPATOGENIA: El agente etiológico más frecuentemente -- aislado en aproximadamente el 80% de los urocultivos es Escherichia coli, le siguen en orden de importancia: Klebsiella pneumoniae, Pseudomonas aeruginosa, y Proteus mirabilis, los gérmenes gram positivos son raros a excepción de Streptococcus faecalis - (Enterococo) (51, 11, 36, 47)

Los microorganismos que se encuentran más comunmente en el tracto urinario son los siguientes: (13, 15, 12, 4, 32).

<u>MICROORGANISMOS</u>	<u>FLORA PATOGENA</u>	<u>FLORA NO PATOGENA</u>
GRAM POSITIVOS	<ul style="list-style-type: none"> <li>- <u>Stáphylococcus aureus</u></li> <li>- <u>S. coagulasa negativa</u></li> <li>- <u>Streptococcus hemolíticos</u></li> <li>- <u>Streptococcus faecalis</u> (Enterococos)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- <u>S. coagulasa positiva</u></li> <li>- Bacilos difteroides</li> <li>- Enterococos</li> <li>- Lactobacilos</li> <li>- Streptococcus hemolíticos</li> <li>- <u>Bacillus</u> sp.</li> </ul>
GRAM NEGATIVOS	<ul style="list-style-type: none"> <li>- <u>Escherichia coli</u></li> <li>- <u>Klebsiella</u> sp.</li> <li>- <u>Enterobacter</u> sp.</li> <li>- <u>Serratia</u> sp.</li> <li>- <u>Proteus mirabilis</u></li> <li>- <u>Proteus</u> sp.</li> <li>- <u>Providencia</u> sp.</li> <li>- <u>Morganella morgani</u></li> <li>- <u>Pseudomonas aeruginosa</u></li> <li>- <u>Salmonella</u> sp.</li> <li>- <u>Shigella</u> sp.</li> <li>- <u>Neiseria gonorrhoeae</u></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Bacilos coliformes</li> <li>- <u>Proteus</u> sp.</li> </ul>
HONGOS	<ul style="list-style-type: none"> <li>- <u>Cándida albicans</u></li> <li>- <u>Torulopsis glabrata</u></li> <li>- Otras Levaduras</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Levadura saprófitas</li> </ul>
BAAR	<ul style="list-style-type: none"> <li>- <u>Mycobacterium tuberculosis</u> y otras microbacterias.</li> </ul>	

### 2.3 HISTORIA DE INFECCIONES DE VIAS URINARIAS POR E. coli:

Las descripciones clínicas y tratamiento de las enfermedades de vías urinarias, precedieron al descubrimiento de las bacterias en varios siglos. La colección Hearst de Papiros Médicos -- (1550 A.C.) hace referencia a remedios para padecimientos como: "orina excesiva" y "el envío de calor a partir de la vejiga". En el Egipto antiguo los remedios para estas enfermedades contenían goma (resinas), miel, cassia (tipo de canela silvestre) y pepino; como vehículo para estos medicamentos se utilizaba: agua, vino, - cerveza (en la cual quizá, su eficiencia se debía al efecto de tener un flujo elevado) más que a los supuestos agentes activos.

La medicina Talmítica, hace poca referencia a las enfermedades de vías urinarias; se creía que la uretra masculina, estaba constituida por dos canales, de los cuales uno era para la orina y el otro para el semen. El flujo uretral se consideraba muy importante; ya que "si se presentaba una secreción clara o turbia, al inicio del flujo urinario, entonces este conducto estaba limpio; y si se presentaba la secreción turbia a la mitad o al final del flujo urinario, entonces el conducto estaba sucio" (2), esto es, entonces el inicio de la colección fraccionada de orina, o la prueba de los tres recipientes, que se realiza actualmente para el diagnóstico de las secreciones uretrales, y quizá sea, la primera mención en relación a la importancia de la recolección del chorro medio de orina en infección de vías urinarias.

En Gran Bretaña los síntomas de las enfermedades de las --

vías urinarias se definieron hasta 500 años después. John de Arderne, en 1412 hablaba de síntomas tales como dolor en los riñones, hematuria y orina caliente. Nicolás Culpepper en su libro "Astrological Judgements", en 1665 escribía sobre "El cuadro para el Tratamiento para las orinas"; dándole importancia a la orina interminable, orina con sangre, inflamación de los riñones, inflamación de la vejiga y la diferencia entre los síntomas de vías urinarias superiores y síntomas de vías urinarias inferiores (2).

Pasteur en 1863 observaba que la orina humana, era un buen medio de cultivo; y en 1881 Roberts, encontró una relación, entre el hallazgo de bacterias en la cistitis, después de una cateterización, para cortar el cálculo, describiendo la presencia de bacterias en forma de bastón en la orina (3).

En 1894 el Pediatra Escherich de Munich, quien anteriormente había aislado al microorganismo el cual lleva su nombre, en la flora fecal de lactantes, identificó también al microorganismo en la orina de niños con cistitis. Continuaron los debates acerca de la ruta que siguen los microorganismos fecales, para entrar a las vías urinarias, ya sea por extensión directa, vía hematógena o linfática o por ruta ascendente, como se conoce actualmente (43).

El trabajo más reciente de Kass en 1956, permitió reconocer infecciones aparentemente asintomáticas en poblaciones sanas, dando un gran ímpetu a los estudios longitudinales de la historia natural de las infecciones de vías urinarias y su relación con las enfermedades sintomáticas así como las de daño renal. Por

otro lado, el tratamiento antibacteriano, se realizó por primera vez en 1894, por Nicolair, que introdujo la Hexametilenotetramia, este compuesto a pH bajo libera formaldehído y la combinación de la acidificación con la hexamina curaba infecciones de vías urinarias en algunos pacientes (27).

El Doctor Rosenheim en 1975 (44), administró ácidos orgánicos a pacientes con ITU, encontrando que el ácido mandélico posee una excelente actividad bactericida sobre todo a pH urinario bajo y que se secreta sin cambios en la orina. Actualmente la investigación de antibacterianos como el Trimetoprim, ácido nalidixico, nitrofurantoina, penicilinas, cefalosporinas y aminoglucósidos -- son de gran importancia médica y para la industria farmacéutica, ya que con esto se redujo la mortalidad de las infecciones de -- vías urinarias, aunque aún no son erradicadas totalmente, y así -- una ITU aguda puede controlarse, pero las crónicas y sus conse--- cuencias pueden ocasionar la muerte (22).

Entre los componentes bacterianos, que participan en la generación del cuadro clínico, están: los apéndices filamentosos -- cortos que además del flagelo fueron observados por primera vez -- por Anderson y Howink en 1949; Posteriormente Deguid y sus colaboradores (1955), Deguid y Gilles (1956-1958) y Deguid y Wright -- (1959) nombrándoles fimbrias; estudios posteriores demostraron su morfología, tamaño, número por células y dirección (26, 19).

Entre (1955-1957), Deguid y sus col. mostraron que la fimbria sufría, en cultivo una variación entre formas fimbriadas y -

no fimbriadas, y que esta variación, podía ser controlada por las condiciones del cultivo. Estudios posteriores por estos mismos - autores, encontraron que la adherencia y hemaglutinación, está -- asociada con las células fimbriadas, y que éstas a la vez mostraban inhibición de adherencia, al agregar D-manosa (manosa sensiti va MS) y (manosa resistente MR) a las que no inhibían la adherencia, ni aglutinaban eritrocitos. Posteriormente mostraron que la fimbriación, interfería con la aglutinación del Antígeno "C".

En 1966 Deguid y col., caracterizaron seis tipos de fim-- brias, para la Familia Enterobacteriaceae, las cuales difieren só lo en ciertas características, como no causar hemaglutinación. - Posteriormente define una séptima fimbria llamada (F) Factor de - Fortilidad (19).

## C A P I T U L O III

## MARCO TEORICO

## 3.1. ADHERENCIA.

La adherencia es probablemente un evento inicial, en la colonización de un hábitat por especies bacterianas; los recursos y vías por las cuales una bacteria se adhiere a una superficie animal o vegetal depende de varios factores. (24,46,25, 8,46,29)

La mayoría de los cultivos de E. coli. producen la fimbria tipo 1, asociada a la adherencia y se encuentran alrededor de 400 fimbrias en disposición peritrica, midiendo aproximadamente  $70 \text{ \AA}$  de diámetro y 2 mm de largo. La fimbria tipo 1 confiere a la célula bacteriana, la habilidad para crecer como -- una película en la superficie de caldos de cultivo estáticos y de adherirse a una gran variedad de células animales y vegetales. (26,19)

El carbohidrato D-manosa inhibe la actividad adherente y la habilidad de formar la película de la fimbria tipo 1, la cual es producida por organismos saprófitos (E. aerógenes), -- comensales (E. coli) y patógenos (Salmonella). (19,18,10)

Bajo ciertas condiciones, cuando el oxígeno disponible es limitado, la bacteria fimbriada rápidamente, sufre una variación de fase de fimbriada a no fimbriada quizá debido a un crecimiento secundario de fases a la actividad respiratoria y

fimbriación, las cuales, son características no relacionadas. Es probable que el incremento de la actividad oxidativa de la bacteria fimbriada, sea el resultado de la formación de la película y la localización de un medio rico en oxígeno. (18)

Otro tipo de fimbria, es el Factor Antigénico de Colonización (FAC), que en cepas de E. coli, miden aproximadamente - de 80 a 90 Å de diámetro. Promueven la colonización de la bacteria a células animales y aislando la fimbria causa hemaglutinación manosa resistente (HAMR) en eritrocitos humanos. El -- CFA es similar en función al antígeno K88 y otras adhesinas de E. coli. (26,19,30).

Las adhesinas y hemaglutininas fibrilares son producidas por algunas cepas de E. coli y causan hemaglutinación manosa -- resistente, como por ejemplo las adhesinas K88 y K99.

Las hemaglutininas K88, son sensibles a la temperatura y resistentes a la manosa; donde la adherencia ocurre a temperaturas mayores de 37°C.

El antígeno K99, tiene propiedades adhesivas no fimbriadas, su función es similar al antígeno K88, aunque ambas adhesinas difieran antigénicamente, en el rango y especificidad de -- sus actividades adherentes. (23,19)

La superficie de las células de E. coli, está cubierta con sustancias capaces de provocar reacciones inmunológicas, - las cuales son comunmente utilizadas para la clasificación serológica de cepas patógenas y no patógenas. Los antígenos de superficie incluyen sustancias como las adhesinas, las cuales, son responsables de la adherencia a células epiteliales. -- Además de estos antígenos de superficie, los antígenos más comunes de E. coli son:

- Antígeno "O" (somático): constituido por complejos de fosfolípidos y polisacáridos, es termoestable y son resistentes - al alcohol y ácidos diluidos.
  
- Antígeno "H" (flagelar): Termolábil de tipo proteico.
  
- Antígeno "K" (capsular): Constituido por polisacáridos.

Los tres tipos de antígenos son inactivados a temperaturas de 100-121°C. (12,19,26,41)

La mayoría de las cepas de E. coli, patógenas y no patógenas, producen la fimbria tipo 1, la cual facilita la adherencia bacteriana a una gran variedad de células eucariotes como (eritrocitos de varias especies animales, leucocitos, células epiteliales tanto de vegetales como de animales). (9,18,8).

Las propiedades adherentes contribuyen a la patogenicidad de la bacteria; y la producción de adhesinas es generalmente una función de las condiciones de cultivo como la temperatura, tipo de cepa, concentración bacteriana inoculada al medio y composición química del mismo. (52,25,17,31,50)

El antígeno CFA 1, de tipo protéico, tiene un peso molecular de 15,058 Daltons determinado por electrofóresis, y se encuentra codificado por plásmidos transmisibles. (30,19,5)

Las características de superficie de la célula bacteriana, tales como cargas negativas e hidrofobicidad, están relacionadas con la adherencia. (26,19)

La unión de la bacteria a la membrana del fagocito es un paso fundamental para la activación de mecanismos bactericidas. La sobrevivencia y propagación de la bacteria en tejidos infectados son determinados, en parte, por la resistencia de la bacteria a la eliminación por células fagocíticas. La especificidad del receptor de adhesinas bacterianas, puede determinar la activación de los fagocitos y linfocitos. (49)

La presencia de la fimbria, es detectada por la habilidad de la bacteria para aglutinar eritrocitos humanos en presencia de D manosa causando hemaglutinación manosa sensitiva (HAMS), como es el caso de la fimbria tipo 1, la cual une los residuos de manosa, contenidos en la secreción urinaria y por

lo cual, son detectados por aglutinación manosa sensitiva. - Esta fimbria, presente en la mayoría de las cepas de E. coli tiene una gran variedad de receptores con diferentes propiedades serológicas de células eucarióticas, aunque su importancia en la patogénesis de enfermedades infecciosas no es muy clara (1,52)

Existen otras fimbrias, presentes en bacterias causantes de enfermedades infecciosas como: K99, K88, CFA I, CFA II, Antígeno S, Antígeno M de cepas de E. coli enterotoxigénicas y la fimbria P, característica de cepas de E. coli asociada a la pielonefritis. Todas éstas fimbrias causan HAMR, debido a la presencia de anticuerpos antihemaglutinantes en el suero. La mayoría de las cepas patogénicas de E. coli en la pielonefritis, pueden expresar varios tipos de fimbrias y una rápida variación de fase. La fimbria P, pertenece a los serogrupos 02, 04 y 06. (50,34,39,31,41)

Genéticamente hablando, la adherencia de la fimbria P y HAMR, se encuentran relacionadas con el operon PAP, los genes que codifican la fimbria, se encuentran en el cromosoma y presentan más de una copia del operon PAP. (19,24,25,23,52)

El receptor del eritrocito responsable de la adherencia de E. coli con un FAC/I, es un sialogliconjugado aislado de la membrana del eritrocito, por lo cual, inhibe la reacción de hemaglutinación en cepas de H10407 (078:H11:FAC/I).

- La cepa ETEC H10407 (078:H11:FAC/I) causa HAMR en eritrocitos hum. Tipo A
- La cepa ETEC H10407P (078:H11:FAC/I) causa HAMS en erit. hum. tipo A

Los múltiples pilis polipeptídicos se pueden demostrar usando electroforesis en geles de poliacrilamida duodecil sulfato de sodio (SDS-PAGE) ó por inmunofluorescencia. (5,20,30)

### 3.2. HEMAGLUTINACION

La hemaglutinación, fué la primera manifestación observada de las propiedades adherentes de bacterias entéricas fimbriadas. La mayoría de las cepas de E. coli, presentan un patrón similar de actividad hemaglutinante con eritrocitos de -- distintas especies animales. (17,30,35,23,26,19,52,20)

La hemaglutinación manosa sensitiva (HAMS), puede pre-- sentar una variación de fase con la fimbria tipo 1. (10)

La fimbriación está relacionada, con la formación de -- una película en la superficie de medios líquidos. Una de las características de las células fimbriadas, es su poder para -- aglutinar eritrocitos de varias especies animales. (52,18)

Hay dos tipos de adhesinas o hemaglutininas de las célu las fimbriadas:

-HAMS (hemaglutinación manosa sensitiva), en la cual, la adhesina puede inhibirse por la presencia de una pequeña cantidad de D-manosa.

-HAMR (Hemaglutinación manosa resistente), en la cual, la adhesina no es inhibida por la D-manosa. (45,19,35,17,46)

La actividad hemaglutinante de las células fimbriadas, probablemente es el método más práctico para determinar la presencia de la fimbria.

Las sustancias más frecuentemente examinadas en actividades inhibitorias, son algunas proteínas, glicoproteínas y a su constituyente monosacárido u oligosacárido, glicósidos, esteroides y fosfolípidos.

Los receptores son carbohidratos, glicoproteínas y lípidos. Las adhesinas que interactúan con los carbohidratos receptores son la fimbria tipo 1 y el antígeno K88. Las propiedades adherentes de la fimbria tipo 1, son inhibidas por la D-manosa; que es un carbohidrato que inhibe la adherencia, hemaglutinación y la formación de la película de la fimbria tipo 1. Este evento de inhibición depende de la estereoquímica de la D-manopiranosas. La inhibición es competitiva, ya que, compete con las uniones de receptores animales y fimbrias bacterianas, aunque la D-manosa es un componente de los heterosacáridos de superficie de los eritrocitos. (26,23,19,52)

Las cepas fimbriadas de E. coli, tienen una movilidad electroforética más baja, que las cepas no fimbriadas. Esta baja densidad de cargas negativas en la superficie de las cepas fimbriadas, crea una superficie hidrofóbica en la superficie bacteriana, característica, que es también observada en otros miembros de la Familia Enterobacteriaceae.

### 3.3. COMPOSICION QUIMICA DE LAS ADHESINAS

Las condiciones de cultivo influyen en la producción de adhesinas, o a que, la bacteria sea menos adherente, ya que, las adhesinas o hemaglutininas, pueden ser perdidas por la influencia de las condiciones físicas y químicas del cultivo.

La superficie de la célula eucariótica presenta una doble capa lipídica, proteínas y carbohidratos en la membrana.

Las regiones hidrofílicas externas de la bicapa lipídica, son sitios obvios para la adherencia de adhesinas bacterianas. La mayoría de las proteínas de la membrana de los eritrocitos son glicoproteínas y así las adhesinas, pueden actuar con las partes expuestas de éstas adhesinas. La superficie celular heterosacárida, actúa como receptor para las adhesinas bacterianas, ya que, son receptores específicos para determinadas adhesinas específicas. (26,19,35)

La forma y radio de curvatura pequeño de los apéndices adhesivos reducen las fuerzas de repulsión entre la célula - -

eucarionte y la célula bacteriana.

Similarmente las adhesinas pueden tener una superficie de carga reducida, comparada con la de la célula bacteriana. - La adherencia en la superficie podría estar influenciada por la forma de la célula epitelial, la carga y la tensión intersuperficial generada entre ella y el medio ambiente.

Los componentes de superficie de las células eucariontes funcionan como sitios de receptor de las adhesinas, además de que las cadenas de carbohidratos son componentes esenciales -- para éstos receptores que se encuentran distribuidos en la superficie de las células eucariotes.

Las adhesinas están compuestas químicamente por:

100% de proteínas, 90% de aminoácidos, menos del 0.6% de ácidos nucleicos y el resto está formado principalmente de material de la pared celular (lípidos y cenizas inorgánicas).  
(26,19)

La síntesis de adhesinas es óptima cuando las cepas son crecidas en un medio mínimo esencial, con lo cual, cuando el medio es complejo, éste puede contener sustancias que pueden inhibir la producción de adhesinas, éstos factores pueden regular el número o tamaño de adhesinas o fimbrias por célula.

La estructura de las adhesinas, no implica que éstas - sean capaces de intervenir en la interacción entre la bacteria y el tipo de célula epitelial, ya que cada adhesina, exhibe -- una notable especificidad en el tejido "IN VIVO" del hospedero, ésta especificidad reside en la composición química de una --- adhesina particular y los componentes de superficie de las células epiteliales del hospedero.

La producción de las adhesinas, es afectada por condiciones medioambientales, como la temperatura y la composición química del cultivo el cual varía para determinados antígenos.

La presencia de la fimbria tipo 1, está correlacionada entre las adhesinas específicas del hospedero y el serotipo -- del patógeno y probablemente los determinantes que codifican para la síntesis de las adhesinas específicas del hospedero -- están localizados en plásmidos que a su vez codifican los factores de virulencia.

Otro factor muy importante que controla probablemente - la producción de la fimbria es la fase de variación en la fimbria tipo 1.

Toda esta información genética necesaria parece estar - organizada en 1 ó 2 operones que codifican para varios polipéptidos, lo cual son estudios a futuro por realizarse.

Los diferentes grados de inhibición de adherencia obtenidos en los distintos tipos de células, es debida a la pérdida de receptividad en la célula epitelial, ocasionado por tratamientos con tripsina y/o a la concentración del inóculo bacteriano, además de agregar una sustancia inhibidora de la adherencia.

## CAPITULO IV

## DESARROLLO EXPERIMENTAL

## 4.1 MATERIAL UTILIZADO

## 4.1.1 MATERIAL BIOLÓGICO:

- Orina de niños y niñas (pacientes del Instituto Nacional de Pediatría, INP).
- Células epiteliales de boca y orina
- Células de carcinoma laríngeo humano (Hep-2)
- Células de carcinoma vaginal humano (HeLa)
- Eritrocitos humanos del Grupo "A"
- Suero Fetal de Ternera al 1% (DIFCO)

## 4.1.2 MEDIOS DE CULTIVO:

- a) Medios para Aislamiento
  - Medio Mac Conkey (Merck)
  - Medio Tergitol (Merck)
  - Medio Sangre de Carnero
  - Medio Staphylococcus 110
- b) Medios para Identificación bioquímica:
  - Medio Rojo de Metilo Voges-Proskauer (Merck)
  - Medio Citrato de Simmons (BBL)
  - Medio Urea de Christensen (Merck)
  - Medio SIM (BBL)
  - Medio Kligler (Merck)

- Medio Gelatina Nutritiva (BBL)
- Medio OF base (BBL)
- Medio Fenil Alanina Deaminasa (BBL)

CARBOHIDRATOS:

- Glucosa
- Lactosa
- Maltosa
- Xilosa
- Sacarosa
- Trealosa
- Rafinosa
- L- ramnosa
- L- arabinosa
- D-sorbitol
- D-adonitol
- D-manosa
- Manitol
- Inositol

L-AMINOACIDOS al 1% para descarboxilasa base Moeller:

- Lisina
- Ornitina
- Arginina

c) Medio para la susceptibilidad antimicrobiana:

- Medio Mueller Hinton (Merck)

## d) Medio de Conservación:

- Medio Soya Tripticasa (Merck)

## 4.1.3 Antimicrobianos empleados:

- Acido nalidíxico (Nd)	30 ug/ml	(Bigaux)
- Ampicilina (A)	10 ug/ml	(Bigaux)
- Amikacina (Ak)	30 ug/ml	(Bigaux)
- Carbenicilina (b)	100 ug/ml	(Bigaux)
- Cefalosporina (Cf)	30 ug/ml	(Bigaux)
- Ceftriaxone (ctx)	30 ug/ml	(Bigaux)
- Cloramfenicol (CL)	30 ug/ml	(Bigaux)
- Estreptomina (Es)	20 ug/ml	(Bigaux)
- Furadantina (FDT)	30 ug/ml	(Bigaux)
- Fosfomicina (FOS)	50 ug/ml	(Bigaux)
- Gentamicina (Gm)	10 ug/ml	(Bigaux)
- Kanamicina (Ka)	10 ug/ml	(Bigaux)
- Netilmicina (NET)	30 ug/ml	(Bigaux)
- Penicilina (Pe)	10 ug/ml	(Bigaux)
- Polimixina (Px)	300 ug/ml	(Bigaux)
- Tetraciclina (Te)	10 ug/ml	(Bigaux)
- Trimetoprim-Sulfametoxazol	25 ug/ml	(Sheramex)

## 4.1.4 Soluciones:

- Solución salina PBS pH = 7.2
- Medio M-9 (sales)
- Amortiguador de fosfatos pH 7.2
- Solución salina isotónica 0.85%

**REACTIVOS:**

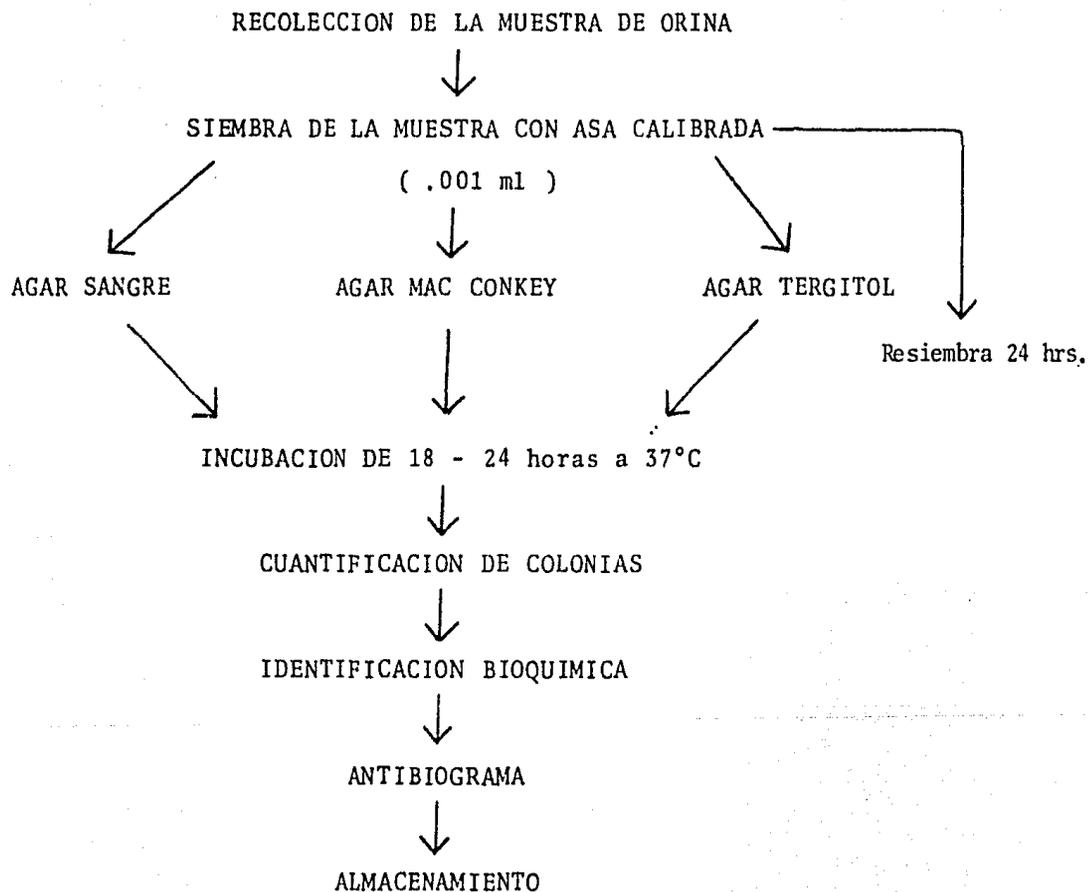
- Acido clorhídrico
- Alfa naftol
- Bicarbonato de sodio
- Cloruro de amonio
- Cloruro de potasio
- Cloruro de sodio
- Fosfato disódico
- Fosfato monopotásico
- Hidróxido de sodio
- Sulfato de sodio heptahidratado

**4.2 METODOLOGIA****4.2.1 Obtención procesamiento y aislamiento de un urocultivo:**

Se procesaron para urocultivos; 2572 muestras de orina provenientes de pacientes (niños y niñas) del Instituto Nacional de Pediatría (INP); siguiendo la técnica de urocultivo siguiente: Para una correcta recolección de la orina, se lavó perfectamente la zona periretral y el perineo con agua jabonosa enjuagando con solución salina isotónica o agua estéril. Durante la evacuación en el sexo femenino, se mantuvieron los labios separados recogiendo los primeros mililitros de orina en un orinal, a fin de eliminar por arrastre las bacterias de la uretra. Posteriormente se recogió el segundo chorro (porción media de la micción) en un recipiente estéril el que se tapó perfectamente para evitar una contaminación. No se excedió un límite mayor de 2 horas entre la recolección de -

la muestra y su envío al laboratorio para su procesamiento. Para el aislamiento de la muestra se tomó un inóculo de la orina sin centrifugar, con una asa de 4 mm de diámetro y de .001 ml de capacidad, y se sembró directamente en medios el de cultivo de agar - sangre, agar Mac Conkey y agar tergitol incubándolos durante --- 18-28 hrs. a 37°C. Posteriormente se realizó la cuantificación - del número de colonias en la placa y se multiplicaron por mil, para determinar el número de bacterias que existieron por mililitro de orina, siguiendo el Criterio de Kass.

En los urocultivos que no presentaron crecimiento en las - primeras 24 hrs. se incubaron otras 24 hrs. y si tampoco hubo de sarrollo se tomaron como urocultivos negativos (Esquema No. 1).

DIAGRAMA DE UN UROCULTIVO

Esquema No. 1

#### 4.2.2 Identificación bioquímica:

Para determinar la identificación bioquímica de las cepas se siguieron los criterios comunmente usados en bacteriología diagnóstica. Dentro de las bioquímicas de mayor porcentaje de seguridad para considerar que la cepa corresponde a Escherichia coli están las siguientes: aunque éstas no son las únicas bioquímicas que deben realizarse en la identificación de una cepa; ya que para poder clasificar a las cepas en género y especie, hay que realizar como un mínimo de 25 a 30 pruebas bioquímicas.

<u>PRUEBA BIOQUIMICA</u>	<u>REACCION</u>	<u>PORCENTAJE (%)</u>
Indol	+	90% o más
Rojo de Metilo	+	90% o más
Voges-Proskauer	-	90% o más
Citrato de Simmons	-	90% o más
Sulfuro de Hidrógeno (H <sub>2</sub> S)	-	90% o más
Ureasa	-	90% o más
Gas de glucosa	+	80 - 94.9%
Lactosa	-	80 - 94.9%
Caldo de Malonato	-	90% o más
Movilidad	+ -	70%
Lisina	-	80 - 90%
Orinitina	-	80 - 90%
Arginina	-	80 - 90%
Gelatina (22°C)	-	90% o más

#### 4.2.3 Sensibilidad Antimicrobiana

Las cepas aisladas e identificadas como causantes de infección fueron sometidas a la determinación de la sensibilidad frente a los antimicrobianos.

En un tubo de ensayo conteniendo 3 ml de caldo BHI (Infusión cerebro-corazón) se inoculó una asada de la cepa aislada y purificada incubándose durante tres horas a 37°C.

Posteriormente, se adjuntó la turbidez en el Mac Farland a 0.5% inoculando en una placa de agar Mueller Hinton con un hisopo estéril, aplicando una capa uniforme sobre la superficie, a continuación se colocaron los sensidiscos sobre la placa, en un número no mayor de 6.

Posteriormente, se incubaron durante 18-24 horas a 37°C, para establecer los resultados midiendo la zona de inhibición (mm) (Esquema No. 2).

Para realizar la sensibilidad antimicrobiana se realizó utilizando una cepa de Escherichia coli ATCC 25922 como control estándar.

Coincidiendo con el uso de antibióticos, al paso del tiempo han ido apareciendo cepas de bacterias resistentes a los mismos, cada vez en mayor proporción.

Los genes que codifican la resistencia pueden encontrarse ocasionalmente en el cromosoma bacteriano, siendo lo más común - que permanezcan a estructuras genéticas extracromosómicas más simples denominadas plásmidos o factores de resistencia (R), los que por lo general se expresan a través de mecanismo enzimáticos que inactivan o destruyen los antibióticos. No obstante que cada gen determina específicamente la resistencia para un sólo antibiótico, los plásmidos pueden poseer simultáneamente varios genes; mostran do con frecuencia resistencia múltiple; o bien, las bacterias pueden infectarse a la vez con diferentes factores (R), los cuales - se transmiten con relativa facilidad mediante la conjugación - - sexual entre diferentes especies bacterianas.

Cuando los microorganismos que poseen genes de resistencia son sometidos a la presión, o ataque de los antibióticos, seleccionan los mutantes resistentes pudiendo éstas llegar a predominar en las floras ya sea inócuas o patógenas, aumentando entonces las oportunidades de la transferencia de los factores R de unas - especies bacterianas a otras; en condiciones propicias, su propagación puede alcanzar proporciones alarmantes.

Se ha descrito una extensa variedad de plásmidos con distintos patrones de resistencia. Sin embargo, de todos los factores R encontrados en bacterias enteropatógenas, los que parecen - tener mayor importancia epidemiológica son aquellos que codifican la resistencia múltiple para cloranfenicol, estreptomycin, tetraciclinas y sulfonamidas. En estos factores están integrados los

cuatro genes que confieren resistencia, con el gen RTF (Factor de Transferencia de la Resistencia).

En México, al igual que en la mayoría de los países del -- Tercer Mundo, se conjugan los dos elementos que agravan el problema de la resistencia bacteriana y anulan en muchos casos los beneficios de la quimioterapia de las infecciones: la gran selección de cepas resistentes, debido al uso indiscriminado de antibióticos, y su fácil propagación estimulada por las condiciones sanitarias deficientes, privativas de la región. No se vislumbra más -- que un camino práctico que pudiera corregir a corto plazo tal situación: el control oficial efectivo en la venta de los agentes -- antimicrobianos, tendiente a evitar la automedicación, junto con su utilización racional por parte del cuerpo médico.

## SENSIBILIDAD ANTIMICROBIANA

Escherichia coli



INOCULAR EN 3 ml. DE CALDO BHI  
(INFUSION CEREBRO-CORAZON)



INCUBAR A 37°C DURANTE 3 Hrs.



AJUSTAR LA TURBIDEZ CON EL MAC FARLAND

A 0.5%



INOCULAR EN AGAR MUELLER HINTON CON HISOPO  
ESTERIL EN TODA LA SUPERFICIE



COLOCAR LOS SENSIDISCOS SOBRE EL AGAR



INCUBAR DE 18-24 Hrs. A 37°C



OBSERVAR RESULTADOS

Esquema No. 2

#### 4.2.4 Obtención y procesamiento de diferentes tipos de células:

Para la obtención de las células epiteliales de boca, se realizaron raspados de la mucosa oral con un hisopo estéril, se suspendieron las células epiteliales en PBS y se centrifugaron a 3500 rpm/10 min. durante tres ocasiones, posteriormente se agregó 2.5 ug de tripsina para eliminar las bacterias que se encontraron adheridas a las células epiteliales incubándolas a 37°C durante 10 min, se realizaron dos lavados más en PBS y centrifugando a 1500 rpm/10 min, para posteriormente ajustar la concentración de células de  $5 \times 10^4$  células por ml. (Esquema No. 3).

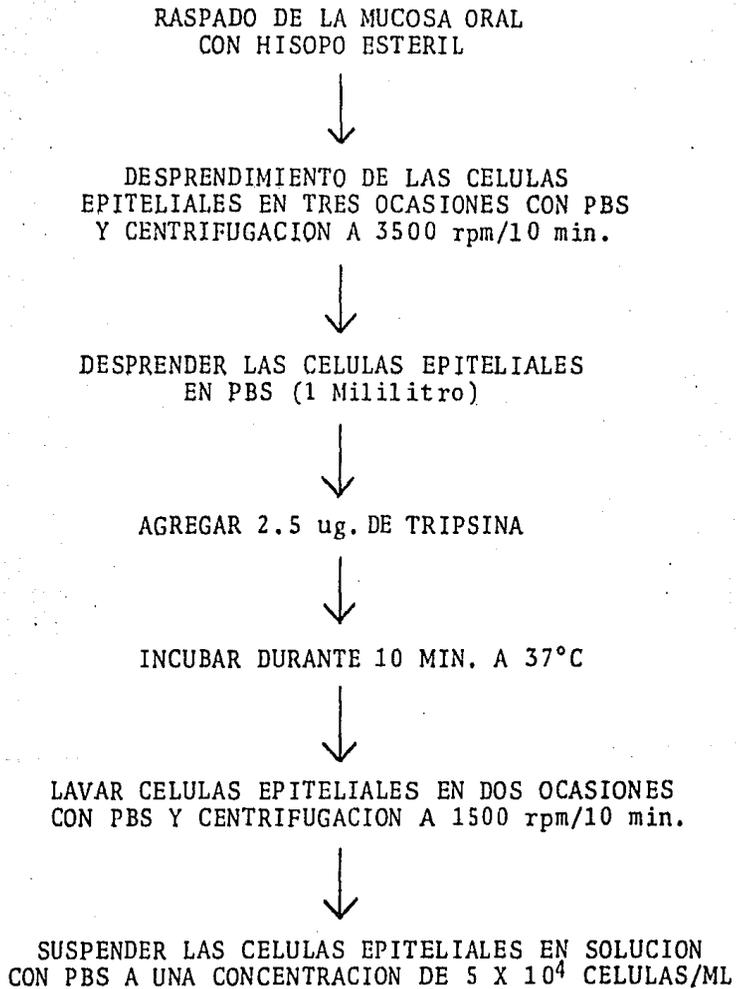
Para la obtención de células epiteliales de orina se siguió la misma técnica que en las células de boca, sólo que se obtienen las células epiteliales centrifugando directamente la orina.

Para el cultivo de células HeLa y Hep-2, fueron crecidas en un medio mínimo esencial suplementando con suero de ternera, penicilina y estreptomycinina ajustadas a un pH de 7.2, incubándolas 48 hrs. a 37°C hasta formar una monocapa, se tripsinizaron e incubaron a 37°C durante 10 min. (Esquema No. 4), agregando 10 ml. de medio mínimo esencial, para continuar con un conteo de las células y se ajustó la concentración de células de  $5 \times 10^4$  células/ml. (Esquema No. 4).

Para la obtención de eritrocitos humanos del Grupo "A", se colectaron antes de su uso y se lavaron por tres ocasiones en PBS centrifugándolos a 2000 rpm/20 min. (Esquema No. 5)

Posteriormente, se preparó una solución de eritrocitos y PBS al 3% Vol/Vol. Por otro lado se preparó una solución al 1% del carbohidrato D-manosa (inhibidor de adherencia) y agua desionizada.

## OBTENCION DE CELULAS EPITELIALES DE BOCA Y ORINA



CULTIVO DE CELULAS HELA Y HEP-2

CULTIVAR CELULAS EN MEDIO MINIMO ESENCIAL EAGLE SUPLEMENTADO  
CON SUERO DE TERNERA, PENICILINA Y ESTREPTOMICINA (PH 7.2)



INCUBAR 48 HORAS A 37°C  
TIPSINIZAR



INCUBAR LAS CELULAS A 37° C/10 MINUTOS



AGREGAR 10 ML. DE MEDIO MINIMO ESENCIAL EAGLE



CONTEO DE CELULAS AJUSTANDO UNA CONCENTRACION DE  $5 \times 10^4$  CELULAS/ML



DISTRIBUIR LAS CELULAS EN PLACAS DE PLASTICO DE 24 POZOS  
CONTENIENDO UNA LENTEJA DE VIDRIO



INCUBAR DURANTE DOS HORAS EN ESTUFA DE CO<sub>2</sub>



LAVAR POR TRES OCASIONES EN PBS PH 7.2



INFECTAR E INCUBAR DOS HORAS A 37°C CON AGITACION



LAVAR CON PBS EN DOS OCASIONES



FIJAR CON METANOL Y TEÑIR CON GIEMSA



OBSERVAR

PROCESAMIENTO DE ERITROCITOS



COLECTAR LOS ERITROCITOS INMEDIATAMENTE ANTES  
DE SU USO



LAVARLOS POR TRES OCASIONES EN PBS Y REALIZAR  
CENTRIFUGACION A 2000 rpm/20 min.



PREPARAR UNA SOLUCION DE ERITROCITOS Y PBS  
AL 3% VOL/VOL

#### 4.2.5 Adherencia y Hemaglutinación:

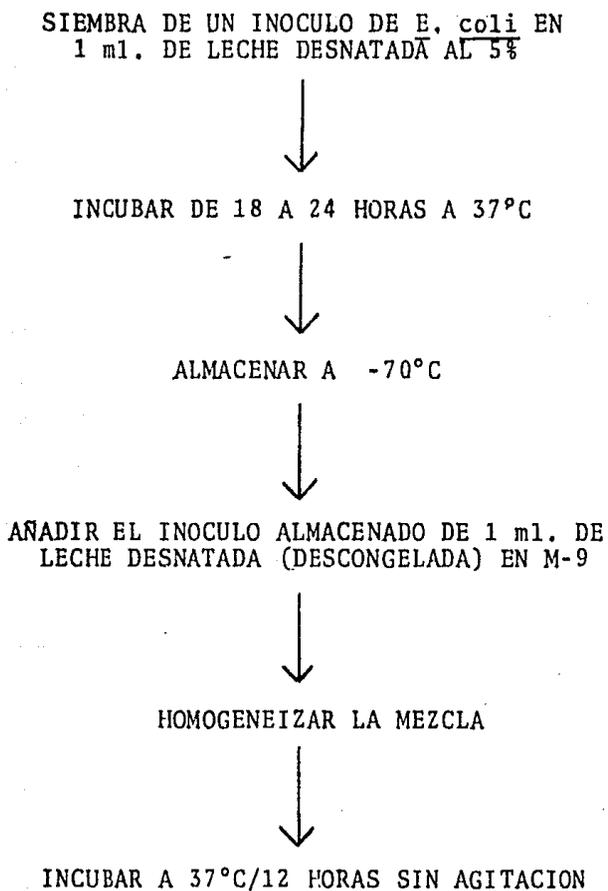
La técnica de colonización celular se realizó en diferentes tipos de células como: Eritrocitos, células HeLa y Hep-2, células epiteliales de boca y orina.

Las cepas de Escherichia coli, se sembraron en un ml. de leche desnatada al 5% inoculándolas al medio M-9 obteniendo la concentración de  $5 \times 10^4$  bacterias/mlv. De esta suspensión estandarizada de bacterias se mezcló con la suspensión de células a la misma concentración y se homogenizó la mezcla, incubando en baño maría con agitación 2 hrs a  $37^\circ\text{C}$  para el período de infección de las bacterias a las células, llevándose a cabo la adherencia bacteriana en los diferentes tipos de células. (Esquema No. 6 y 7)

Para la hemaglutinación se sembró un inóculo de bacterias en caldo BHI (Infusión cerebro-corazón), mezclando 20 ul de la solución de eritrocitos y 20 ul de la suspensión bacteriana en presencia y ausencia de D-manosa (inhibidor de adherencia), la hemaglutinación se observó a los 10 min. a temperaturas de 4 y  $22^\circ\text{C}$ . (Esquema No. 8).

ALMACENAMIENTO DE LA CEPA DE E. coli E INOCULACION DE ESTA EN MEDIO

M-9



Esquema No. 6

PRUEBA DE ADHERENCIA "IN VITRO"

COLOCAR 1 ML. DE SOLUCION PBS EN UN TUBO  
DE ENSAYE ESTERIL



AGREGAR 1 ML. DE SUSPENSION ESTANDARIZADA DE BACTERIA  
A UNA CONCENTRACION DE  $5 \times 10^4$  BACT./ML.



AÑADIR 1 ML. DE SUSPENSION ESTANDARIZADA DE CELULAS  
EPITELIALES A UNA CONCENTRACION DE  $5 \times 10^4$  BACT./ml.



HOMOGENEIZAR LA MEZCLA



INCUBAR EN BAÑO MARIA CON AGITACION A  $37^\circ$  C/2 HORAS



REALIZAR FROTIS



FIJAR CON METANOL Y DEJAR SECAR



TEÑIR CON GIEMSA DURANTE 15 MINUTOS



LAVAR CON AGUA DESTILADA



DEJAR SECAR

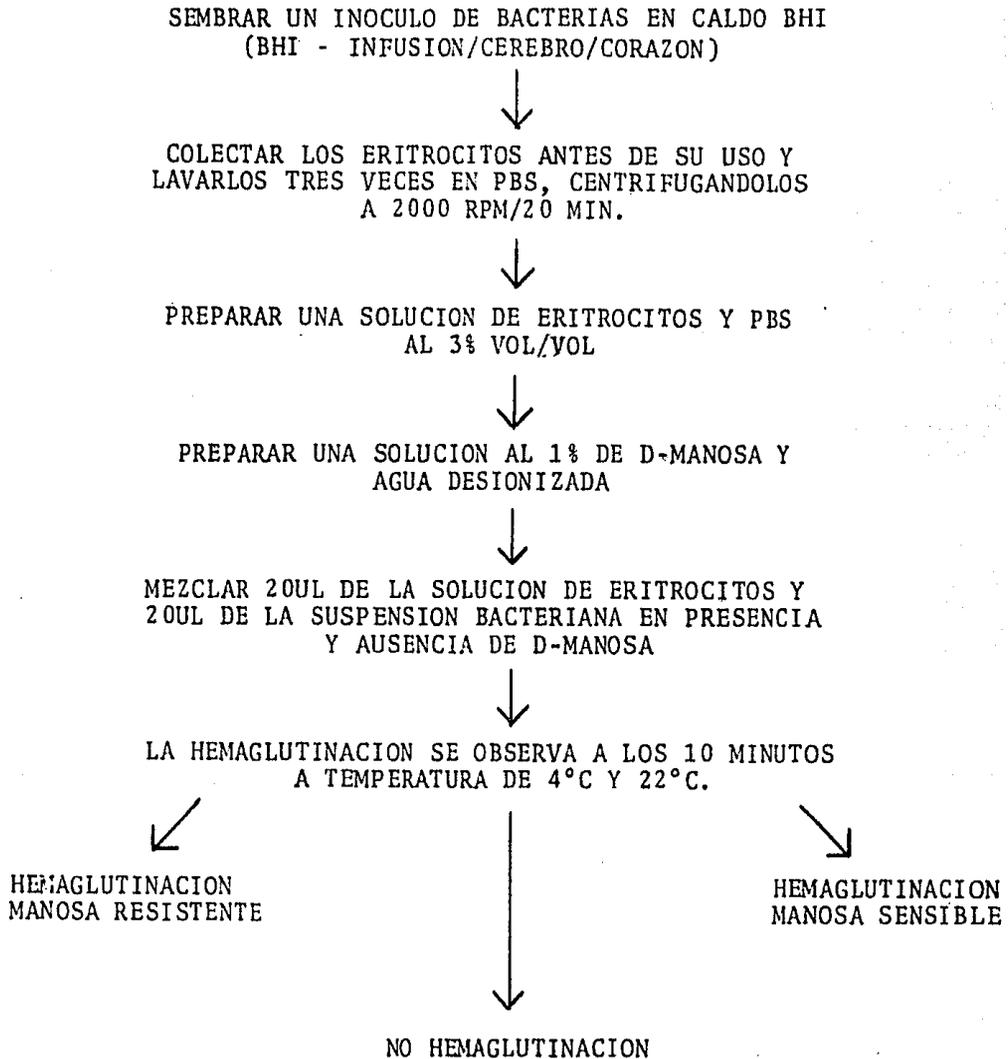


OBSERVAR AL MICROSCOPIO OPTICO EN INMERSION  
OBJETIVO DE 100X



FOTOGRAFIAR

HEMAGLUTINACION DE ERITROCITOS HUMANOS TIPO A RH\*



Esquema No. 8

## C A P I T U L O V

El presente estudio se llevó a cabo con la selección al azar de 50 cepas de Escherichia coli, obtenidas de un total de 2572 muestras de orina, procesadas en un periodo de siete meses, de las cuales 143 muestras resultaron positivas (5.6%); - la selección de las 50 cepas se realizó de acuerdo con la alta frecuencia de su aislamiento en pacientes menores de edad y de ambos sexos, con predominio del femenino.

Estas se sometieron a pruebas de adherencia a diferentes tipos de células, posteriormente a prueba de inhibición de hemaglutinación con D-manosa, empleando eritrocitos del grupo A.

En el Cuadro (1) se muestra la adherencia de E. coli en urocultivos con unidades formadoras de colonias por ml. - - - (UFC/ml) variables.

De las 50 cepas 23 resultaron con cuentas superiores a 100,000 UFC/ml (46%) y el 54% con cuentas menores de 100,000 UFC/ml. El 28% de las cepas resultaron con menos de 25,000 UFC/ml, de las cuales el 8% tiene adherencia localizada (AL), el 4% adherencia difusa (AD) y el 16% presentó ambas (AL/AD).

El 8% de las cepas resultaron con 25,000 a 50,000 UFC/ml. presentándose el 4% con AD y el 4% con ambos tipos.

El 2% resultó tener de 50,000 a 75,000 UFC/ml con una adherencia difusa.

El 16% con cuentas bacterianas de 75,000 a 100,000 UFC/ml. de los cuales el 4% presentó AL, el 6% AD y el 6% ambos tipos de adherencia (AL/AD).

Del 46% que resultaron con infección (cuentas bacterianas mayores de 100,000 UFC/ml) el 22% presentó AL, el 4% AD y el 20% ambos tipos.

En general, el 34% de las cepas estudiadas presentó AL, el 20% AD y el 46% ambos tipos de adherencia (AL/AD).

De acuerdo con lo anterior se puede decir, que la bacteria está capacitada para producir adherencia y por consecuencia el cuadro clínico de la enfermedad urinaria, ya sea en cepas obtenidas de urocultivos con cuentas menores de 100,000 UFC/ml (Contaminación) como con cuentas superiores a 100,000 UFC/ml (Infección).

En el Cuadro número (2) se ilustran los resultados de adherencia observada en diferentes líneas celulares. En el cual, se puede observar que las células epiteliales de boca, presentaron un 100% de adherencia, tanto AL, como AD ó ambas; las células epiteliales de orina, presentaron un 92% de adherencia, las células HeLa el 76% y las células Hep-2 presentaron

el 68% de adherencia.

Por lo anterior, se pueden clasificar las líneas celulares de acuerdo con su facilidad de adherencia que poseen, esto es:

- 1) Células epiteliales de boca
- 2) Células epiteliales de orina
- 3) Células HeLa (carcinoma vaginal)
- 4) Células Hep-2 (carcinoma de laringe humana)

En el Cuadro número (3) se muestran los porcentajes de hemaglutinación con D-manosa, empleando eritrocitos humanos del Grupo A a temperaturas de 4 y 22°C. De los cuales independientemente de la temperatura los resultados obtenidos manosa sensitiva (MS) y manosa resistente (MR) son dos factores muy importantes, para la colonización en infecciones de vías urinarias.

En este cuadro deducimos que la fimbria Tipo 1 (HAMS), -- fué menos frecuente que la HAMR que puede ser causada por el -- pili o por otras propiedades de superficie de uno o más serotipos.

En la gráfica No. 1, se muestra que las infecciones de -- vías urinarias en niñas (36%) tiene una incidencia más alta, -- que en los niños (33%) ya que la edad más susceptible de sufrir infección es de 0 a 5 años de edad (edad neonatal y preescolar), y va disminuyendo conforme aumenta la edad, pero entre los 5 y -

10 años (edad escolar) la enfermedad disminuye considerablemente en los niños (3%) a diferencia de las niñas (15%); y de 10 a 15 años la enfermedad prevalece principalmente en las niñas (15%)

También se ilustra una frecuencia de infección de vías urinarias en pacientes menores de 15 años, donde la edad susceptible de contraer esta enfermedad es de 0 a 5 años (66%), debido a diferentes factores predisponentes del paciente a adquirir la enfermedad y conforme aumenta la edad, la infección disminuye, ya que, de 5 a 10 años, existe un porcentaje de infección del 18% y de 10 a 15 años hay un porcentaje del 15%.

Mediante la prueba de sensibilidad se determinó el patrón de resistencia y sensibilidad, frente a 17 antimicrobianos, los cuales fueron:

Acido nalidixico, ampicilina, amikacina, cefalosporina, cloranfenicol, carbenicilina, ceftriaxone, estreptomina, furadantina, fosfomicina, gentamicina, kanamicina, netilmicina, penicilina, polimixina, tetraciclina, trimetoprim/sulfametoxazol. De los resultados obtenidos se observó, que más del 70% de las cepas de E. coli fueron resistentes a la penicilina, carbencilina tetraciclina y ampicilina, el 55% a la estreptomina, el 51% al trimetoprim/ sulfametoxazol y en menor porcentaje de resistencia para los demas antimicrobianos empleados. --  
(Tabla No. 1)

En cuanto a la sensibilidad observada el 92% de las cepas fueron sensibles a la amikacina, mientras que el 77% al ácido nolidixico, gentamicina y polimixina y en un 66% para la furadantina y netilmicina, mostrando un menor porcentaje de sensibilidad para el resto de los antimicrobianos. (Tabla No. 2)

La frecuencia de bacterias encontradas en las 2572 muestras de orina procesadas durante 6 meses fue la siguiente:

MICROORGANISMO	POR CIENTO
1) <u>Escherichia coli</u>	65.96 %
2) <u>Klebsiella pneumoniae</u>	13.64%
3) <u>Pseudomonas aeruginosa</u>	3.19%
4) <u>Proteus mirabilis</u>	1.98%
5) <u>Cándida sp.</u>	1.96%
6) <u>Morganella morgani</u>	1.05%
7) <u>Streptococcus faecalis</u>	0.77%
8) Otros.	11.45%

En base a estos resultados de frecuencia de microorganismos encontrados en los urocultivos, se compararon con los resultados de la literatura, los cuales concuerdan con los obtenidos ya que mencionan un porcentaje de frecuencia de E. coli de un 60 a un 90%, de las cuales el 5.5% resultaron positivas, comparándose también con el porcentaje menor del 10% de urocultivos positivos mencionados en la literatura. (Diagrama No.1)

FRECUENCIA DE RESISTENCIA DE E. coli  
A LOS ANTIMICROBIANOS

ANTIMICROBIANOS	FRECUENCIA	POR CIENTO
PENICILINA	21	77.7%
CARBENICILINA	21	77.7%
TETRACICLINA	19	70.3%
AMPICILINA	19	70.3%
ESTREPTOMICINA	15	55.5%
KANAMICINA	15	55.5%
TRIMETOPRIM/SULFAMETOXAZOL	14	51.8%
CLORANFENICOL	13	48.1%
CEFALOSPORINA	7	25.9%
ACIDO NALIDIXICO	4	14.8%
GENTAMICINA	2	7.4%
FURADANTINA	2	7.4%
AMIKACINA	1	3.7%
NETILMICINA	1	3.7%

T A B L A No. 1

FRECUENCIA DE SENSIBILIDAD DE E. coli  
FRENTE A LOS ANTIMICROBIANOS

ANTIMICROBIANOS	FRECUENCIA	POR CIENTO
AMIKACINA	24	92.5%
ACIDO NALIDIXICO	21	77.7%
GENTAMICINA	21	77.7%
POLIMIXINA	21	77.7%
FURADANTINA	18	66.6%
NETILMICINA	18	66.6%
CLORANFENICOL	13	48.1%
TRIMETOPRIM/SULFAMETOXAZOL	11	40.7%
KANAMICINA	5	18.5%
CEFALOSPORINA	5	18.5%
FOSFOMICINA	5	18.5%
AMPICILINA	4	14.8%
CARBENICILINA	3	11.1%
ESTREPTOMICIONA	2	7.4%
CEFTRIAZONE	1	3.7%

T A B L A No. 2

## C U A D R O No. 1

ADHERENCIA OBSERVADA EN CEPAS DE E. coli  
OBTENIDAS DE UROCULTIVOS CON UFC/ml VARIABLES

INTERVALO	FRECUENCIA	AL	AD	AL/AD
0 - 25,000	14	4	2	8
25,001 - 50,000	4	0	2	2
50,001 - 75,000	1	0	1	0
75,001 - 100,000	8	2	3	3
100,000	23	11	2	10
TOTAL	50	17	10	23

AL = ADHERENCIA LOCALIZADA

AD = ADHERENCIA DIFUSA

AL/AD = ADHERENCIA LOCALIZADA/ADHERENCIA DIFUSA

UFC/ml = UNIDADES FORMADORAS DE COLONIAS POR MILILITRO

## C U A D R O No. 2

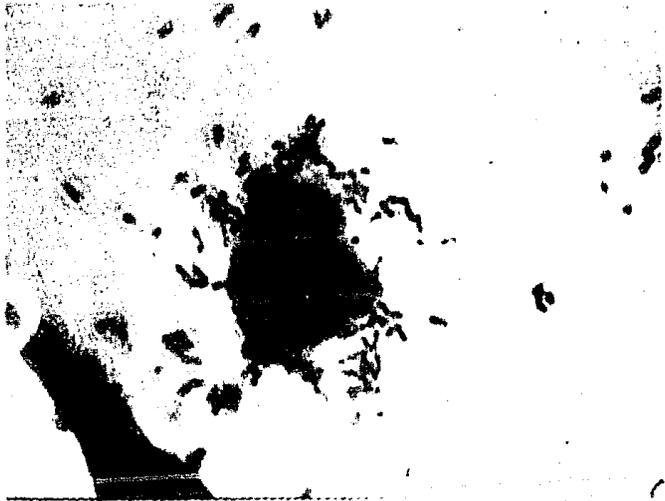
## TIPOS DE ADHERENCIA OBSERVADA EN DIFERENTES LINEAS CELULARES

TIPO DE ADHERENCIA	CELULAS EPITELIALES BOCA	CELULAS ORINA	CELULAS HeLa	CELULAS HEP-2
AL	34%	42%	62%	52%
AD	20%	24%	2%	2%
AL/AD	46%	26%	12%	12%
NO ADHERENCIA		8%	24%	32%

CEPA	CELS. EPIT. BUCALES			CELS. EPIT. DE ORINA			CELS. EPIT. HeLa			CELS. EPIT. Hep-2		
	AL	AD	AL/AD	AL	AD	AL/AD	AL	AD	AL/AD	AL	AD	AL/AD
1			+			+	-	-	-	-	-	-
2		+				+		+				+
3			+			+	-	-	-		+	
4			+			+			+			+
5	+					+	-	-	-		+	
6			+			+		+			-	-
7		+				+		+			+	
8	+					+		+			+	
9			+		-	-		+			-	-
10	+					+				+		+
11	+					+		+			+	
12			+			+		+			+	
13			+			+				+		+
14		+				+		+			+	
15			+			+	-	-	-		-	-
16			+			+			+			+
17			+			+		+			+	
18	+					+		+			+	
19		+				+	-	-	-		-	-
20		+				+	-	-	-		-	-
21	+					+		+				+
22	+					+		+			+	
23	+					-	-	-	-		-	-
24	+					+		+			-	-
25	+					+				+	+	
26	+					+				+	-	-
27			+			+		+			+	
28	+					+		+			+	
29			+			+		+			+	
30			+			+		+			-	-
31		+				+		+			+	
32		+				-	-	-	-		+	
33			+			+		+			+	
34			+			-	-	-	-		-	-
35			+			+		-	-	-	+	
36	+					+		+			-	-
37			+			+		+			-	-
38		+				+		+			-	-
39		+				+		+			-	-
40		+				+		+			+	
41			+			+		+			+	
42			+			+		+				+
43			+			+		+			+	
44			+			+		-	-	-	+	
45	+					+		+			+	
46	+					+		-	-	-	-	-
47			+			+		-	-	-	+	
48			+			+		+			+	
49	+					+		+			+	
50	+					+		+			+	



ADHERENCIA DIFUSA EN  
CELULAS EPITELIALES  
DE URINA.

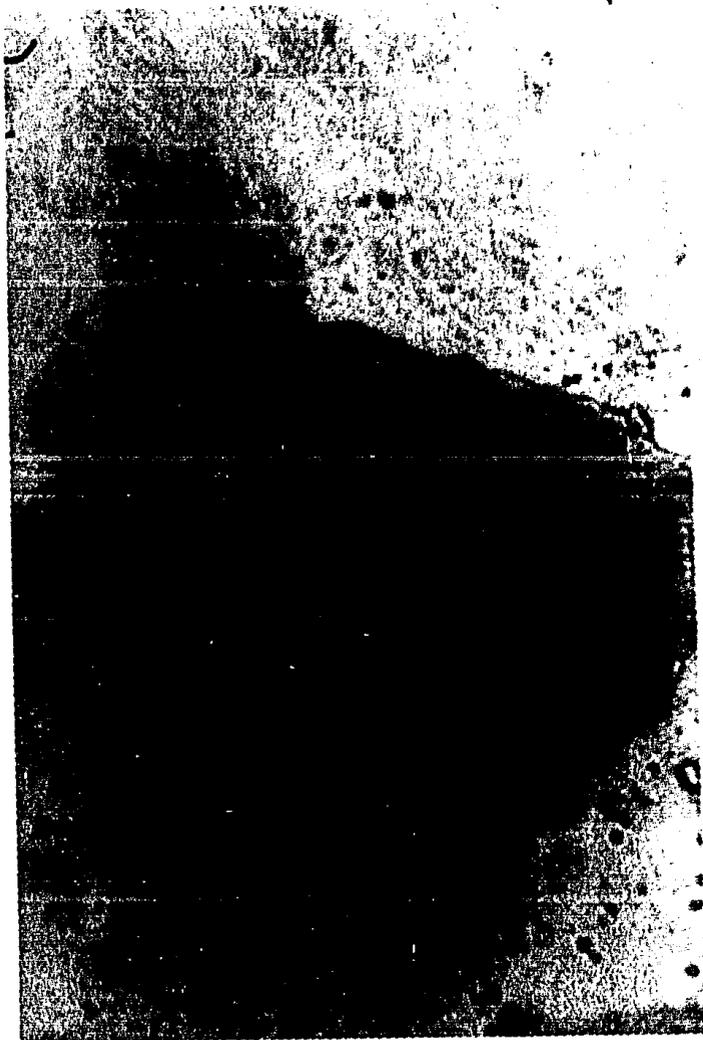


ADHERENCIA DIFUSA  
EL CELULAS Hep-2



ADHERENCIA DIFUSA EN  
CELULAS EPITELIALES  
DE BOCA.

ADHERENCIA DIFUSA EN CELULA EPITELIAL DE ORINA.



ADHERENCIA LOCALIZADA EN CELULAS HeLa



## C U A D R O No. 3

## HEMAGLUTINACION DE ERITROCITOS DEL GRUPO "A"

HEMAGLUTINACION	TEMPERATURA	
	22°C	4°C
HAMS	32%	28%
HAMR	62%	64%
NHA	6%	8%

- AL -ADHERENCIA LOCALIZADA  
AD -ADHERENCIA DIFUSA  
AL/AD -ADHERENCIA LOCALIZADA/ADHERENCIA DIFUSA  
HAMS -HEMAGLUTINACION MANOSA SENSITIVA  
HAMR -HEMAGLUTINACION MANOSA RESISTENTE.  
UFC/ml -UNIDADES FORMADORAS DE COLONIAS POR MILILITRO

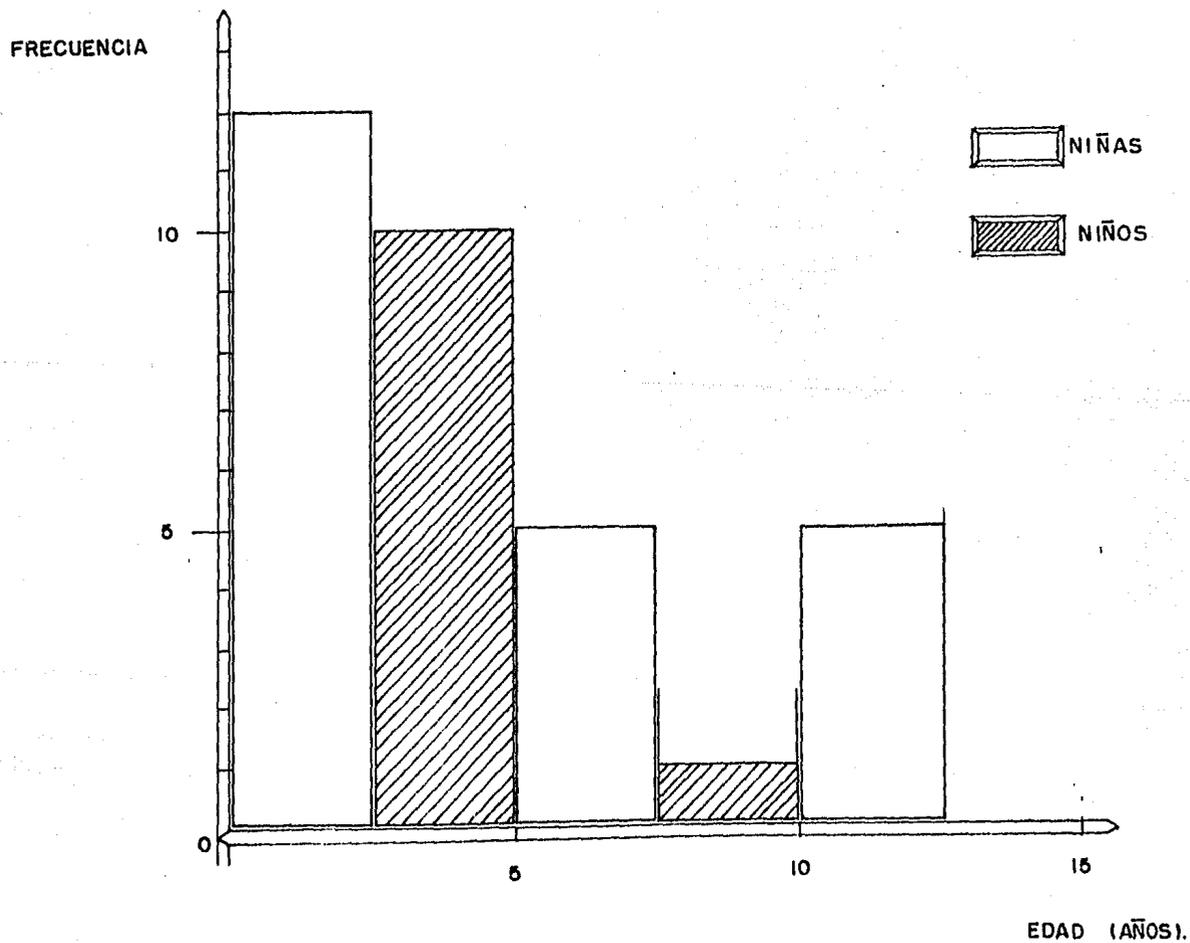
HMAGLUTINACION

CEPA	22°C			4°C		
	MS	MR	NHA	MS	MR	NHA
1	+			+		
2		+				-
3	+			+		
4		+			+	
5	+			+		
6		+			+	
7		+			+	
8		+			+	
9		+			+	
10		+			+	
11		+			+	
12			-			-
13	+				+	
14		+			+	
15	+			+		
16			-		+	
17			-	+		
18		+			+	
19		+			+	
20		+			+	
21		+			+	
22		+		+		
23		+			+	
24	+					-
25		+			+	
26		+			+	
27	+			+		
28		+			+	
29		+			+	
30		+			+	
31		+			+	
32	+			+		
33		+			+	
34	+			+		
35		+			+	
36		+			+	
37	+				+	
38	+			+		
39		+			+	
40	+				+	
41	+				+	
42		+		+		
43	+				+	
44		+			+	
45		+		+		
46		+				-
47	+			+		
48		+			+	
49		+			+	
50	+			+		

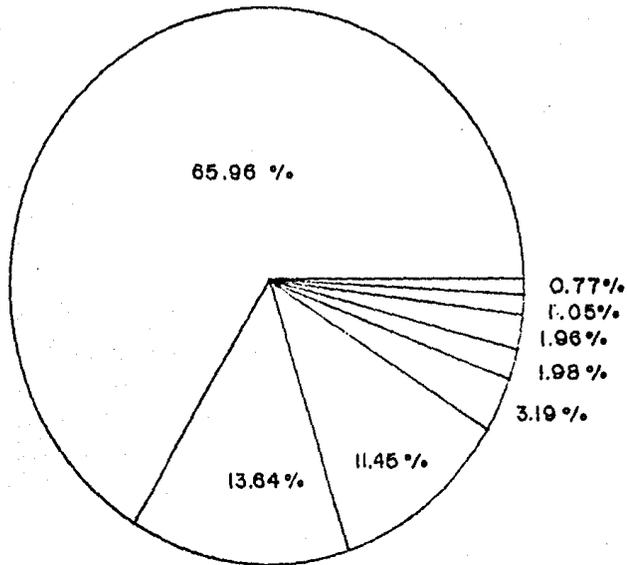
CONTROLES	22°C		4°C	
	MS	MR	MS	MR
K 88	+		+	
H-10407		+		+

GRAFICA I

DISTRIBUCION POR EDAD Y SEXO DE NIÑOS CON IVU.



# FRECUENCIA DE MICROORGANISMOS AISLADOS DE UROCULTIVOS DURANTE 6 MESES



1. <u>ESCHERICHIA COLI</u>	65,96%
2. <u>KLEBSIELLA PNEUMONIAE</u>	13,64%
3. <u>PSEUDOMONAS AERUGINOSA</u>	3,19%
4. <u>PROTEUS MIRABILIS</u>	1,98%
5. <u>CÁNDIDA SP</u>	1,96%
6. <u>MORGANELLA MORGANII</u>	1,05%
7. <u>STREPTOCOCCUS FAECALIS</u>	0,77%
8. OTROS	11,45%

DIAGRAMA N.º. 1

C E P A	Registro	S E X O	MESES (EDAD)	DISURIA	HEMATUR	POLAQUIR	COLIURIA	OUGURIA	MICTURIA	PESO KGS.	ANOREXIA	VOMITO	DIARREA	FIEBRE	IRRITABILIDAD	CREATININA	DOLORES ABD/LUMB.	PERDIDA, PESO Y TALLA	DEFECACION CREC. Y DESARR.	PALIDEZ
1	283501	M	4							3		X	X	X				X		X
2	213121	M	180									X								
3	285323	F	168				X			40			X	X	X		X			
4	213121	M	180									X								
5	285642	F	45							9		X	X					X		X
6	285080	F	68							21.6				X			ABD			
7	283830	M	4							3.0		X	X					X		
8	256581	F	71							23.5		X		X			ABD			
9	285899	M	190				X			4.0										
10	213121	M	180				X													
11	285851																			
12																				
13	274219	F	22							6.0		X	X					X	X	X
14	278054	F	42													.80				
15	243322	F	84	X	X							X		X			LUM			
16	F5260																			
17	256581	F	71			X				23.5		X		X			ABD			
18	273814	F	6							6.8			X				ABD			
19	279258	M	5							4.5	X		X							
20	287994	M	13							5.8	X	X	X				ABD			X

D I A G N O S T I C O

DESNUTRICION 3er. GRADO DESHID. 50% CORREC. GEPI., MOLINIASIS ORAL Y GENITAL REMITIDA, ANTEC. PORTADOR CAMPILOBACTERIA, LEFARITIS IZQ., GASTROENTERITIS, HERNIA UMBILICAL.

ASTROCITOMA CERVICAL FIBRILAR CON INFILTRACION AL SISTEMA NERVIOSO, VEJIGA NEUROGENICA, I.V.U. DE REPETICION POR E.coli Y K.NEUMONE.

ENCEFAL. HEPATICA, VARICES ESOFAG. SEC., ICTERICO, DIST. ABD., TRASTORNO CON DUCTA, ASTENIA, ADINAMIA, HIPERSOMNIA, ALIENTO UREMICO, INSUF. OCULAR Y AUDITIVA, HEPATITIS CRONICA, EDEMA GRALIZADO. DE CARA Y EXTREMIDADES

ASTROCITOMA CERVICAL FIBRILAR CON INFILTRACION AL SISTEMA NERVIOSO, VEJIGA - NEUROGENICA, I.V.U. DE REPETICION POR E. coli Y K. NEUMONE.

DIARREA CRONICA INTERMITENTE, RETRASO PSICOMOTOR, DETENCION CRECIM. Y DESARROLLO REFLUJO VESICO-URETRAL, DESNUT. 3er. GRADO, DISTENCION ABDOMINAL.

CISTOGRAFIA MICCIONAL, RVU MAYOR LADO IZQ. RVU DER. GRADO I, VEJIGA MODERADA AUMENTADA DE TAMAÑO, UROGRAFIA NORMAL, IVU REPETICION.

DESNUTRICION 3er. GRADO MN, INSUFICIENCIA VISUAL Y CARDIACA.

x EGO SUGESTIVO DE INFECCION, IVU DE REPETICION, SIN MALFORMACIONES URINARIAS VULVOVAGINITIS, CISTO URETROGRAFIA NORMAL, IVU RECURRENTE.

R.N. EUTROFICO ALTO RIESGO, ICTERICIA POR HIPERBILIRRUBINEMIA MULTIFACTORIAL HIPOPROTOMISINEMIA 50%, P.B. GASTROENTERITIS INFECCIOSA, TINTE ICTERICO.

ASTROCITOMA CERVICAL FIBRILAR CON INFILTRACION AL SISTEMA NERVIOSO, VEJIGA- NEUROGENICA, I.V.U. DE REPETICION POR E.coli Y K. NEUMONE.

MALFORMACION ANO RECTAL ALTA (CLOACA) I.V.U., MARRA, FISTULA RECTO-VAGINAL -- (SIN ANCOLOSTOMIA), DISPLASIA ACETABULAR, DESNUT. 3er. GRADO, DETENCION DESARROLLO Y CRECIM. HIPOTROFICA.

VEJIGA NEUROGENICA, RVU BILATERAL, SEC. MIELOMENINGOCELE POR IVU (MALF. MED. ESP.) IMPLANTE BILAT. TIPO COHEN Y AUMENTO VESICAL C/SIGMOIDES, LUXACION CADERA DER., PIE EQUINOVARO BILAT., NO CAMINO, NO HAY EQUILIBRIO TRONCO, PARALISIS DERECHA.

UREQUIURIA, IVU DE REPET (3 OCASIONES), VEJIGA NEUROGENICA, ALTERACIONES A NIVEL VESICAL, DOLOR FOSA RENAL IZQ., MANCHAS HIPOCROMICAS CARA SIN MALFORMACIONES POR UROGRAFIA EXCRETORA Y CISTOURETROGRAFIA.

x EGO SUGESTIVO DE INFECCION, IVU DE REPETICION, SIN MALFORMACIONES URINARIAS VULVOVAGINITIS, CISTOURETROGRAFIA NORMAL, IVU RECURRENTE, URG. ORINAR.

GASTROENTERITIS

DIARREA CRONICA CONTINUA ANTEC. HIRSCHSPRING DE SEG. LARGO (86), INTESITNO CORTO, DERMATITIS DEL PANAL, DESHIDRATACION 5% CORREGIDA, ERITEMIA PERIANAL, IVU.

ULCERA CORNEAL OJO IZQ. XPS., LEUCOIA SGC. (CONJUNTIVITIS), DIARREA CRONICA INTERMITENTE, DETENCION CRECIM. Y DESARROLLO, DESNUT. 3er. GRADO, COLITIS, SECRECION PURULENTA BILATERAL, MONILIASIS ORAL Y PERIANAL, SOMNOLENCIA, HIPO MOVILIDAD.

21	279258	M	5				4.5	X	X				
22	288053	M	60				10.6		X	X		X	X
23	286767	F							X	X	.50		X
24	6435												
25	282072	M	31				16.6		X			X	X
26	287922	F											
27	220892												
28	288234												
29	227155	F	60						X				
30	280357	M	69				21.5		X			X	
31	288480	M	3	X			5.0			X			
32	288724	F	13						X				X
33	288162												
34	227155	F	60							X			
35	197103	M	94								.86		
36	252917	F	82				19.2						
37	24												
38	000433												
39	289621	F	2				3.0	X	X	X	X		X
40	F20												
41	284460	F	14				10.6						
42	627												
43	290440	F	144				45.5	X		X	1.30		X
44	287203												
45	236389	F	52							X	.54		
46	290703	F	5				6.7	X		X			
47	236389	F	52							X	.54		
48	280817	F	120	X	X	X	25.5	X		X	1.40	LUM	
49	290482	F	99				21.0	X	X			ABD	X
50	271883	F	84										

CONTROL  
1 H10407

CONTROL  
2 K88

DIARREA CRONICA CONTINUA ANTEC. HIRSCHSPRING DE SEG. LARGO (86), INTESTINO CORTO, DERMATITIS DE PAÑAL, DESHIDRATACION 54 CORREGIDA, ERITEMIA PERIANAL, IVU.

DESNUT. MM 3er. GRADO, DETENCION CRECIMIENTO Y DESARROLLO, DIARREA CRONICA INTERMITENTE, NIÑO MALTRATADO, IVU, ASTENIA, HIPOREXIA, RINORREA HIALINA, TOS SECA AMIBIASIS INTESTINAL (E.HISTOLITICA), HIPOTROFICO LESIONES HIPOCRONICAS PIEL.

HIPOREXIA, DETENCION CRECIMIENTO, IVU DE REPETICION.

P.B. RINITIS ALERGICA, TOS, RINORREA MUCOPURULENTA.

MIELO MENINGOCELE TORACICO, HIDROCEFALIA SEC., PIE EQUINOVARO CONGENITO.

P.B. PARASITOSIS INTESTINAL, MALESTAR GENERAL, TOS, FARINGE HIPEREMICA, LARINGO TRAQUEITIS, FARINGO AMIGDALITIS, CATARRO.

HIPODINAMIA, ASTRACIAS, CARDIOPATIA CONGENITA.

QUISTES DE COLEDOCA, HERNIA INGUINAL IZQ., CIRROSIS BILIAR, ICTERICIA

TUMOR DE WILMS NO CLASIFICABLE, DESNUTRICION DE 2o. GRADO MM. DETENCION DE -- CRECIM. Y DESARROLLO, ANEMIA, NEFROBLASTOMA DERECHO.

P.B. PARASITOSIS INTESTINAL, MALESTAR GRAL., TOS FARINGE HIPEREMICA, LARINGO-TRAQUEITIS FARINGO AMIGDALITIS, CATARRO.

NO HAY DATOS

RINORREA HIALINA.

ANEMIA, NEUROINFECCION BACTERIANA, RINORREA HIALINA, TOS SECA, IVU.

RETRASO EN EL DESARROLLO PSICOMOTOR.

EDEMA PALPEDRAL, DOLOR FARINGEO, CEFALIA, SINDROME NEFRITICO EN ESTUDIO. -- SOMNOLENCIA, HIPOREXIA, ASTENIA, ADINAMIA, GLOMERULO NEFRITIS AGUDA.

TOS SECA, RINORREA, HIALINA, CISTITIS.

IVU DE REPETICION, CISTOURETROGRAFIA (RVU BILATERAL) GRADO II Y III REIMPLANTE UH TIPO COHEN UROGRAFIA EXCRETORA (ALTERACION DE LA MEDULA A EXPENSAS DE LA CORTEZA), DILATACION DE URETEROS, ULTRASONIDO RENAL (NORMAS), CISTITIS CON RVU BILATERAL.

TOS SECA, RINORREA HIALINA, CISTITIS.

DISPLASIA RENAL IZQ. (NEFROCTOMIA), CISTOUREOGRAFIA CON PAREDES VESICALES -- IRREGULARES, ELIMINACION POBRE CON LLENADO TENUE DE LA PELVIS RENAL, I.V.U.

TOS, DOLOR PLEURITICO, DERRAME PLEURAL DERECHO.

TRAQUEOTOMIA, ESTENOSIS SUBGLUTICA, TRAUMATISMO CRANEO-ENCEFALICO, ESTADO DE COMA SUPERFICIAL, IVU E. coli.

## DISCUSIONES

Se ha referido ampliamente en la literatura, la presencia de una serie de factores que predispone a un sujeto a adquirir infección de vías urinarias, entre los cuales se encuentran aquellos procesos que contribuyen a un reflujo de la orina, así como a la capacidad del microorganismo causante del cuadro clínico, para poder persistir en dicho ambiente. Estos factores son de gran importancia ya que, influyen en que haya o no adherencia bacteriana en células eucariotes; sin embargo, la infección de vías urinarias, puede ser causada también por bacterias que no exhiben propiedades adherentes.

La propiedad de Escherichia coli, para poder generar infección de vías urinarias, ha sido relacionada con su capacidad para adherirse a superficies de células eucariotes, hecho que puede ser determinado "IN VITRO".

Chavanon y col. (44) han reportado la alta frecuencia de adhesión de E. coli procedente de pacientes con pielonefritis y la escasa capacidad de adherencia de la bacteria obtenida de pacientes asintomáticos. El presente trabajo manifestó una alta frecuencia de adherencia independientemente de su origen: pacientes asintomáticos (18%) como pacientes sintomáticos (82%). Así como; independientemente del número de unidades formadoras de colonias por mililitro (UFC/ml) de los urocultivos realizados, con lo cual, podemos afirmar que la bacteria se encuentra capacitada

para producir daño.

Nuestro trabajo muestra además que las cepas de E. coli -- tienen la capacidad para adherirse a la superficie de diferentes líneas celulares humanas, siendo ésta, más marcadas en células -- del epitelio bucal y existiendo variación en la frecuencia de -- adherencia en el resto de las líneas celulares probadas.

La adherencia de E. coli a células humanas puede estar determinado por plásmidos bacterianos y mediante la expresión de -- los factores antigénicos de colonización (FAC) y la (fimbria común Tipo 1) observada en la aglutinación de eritrocitos humanos, podemos decir, que la adherencia de la bacteria a células eucariotes, puede ser considerada como un factor de virulencia en la patogenicidad de la enfermedad.

Otra observación que se hizo fue la capacidad de E. coli - para presentar distintos tipos de adherencia como son: Adherencia Localizada, Adherencia Difusa, o ambos tipos.

En los datos presentados en el cuadro (2), se observa un predominio de adherencia localizada, con respecto a la adherencia difusa; esta característica es independiente de la línea celular utilizada.

Scaletsky y col. (71) trabajaron con cepas de E. coli, y - determinaron la correlación que existe en la adherencia a células

HeLa en diferentes serogrupos y serotipos. Estos autores, observaron más de un patrón de adherencia en estos grupos, siendo la adherencia localizada la más frecuentemente observada en serotipos de E. coli enteropatógena (EPEC) (93%) y en serotipos no enteropatógenos (NEPEC) un (14%) de adherencia localizada, aunque la adherencia difusa ocurría predominantemente en cepas NEPEC. Obtuvieron tres tipos de adherencia AL; AD; AL/AD con lo que concluyen que la adherencia localizada parece ser una propiedad en la mayoría de las cepas de E. coli comúnmente consideradas enteropatógenas, y sugieren que la habilidad de E. coli para adherirse a células HeLa es limitado para ciertos grupos o serogrupos O, ya que, sólo 17 de los 45 serogrupos y subgrupos estudiados tenían esta habilidad, presentando AL, AD y AL/AF como patrones de adherencia.

Neish y col. mostraron la adherencia de E. coli a células HeLa, obteniendo dos patrones de adherencia Al y AD y demostraron también la adherencia manosa sensitiva y manosa resistente, relacionándolos con el pili somático Tipo 1 y con los Factores Antigénicos de Colonización I y II (FAC/I y FAC/II).

Estos autores encontraron que cepas de E. coli, de infecciones de vías urinarias, que el 30% presentaba adherencia difusa y el 70% presentaba adherencia localizada en células HeLa.

Los estudios de Cravioto y col. (73) con células Hep-2 son similares a estos, pero no mencionan los dos patrones de adherencia, quizá debido a que uno de los factores más importantes, que

determina los diferentes patrones de adherencia son los 30 min. - del período de infección, ya que Cravioto y col. utilizaban largos períodos de incubación y quizá habría alguna diferencia en -- los patrones de adherencia.

Por otro lado, la ausencia de adherencia fue más alta en - las células HeLa y Hep-2; donde el grado de inhibición de la adhe- rencia bacteriana, puede ser debido a la concentración inicial de bacterias en el cultivo y a la adición de una sustancia similar - (D-manosa) a la estructura de los receptores de superficie de la célula eucariote, permitiendo la unión de la adhesina e inhibien- do la adherencia a la superficie celular del receptor.

La inhibición también puede ser debida a la pérdida de la receptividad de la célula eucariote, ocasionada por la liberación de los receptores de superficie en tratamientos con tripsina.

La inhibición no específica puede resultar de cambios en - la superficie celular eucariote y posiblemente en la superficie - de la célula bacteriana o en sitios activos de la adhesina.

Las sustancias más frecuentemente relacionadas en la acti- vidad inhibitoria son glicoproteínas y sus constituyentes monosa- cáridos u oligosacáridos, esteroides y fosfolípidos.

La naturaleza de la estructura que favorece o no la adhe- rencia se determinó con la prueba de hemaglutinación, en donde se

observan adhesinas tanto manosa sensitivas como manosa resistentes, independientemente de la temperatura en la cual se realiza esta prueba, los resultados obtenidos manosa sensitiva y manosa resistente, son dos factores importantes para la colonización en infecciones de vías urinarias; de los cuales la hemaglutinación manosa sensitiva (HAMS) indica que la estructura de adherencia, probablemente es debida a el pili Tipo 1, mientras que la hemaglutinación manosa resistente (HAMR), podría ser causada por el pili o por otras propiedades de superficie de uno ó más serotipos.

Algunas cepas de E. coli, que muestran adherencia y HAMR en células de boca y orina, indican que la manosa no inhibió la adherencia; esto puede indicar que las cepas presenten proteínas adherentes en su superficie, lo que podría confirmarse posteriormente con el empleo de otras técnicas.

Hales y col. muestran la primera evidencia de que un gen, que codifica para HAMR presente en ciertas bacterias uropatógenicas aisladas del tracto urinario, puede residir en plásmidos transmisibles. Así describen que el gen HAMR, puede resistir en plásmidos transmisibles y el resultado puede incrementarse en la potencialidad de virulencia de la bacteria, y que el gen HAMR podría ser llevado en el plásmido R ó en otro plásmido estrechamente asociado con la misma célula.

La presencia de la fimbria tipo 1, existente en cepas de E. coli, en la cual hay una correlación entre la presencia de las adhesinas específicas del hospedero y el serotipo del patógeno.

La producción de las adhesinas es afectada por condiciones medio-ambientales como la temperatura y la composición química del medio de cultivo.

El pili Tipo 1 existente causa hemaglutinación la cual es inhibida por la manosa sensitiva (MS) en eritrocitos humanos del grupo A, por lo cual, este factor puede ser importante en la colonización a células eucariotes.

La alta incidencia de HAMR de E. coli en infecciones de vías urinarias, parece indicar también su colonización en otras superficies mucosas, como la adherencia a células periuretrales, que en nuestro trabajo presenta una frecuencia de adherencia de (62-64%).

La aglutinación más común de HAMR de eritrocitos humanos del grupo A, puede ser causada por el pili o por otras propiedades de superficie o más serotipos.

De los resultados obtenidos de adherencia y HAMS y HAMR observados en las tablas, se aprecia que, las células que tienen mayor facilidad de adherencia son las células epiteliales bucales y uroepiteliales que las células HeLa (carcinoma vaginal) y Hep-2 (carcinoma de laringe humana).

Los recientes reportes de Evans y col. (37) indican que cepas de E. coli ETEC (E. coli enterotoxigénica) causan HAMR en eritrocitos humanos en serogrupos O78 con Factor Antigénico de Colo-

nización/I (CFA/I), y que la HAMS indica que el pili Tipo 1, probablemente es un importante factor de colonización en infecciones del tracto urinario, en tanto que la alta incidencia de HAMR parece también indicar un significado en la colonización y posiblemente también en otras superficies mucosas.

Nicholas Guerina y col. (66) llevaron a cabo la adherencia "IN VITRO" con células epiteliales de la cavidad oral, y sugieren que la función del pili Tipo 1 manosa sensitiva (MS) como organelos de adherencia, permiten a E. coli adherirse y colonizar la mucosa oral.

La hemaglutinina CFA/I, es una hemaglutinina detectable -- con eritrocitos humanos tipo A, la HAMR de E. coli posee CFA/I y la HAMS posee el pili común Tipo 1.

Salit y Gotschlich (37) confirmaron que el pili Tipo 1 de E. coli K-12; es responsable de HAMS en eritrocitos humanos, y -- también en otro estudio demostraron que la HAMS de E. coli por el pili Tipo 1 en células Vero (Células de riñón de mono verde) y reportan que las hemaglutininas MS y MR pueden funcionar en la adherencia y así facilitar la interacción bacteria-hospedero.

## CONCLUSIONES

- 1) Las IVU son más frecuentes en niños menores de 5 años (edad neonatal y pre-éscolar); debido a diferentes factores que predisponen al paciente a sufrir la enfermedad.
- 2) E. coli tiene la capacidad de adherirse a diferentes tipos de células independientemente de la presencia de cuentas -- superiores o menores de 100,000 UFC/ml a partir de un uro-cultivo, lo cual las capacita para producir daño y conse-cuentemente el cuadro clínico en el hospedero.
- 3) Con el empleo de las pruebas de adherencia a diferentes tipos de células y a la inhibición de hemaglutinación con -- D-manosa, empleando diferentes tipos de eritrocitos; determinamos que las cepas de E. coli tienen la capacidad para -- adherirse a la superficie de diferentes líneas celulares -- humanas, siendo ésta más marcada en células del apitelio bu-cal y existiendo variación en la frecuencia de adherencia -- en el resto de las líneas celulares probadas.

E. coli tiene la capacidad para presentar distintos tipos -- de adherencia como son: AL; AD; y ambas AL/AD en una misma laminilla; observando un predominio de la AL independientemente de la línea celular utilizada. Estos resultados concuerdan con los trabajos de Scaletscky y Neish; ambos trabajaron con cepas de E. coli y mostraron los tres tipos de -- adherencia en células HeLa; encontrando mayor porcentaje de

AL que de AD; similarmente ocurrió lo mismo con el trabajo de Cravioto y col. pero en células Hep-2.

- 4) El grado de inhibición de adherencia fué más alta en células HeLa y Hep-2; debido probablemente a la concentración inicial de bacterias en el cultivo o quizá a la pérdida de la receptividad de la célula eucariote por la liberación de los receptores de superficie en tratamientos con tripsina; además de agregar una sustancia inhibidora de adherencia (D-manosa), la cual es similar en estructura a los receptores de superficie de la célula eucariote, permitiendo así la unión de la adhesina a la célula e inhibiendo la adherencia a la superficie celular del receptor.

- 5) La naturaleza de la estructura que favorece o no la adherencia se determinó con la prueba de hemaglutinación, en donde se observan adhesinas tanto MS como MR; independientemente de la temperatura en la cual se realiza esta prueba.

Los resultados obtenidos MS y MR son dos factores importantes para la colonización en IVU; de los cuales la HAMS indica que la estructura de adherencia, probablemente sea debida a el pili tipo 1; mientras que la HAMR podría ser causada por otro tipo de fimbria o por otras propiedades de superficie de uno o más serotipos.

La HAMS y la alta incidencia de HAMR; indican que probablemente las hemaglutininas MS y MR sean importantes factores

de colonización en infecciones del tracto urinario; facilitando así la adherencia e interacción bacteria-hospedero.

- 6) La adherencia de E. coli a células humanas puede estar determinado por plásmidos bacterianos y mediante la expresión de fimbria o factores de colonización; observada en la aglutinación de eritrocitos, podemos decir que la adherencia de la bacteria a células eucariotes, puede ser considerada como un factor de virulencia en la patogenicidad de la enfermedad.

## B I B L I O G R A F I A

1. Ahrén, C.M.; et. al.  
Comparison of Methods for Detection of Colonization Factor Antigens on Enterotoxigenic Escherichia coli.  
Journal of Clinical Microbiology, 23:3, pp. 586-591, (Marzo 1986).
2. Asscher, A.W.  
Las Infecciones de las Vías Urinarias.  
Ed. El Manual Moderno, 1a. edición en español, México (1983)
3. Asscher, A.W.; et. al.  
Urine as a Medium for Bacterial Growth.  
Lancet ii, (1966).
4. Bailey, W.R.; Scott, E.G.  
Diagnóstico Microbiológico  
Ed. Médica Panamericana, 6a. edición, Argentina (1983).
5. Bartus, Henry; et. al.  
Indications that the Erythrocyte Receptor Involved in Enterotoxigenic Escherichia coli Attachment is a Sialoglicol conjugate.  
Journal of Clinical Microbiology, 21:6, pp. 951-954, (Junio - - 1985).
6. Berg, U.B.; Johansson, S.B.  
Age is a Main Determinant of Renal Functional Damage in Urinary Tract Infection.  
Archives of Disease in Childhood, 58, pp. 963-969, (1983).
7. Bourchier, D.; Abbott, G.C. y Malling, T.M.J.  
Radiological Abnormalities in Infants with Urinary Tract - - -  
Infections Archives of Disease in Childhood, 59, 620-624, - - -  
(1984).
8. Chabanon, Gerard; et. al.  
Adhesion To a Human Cell Line by Escherichia coli Strains - - -  
Isolated During Urinary Tract Infection.  
Journal of Clinical Microbiology, 10:4, pp. 563-566, (Octubre -  
1979).

ESTA TESIS NO DEBE  
SALIR DE LA BIBLIOTECA

9. Changchawalit, Suchitra; et. al.  
Colonization Factors Associated with Enterotoxigenic Escherichia coli Isolated in Thailand.  
Infection and Immunity, 45:2, pp. 525-527, (Agosto 1984).
10. Clegg, Herbert; et. al.  
Pilus-Mediated Adherence of Escherichia coli K1 to Human Oral - Epithelial Cells.  
Infection and Immunity, 45:1, pp. 299-301, (Julio 1984).
11. Cunningham Robert J. "Urinary tract infection in infants and children" Postgraduate Medicine Clinic, 75:6 pp. 59-64, (mayo - 1984).
12. Davis, B. Dubelcco, R. etal. "Tratago de Microbiología". Primera edición Salvat Editores, España (1977).
13. De la Cruz, Ruben G.  
Flora normal urogenital  
Atención Médica. pp. 17-18. México. Agosto (1985).
14. Dighe, Adr en M. and Grace, John F.  
General practice management of childhood urinary tract infection  
Journal of the Royal College of General Practitioners 34: pp. -- 324-327 June 1984.

15. Mota, Hernández Felipe  
Infección de Vías Urinarias.  
Atención Médica. pp. 92-95, México. Agosto (1985).
16. Evvans, J. Doyle Jr., Evans, G. Dolores And Dupont, L. Herbert  
Hemagglutination Patterns of enterotoxigenic and Enteropathogenic  
Escherichia coli Determined with Human, Bovine, Chicken, and  
guinea pig Erythrocytes in the presence and Absence of Manose.  
Infection and Immunity. 23:2 pp.336-346. feb. (1979).
17. Feutrier Josiane, Kay, W. William and Trust, J. Trevor  
Purification and Characterization of Fimbriae Fromm Salmonella  
enteritidis Journal of Bacteriology. 168:1 pp. 221-227 oct. - -  
(1986).
18. Freitag, S. Cynthia, Etal.  
Genetic Analisis of the Phase Variation Control of Expression  
of Type I fimbrime in Escherichia coli  
Journal of Bacteriology. 162:2 pp. 668-675 May. (1985).
19. Gaastra, Wim and Graaf, K. Frits  
Host-Specific Fimbrial Adhesins of Noninvasive Enterotoxigenic  
Escherichia coli Strains.  
Microbiological Reviews. 46:2 pp.129-161. June (1982).
20. Gander, M. Rita and Thomas, L. Virginia  
Utilization of Anion-Exchange Chromatography and Monoclonal  
Antibodies to Characterize Multiple pilus types on a Uropatho-  
genic Escherichia coli 06 isolate.  
Infection and Immunity 51:2 pp. 385-393.
21. Gleckman, A. Richard.  
Treatment Duration for Urinary Tract Infections in Adults.  
Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 41:1 pp. 1-5 Jan. (1987).

22. Gleckman, A. Richard. Etal.  
Terapy of Symptomatic Pyelonephritis in Women  
Journal Urology. 133:2 pp. 176-178 (1985).
23. Hales, A. Barbara and Amyes, B.G.S.  
The Transfer of Genes Enoding Production of Mannose-Resistant  
Haemagglutinating Fimbriae From Uropathogenic Enterobacteria.  
Journal of General Microbiology 132 pp. 2243-2247. (1986).
24. Hull, R., Bieler, S., Falkow, S. and Hull, S.  
Chromosomal Map Position of Genes Encoding P. Adhesins in --  
Uropathogenic Escherichia coli.  
Infection and Immunity. 51:2 pp. 693-695. Feb. (1986).
25. Hull, S., Clegg, S., Eden Svanberg an Hull, R.  
Multiple Forms of Genes in Pyelonephritogenic Escherichia coli  
Encoding Adhesins Binding Globoseries Glycolipid Receptors. --  
Infection and Inmunity. 47:1 pp. 80-83. Ja. (1985).
26. Jones, W. Garth.  
"Receptors and Recogniting"  
Ed. J.L. Ressig Vol. 3 Serie B pp. 139-168 London (1977).
27. Kass, E.W.  
Asymptomatic Infections of the Urinary Tract.  
Trans. Assoc. of American Physicians. 69: pp. 59-64 (1956)
28. Kass, J. Evan  
Acute and Recurrent Urinary tract infections in Children  
Chief Pediatric Urology. 12:4 pp. 607-619 Decemb. (1985).
29. Knutton, Stuart. Etal.  
Ultraestructural Study of Adherence and Penetration of Cultured  
Cells By Two Invasive Escherichia coli Strains Isolated From  
Infants With Enteritis.  
Infection and Inmunity. 44:3 pp. 599-608. June (1984).

30. Knutton, Stuart, et al.  
Ultrastructural Study of Adhesion of Enterotoxigenic Escherichia coli to Erythrocytes and Human Intestinal Epithelial cells.  
Infection and Immunity. 44: 2 pp. 519-527 May. (1984).
31. Kusecek, B. et al.  
Lipopolysaccharide, Capsule, and Fimbriae as Virulence Factors Among O1, O7, O16, O18, O75, and K1, K5 or K100 Escherichia coli infection and immunity. 43:1 pp. 368-379. Jan (1984).
32. Krieg. R. Noel and Holt. G. John.  
Bergey's Manual of Systematic Bacteriology  
Vol. 1 ed. Williams Wilkins. Baltimore/London, (1984).
33. Ladd, T.I.; et al  
Rapid Method for Detection of Adherent Bacteria on Foley Urinary Catheters.  
Journal of Clinical Microbiology, 21:6, pp. 1004-1006,  
Junio (1985).
34. Ljunch, A; Faris, A y Wadstrom, T.  
Hemagglutination by Escherichia coli in Septicemia and Urinary Tract Infections.  
Journal of Clinical Microbiology, 10:4, pp. 477-481,  
(Octubre 1979)
35. Lomberg, Helena: et al  
Influence of Blood Group on the Availability of Receptors for Attachment of Uro pathogenic Escherichia coli.  
Infection and Immunity, 51:3, pp. 919-926, (Marzo 1986).

36. Naylor, G.R.E.  
A 16-Mounth Analisys of Urinary Tract Infection  
The Pathological Society of Great Britain and Ireland  
J. Med. Microbiology, vol. 17, pp. 3136, (1984).
37. Ogra, L. Pearay and Faden, S. Howard, M.D.  
Urinary Tract Infections in Childhood: an Update.  
The Journal of Pediatrics. Buffalo, New York pp. 1023-1029  
June (1985).
38. Orskov, Ida. etal.  
And Adhesive Protein Capsule of Escherichia coli.  
Infection and Inmunity. 47:1 pp. 191-200 Jan. (1985).
39. Pere, Auli, etal.  
Analysis of P Fimbriae on Escherichia coli 02, 04 and 06  
Infection and Inmunity. 51:2 pp. 618-625. Feb. (1986).
40. Redman, F. John and Seibert. J. Joanna  
The Role of Excretory Urography in the Evaluation of Girls  
With urinary tract infection.  
The Journal of Urology. 132 pp. 953-955 July (1984).
41. Rhen, Michael, etal.  
Fimbriation and P-Antigen Recognition of Escherichia coli -  
Strains Harboursing Mutated Recombinant Plasmids Encoding -  
Fimbrial Adhesins of the Uropathogenic E. coli Strain KS71.  
Jounarl of General Microbiology 132 pp. 71-77 (1986).

42. Roberts, A. James.  
Does circuncision Prevent Urinary Tract Infection.  
The Journal of Urology. 135 pp. 991-992. may. (1986).
43. Roberts, W.  
on the ocurrence of microorganisms in fresh urine.  
Brit. Med. J. 2 pp. 623 (1981).
44. Rosenheim, M.L.  
Mendellic Acid in the Tratment of Urinary Infections.  
Lancet I. pp. 1032 (1975).
45. Scaletsky, C.A. Isabel, etal.  
Correlation Between Adherence to Hela Cells and Serogroups  
Serotypes, and Bioserotypes of Escherichia coli.  
Infection and Immunity. 49:3 pp. 528-532. sept. (1985).
46. Scaletsky, C.A. Isabel, Silvia, M. Lourdes, and Trabulsi, R. Luiz.  
Distinctive Patterns of Adherence of Enteropathogenic Eschericia coli to Hela Cells.  
Infection and immunity. 45:2 pp. 534-536, Aug. (1984).
47. Sobel, M.B. Jack.  
New Aspects of Pathogenesis of Lower Urinary Tract Infections.  
Suplement Urology. 26:5 pp. 11-15. Nov. (1985).
48. Sociedad Chilena de Pediatría  
Infección Urinaria  
Normas de Pediatría, Edit. Científica, 2da. ed. 54:2 pp. 139-141  
(1979).

49. Svanborg, C. Eden, et al.  
Influence of adhesins on the interaction of Escherichia coli  
With Human Phagocytes.  
Infection and Immunity. 44:3 pp. 672-680. June (1984).
  
50. Väisänen-Rhen, Vuokko, et al.  
P-Fimbriated Clones Among Uropathogenic Escherichia coli. - -  
Strains.  
Infection and immunity. 43:1 pp. 149-155. Jan (1984).
  
51. Whitaker, H. Robert and Sherwood, Thomas.  
Another Look at Diagnostic Pathways in Children With Urinary  
Tract Infection.  
British Medical Journal. 228 pp. 839-841 March (1984).
  
52. Williams, H. Peter.  
Characterization of Nonfimbrial Mannose-Resistant Protein  
Hemagglutinins of two Escherichia coli strains Isolated From  
Infants With Enteritis.  
Infection and Immunity. 44:3 pp. 592-598 June (1984)
  
53. Wiswell, E. Thomas M. et al.  
Decreased Incidence of Urinary tract Infections in Circuncised  
Male Infants.  
Pediatrics. 75:5 pp. 901-903 (1985).