



FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

Trabajo de Fin de Carrera Titulado (Proyecto de Desarrollo):

**“ IDENTIFICACIÓN DE BACTERIAS MULTIRRESISTENTES A
ANTIBIÓTICOS Y DETECCIÓN DE GENES DE RESISTENCIA EN
PACIENTES PEDIÁTRICOS CON GASTROENTERITIS ”**

Realizado por:

JESICA PAOLA PILCO DAQUILEMA

Director del proyecto:

PhD. José Rubén Ramírez Iglesias

Como requisito para la obtención del título de:

MAGISTER EN BIOMEDICINA


Quito, 25 de enero 2022

DECLARACIÓN JURAMENTADA

Yo, **JESICA PAOLA PILCO DAQUILEMA**, ecuatoriana, con cédula de ciudadanía N°0603716978, declaro bajo juramento que el Proyecto de Desarrollo titulado: **IDENTIFICACIÓN DE BACTERIAS MULTIRRESISTENTES A ANTIBIÓTICOS Y DETECCIÓN DE GENES DE RESISTENCIA EN PACIENTES PEDIÁTRICOS CON GASTROENTERITIS** es de mi autoría, que no ha sido presentado anteriormente para ningún grado o calificación profesional, y se basa en las referencias bibliográficas descritas en este documento.

A través de esta declaración, cedo los derechos de propiedad intelectual a la UNIVERSIDAD INTERNACIONAL SEK, según lo establecido en la Ley de Propiedad Intelectual, reglamento y normativa institucional vigente.

JESICA
PAOLA
PILCO
DAQUILEMA



Firmado digitalmente por
JESICA PAOLA
PILCO DAQUILEMA
Fecha: 2022.03.03
10:23:52 -05'00'

Jesica Paola Pilco Daquilema

C.I.: 0603716978

DECLARACIÓN DEL DIRECTOR DE TESIS

Declaro haber dirigido este trabajo a través de reuniones periódicas con el estudiante, orientando sus conocimientos y competencias para un eficiente desarrollo del tema escogido y dando cumplimiento a todas las disposiciones vigentes que regulan los Trabajos de Titulación.



PhD. José Rubén Ramírez Iglesias

C.I.: 3050666993

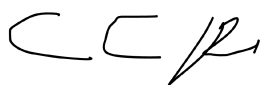
LOS PROFESORES INFORMANTES

Los Profesores Informantes:

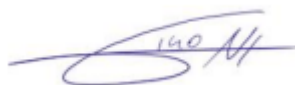
ANDRÉS CONTRERAS

LINO ARISQUETA HERRANZ

Después de revisar el Proyecto de Desarrollo presentado,
lo han calificado como apto para su defensa oral
ante el tribunal examinador.



M.D. Andrés Contreras



PhD. Lino Arisqueta Herranz

Quito, 25 de enero de 2022

Resumen:

Introducción: Los antibióticos sirven para el tratamiento y control de enfermedades infecciosas. Actualmente, el desarrollo continuo, la propagación de resistencias y multirresistencias bacterianas plantean problemas sobre su futuro, representando así una amenaza en la eficacia con los tratamientos, como consecuencia aumentando la morbimortalidad por la capacidad de diseminación en patologías como la Gastroenteritis Aguda (GEA) que en nuestro país no ha sido ampliamente estudiada. Existen investigaciones sobre la presencia de bacterias resistentes y multirresistentes a antibióticos en adultos y niños a nivel mundial, pero pese a esto todavía no se cuenta con una información y datos de bacterias multirresistentes en niños con GEA en Ecuador.

Objetivo: Determinar la presencia de bacterias multirresistentes a antibióticos en pacientes pediátricos con Gastroenteritis Aguda, mediante técnicas microbiológicas y moleculares.

Materiales y métodos: Se analizarán aislados bacterianos en heces de 206 pacientes pediátricos con diagnóstico de GEA, como criterio de inclusión solo a aquellos pacientes que no hayan recibido ningún tratamiento en base a antibióticos. Para la parte microbiológica se utilizará un protocolo según recomendado por las directrices del Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI), en el aislamiento fenotípico de las bacterias se ocuparán agares como; MacConkey, Agar SS (*Salmonella, Shigella*) y Agar Preston, en la identificación bacteriana, se utilizarán pruebas como la catalasa y coagulasa, pruebas bioquímicas como TSI o Kligler, lisina, citrato, urea, SIM. En la susceptibilidad a los antibióticos se determinará mediante el método de difusión en disco utilizando la técnica de kirby-baur en placas de agar Mueller-Hinton, los discos de antibióticos que se utilizarán serán: Ceftriaxona (CRO)30 ug, Cefuroxima (CXM) 30 ug, Amikacina (AMK) 30 ug, Ampicilina+Sulbactam (SAM) 20 ug, Amoxicilina+ Ácido Clavulánico (AMC) 20/10 ug, Gentamicina (GEN) 10 ug, Fosfomicina (FOS) 20 ug y Sulfatrimetropin (STX) 20 ug.

Para la parte molecular se realizará la detección de seis conjuntos de cebadores específicos para la obtención de amplicones por PCR de genes asociados a la resistencia siendo estos (blaTEM-1, blaCTX-M, blaAmpC, FosA1, Sul-1 y aac (6') /aph (2')). Los productos amplificados se analizarán mediante electroforesis en gel de agarosa.

Resultados Esperados: Encontrar bacterias multirresistentes en las muestras de pacientes pediátricos con GEA como *E. Coli*, *Salmonella*, *Shiguella*, *Klebsiella pneumoniae* y *Proteus*. Además de determinar molecularmente los genes de resistencia, que se asocien con las características fenotípicas microbiológicas. Los resultados obtenidos de esta investigación permitirán dejar un precedente en el Ecuador aportando con datos epidemiológicos sobre la presencia de bacterias multirresistentes presentes en poblaciones pediátricas, posteriormente se necesitarán más investigaciones que ayuden a determinar si los genes de resistencia encontrados son heredables o no.

Palabras clave: Fenotípico, bacterias, multirresistencia, GEA, genes, PCR.

La información detallada del presente proyecto de desarrollo reposa en la Facultad de Ciencia de la Salud de la UISEK.

Abstract:

Introduction: Antibiotics serve for the treatment and control of infectious diseases. Actually, the continuous development, the propagation of bacterial resistances and multiresistances pose problems about their future, representing a threat in the efficacy of treatments, as a consequence increasing morbimortality due to the capacity of dissemination in pathologies such as acute gastroenteritis (AGE), which has not been widely studied in our country.

There is research on the presence of bacteria resistant and multiresistant to antibiotics in adults and children worldwide, but despite this, there is still no information and data on multiresistant bacteria in children with AGE in Ecuador.

Objective: To determine the presence of multiresistant bacteria to antibiotics in pediatric patients with acute gastroenteritis, by means of microbiological and molecular techniques.

Materials and methods: Bacterial isolates in stool of 206 pediatric patients with diagnosis of AGE will be analyzed, as inclusion criteria only those patients who have not received any antibiotic-based treatment.

For the microbiological part, a protocol will be used as recommended by the Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI) guidelines, in the phenotypic isolation of bacteria, agars such as MacConkey, SS Agar (*Salmonella*, *Shigella*) and Preston Agar will be used for bacterial identification, tests such as catalase and coagulase, biochemical tests such as TSI or Kligler, lysine, citrate, urea, SIM will be used. In antibiotic susceptibility will be determined by the disk diffusion method using the kirby-baur technique on Mueller-Hinton agar plates, the antibiotic disks to be used will be: Ceftriaxone (CRO)30 ug, Cefuroxime (CXM) 30 ug, Amikacin (AMK) 30 ug, Ampicillin+Sulbactam (SAM) 20 ug, Amoxicillin+ Clavulanic Acid (AMC) 20/10 ug, Gentamicin (GEN) 10 ug, Fosfomycin (FOS) 20 ug and Sulfatrimetropin (STX) 20 ug.

For the molecular part, six sets of specific primers will be used to obtain PCR amplicons of resistance-associated genes (blaTEM-1, blaCTX-M, blaAmpC, FosA1, Sul-1 and aac (6') /aph (2')). The amplified products will be analyzed by agarose gel electrophoresis.

Expected results: To find multiresistant bacteria in samples from pediatric patients with GEA such as *E. coli*, *Salmonella*, *Shigella*, *Klebsiella pneumoniae* and *Proteus*. In addition to the molecular determination of resistance genes associated with microbiological phenotypic characteristics.

The results obtained from this research will set a precedent in Ecuador by providing epidemiological data on the presence of multiresistant bacteria in pediatric populations. Further research will be needed to determine whether the resistance genes found are heritable or not.

Key words: Phenotypic, bacteria, multiresistance, GEA, genes, PCR.

The detailed information of the present Development Project rests in the Faculty of Health
Science of the UISEK.