



**UNIVERSIDAD DE LOS ANDES
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOANÁLISIS
ESCUELA DE BIOANÁLISIS
DEPARTAMENTO DE BIOANÁLISIS CLÍNICO
LABORATORIO DE SÍNDROMES
GASTROINTESTINALES Y URINARIOS
“Prof. (a). Luisa Vizcaya”**



**MULTIRRESISTENCIA A LOS ANTIMICROBIANOS EN *Escherichia coli*
COMENSAL RELACIONADA CON EL MÉTODO DE KIRBY-BAUER Y LOS
FACTORES CLÍNICO-EPIDEMIOLÓGICOS EN HECES DE NIÑOS SANOS**

(Trabajo de Grado presentado como requisito para optar al título de
Licenciados en Bioanálisis)

Autor

Héctor L. Gutiérrez G.

CI: 20.432.789

Marlyn V. Cegarra B.

CI: 21.439.239

Tutor:

Dr. José Gregorio Hernández

Mérida, julio de 2019

DEDICATORIA

A DIOS Todopoderoso, por ser el Guía espiritual en este transitar académico, por iluminarnos en todo momento y darnos la capacidad y el discernimiento requeridos para culminar felizmente esta meta.

A nuestras Madres, por ser ejemplo de constancia, trabajo y sacrificio; gracias por a su apoyo y amor incondicional. Este logro les pertenece.

A nuestros Padres, pilares fundamentales en nuestros hogares haciéndonos ver el valor de las cosas, y que con trabajo y amor “Todo es posible”. Este logro también les pertenece.

A nuestros hermanos, quienes a diario compartieron de muchas maneras el alcance de esta meta, gracias por el apoyo.

A nuestros abuelos, tíos y demás familiares, quienes significativamente contribuyeron a ser posible el logro de este objetivo.

Marlyn y Héctor

AGRADECIMIENTOS

A Dios Todopoderoso, por acompañarnos y guiarnos en este paso de nuestras vidas, por enseñarnos que a pesar de la oscuridad siempre hay un rayito de luz, el cual nos guía hacia adelante.

A nuestros padres, por su compañía en este paso tan importante de nuestras vidas y que sin importar las circunstancias siempre están presentes con su amor y apoyo, enseñándonos la base de todo, fundamentada en el amor y la humildad.

A la Ilustre Universidad de Los Andes, específicamente a la Facultad de Farmacia y Bioanálisis, por ser la casa de estudios que nos abrió las puertas para la materialización de uno de nuestros sueños más añorados; impartiendo un cúmulo de conocimientos clave para el ejercicio profesional.

Al profesor Dr. José Gregorio Hernández, por su paciencia, conocimientos, apoyo y confianza en nosotros. Gracias por sus orientaciones, tiempo invertido y acompañamiento como tutor en esta investigación.

A las profesoras Evelyn Alvarez y Yanelsy Peña, agradecidos por su tiempo y colaboración en las sugerencias y recomendaciones pertinentes al trabajo de investigación, con su ayuda y apoyo materializamos esta meta.

Al Laboratorio de Síndromes Gastrointestinales y Urinarios, en especial a las Licenciadas: Miguelis, Ana Flores y María Eugenia Nieves, por su apoyo incondicional en la ejecución de la fase experimental de esta investigación.

A todas aquellas personas que significativamente compartieron y contribuyeron a la culminación satisfactoria de esta investigación: Miguel Pérez, Nelson Guillén, Geoveslit González, Yilbert Falcón, Frank Castillo, Magalis Fonseca y José Contreras.

A todos ustedes Gracias, Dios les Bendiga siempre.

TABLA DE CONTENIDO

	pág.
TABLA DE ESQUEMAS	viii
INDICE DE TABLAS	ix
TABLA DE GRÁFICOS	xii
TABLA DE FIGURAS	xiv
RESUMEN	xv
INTRODUCCIÓN	1
Antecedentes del Problema	1
El Problema	7
Marco Teórico	8
Trabajos Previos	8
Antecedentes Históricos	12
Bases Teóricas	13
Aproximación teórica sobregenética molecular de la resistencia a los antibióticos	13
Aproximación teórica sobre la resistencia a los antibióticos	14
Aproximación teórica sobre el indicador centinela de la resistencias a los antimicrobianos	14
Modelo conceptual de la aproximación epidemiológica	15
<i>Escherichia coli</i> comensal y resistencia a los antimicrobianos	16
Clasificación de los antibióticos	16
Análisis de la multirresistencia a los antimicrobianos	18

Definición operacional de términos	19
Antibióticos	19
Nivel socioeconómico	19
Grupo de edades	20
Género	20
Cultivo Primario	20
Condiciones aerobiosis	20
Antibiograma	21
Operacionalización del evento de estudio y criterio de análisis	21
Objetivos de la investigación	28
Objetivo general	28
Objetivos específicos	28
MATERIALES Y MÉTODOS	29
Tipo de investigación	29
Diseño de la Investigación	29
Población y muestra	30
Unidad de investigación	30
Selección del tamaño de la muestra	30
Sistema de variables	31
Instrumento de recolección de datos	31
Procedimientos de la investigación	31

Estudio clínico-epidemiológico	31
Recolección y transporte de la muestra	32
Aislamiento e identificación de <i>Escherichia coli</i> comensal	32
Estudio de los patrones de susceptibilidad de <i>Escherichia coli</i> comensal	33
Lectura del antibiograma	33
Análisis de la multirresistencia de <i>Escherichia coli</i> comensal	33
Diseño de análisis	34
RESULTADOS Y DISCUSION	41
Resultados	41
Discusión	63
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	66
Conclusiones	66
Recomendaciones	67
REFERENCIAS BIBLIHEMEROGRÁFICAS	68
ANEXOS	73

TABLA DE ESQUEMAS

	pág.
Esquema 1. Aislamiento e Identificación de <i>Escherichia colicomensal</i>.	35
Esquema 2. Análisis de los patrones de susceptibilidad de <i>Escherichiacoli</i> comensal.	36

www.bdigital.ula.ve

INDICE DE TABLAS

	pág.
Tabla 1.Operacionalización del evento multirresistencia a los antimicrobianos de <i>E. coli</i> comensal.	22
Tabla 2. Operacionalización de la variable frecuencia de uso de antimicrobianos.	23
Tabla 3. Operacionalización de la variable factores clínicos enfermedades que motivaron la prescripción de antibióticos.	24
Tabla 4. Operacionalización de la variable factores epidemiológicos género.	25
Tabla 5. Operacionalización de la variable factores epidemiológicos nivel socioeconómico.	26
Tabla 6. Operacionalización de la variable factores epidemiológicos grupo de edades.	27
Tabla 7. Distribución de frecuencias de la variable edad (Nº, %).Consultorio Pediátrico “La Cruz Dorada” y Laboratorio de Síndromes Gastrointestinales y Urinarios “Profª Luisa Vizcaya” de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis (ULA).Septiembre 2016 hasta Junio 2019.	47
Tabla 8. Medidas de posición y variabilidad de la variable edad (Nº).Consultorio Pediátrico “La Cruz Dorada” y Laboratorio de Síndromes Gastrointestinales y Urinarios “Profª Luisa Vizcaya” de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis (ULA). Septiembre 2016 hasta Junio 2019.	50
Tabla 9. Nivel socioeconómico de los niños (Nº y %)).Consultorio Pediátrico “La Cruz Dorada” y Laboratorio de Síndromes Gastrointestinales y Urinarios “Profª Luisa Vizcaya” de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis (ULA). Septiembre 2016 hasta Junio 2019.	53

Tabla 10. Enfermedades que motivaron el uso de antibióticos en los niños (Nº y %).Consultorio Pediátrico “La Cruz Dorada” y Laboratorio de Síndromes Gastrointestinales y Urinarios “Profª Luisa Vizcaya” de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis (ULA). Septiembre 2016 hasta Junio 2019.	55
Tabla 11. Susceptibilidad de <i>E. coli</i> comensal a los β-lactámicos (Nº y %) en heces de niños sanos.Consultorio Pediátrico “La Cruz Dorada” y Laboratorio de Síndromes Gastrointestinales y Urinarios “Profª Luisa Vizcaya” de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis (ULA).Septiembre 2016 hasta Junio 2019.	56
Tabla 12. Susceptibilidad de <i>E. coli</i> comensal a Trimetoprim-sulfametoxazol, amikacina y quinolonas(Nº y %) en heces de niños sanos.Consultorio Pediátrico “La Cruz Dorada” y Laboratorio de Síndromes Gastrointestinales y Urinarios “Profª Luisa Vizcaya” de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis (ULA). Septiembre 2016 hasta Junio 2019.	57
Tabla 13. Resistencia de <i>E. coli</i> comensal a uno o varios antibióticos.Consultorio Pediátrico “La Cruz Dorada” y Laboratorio de Síndromes Gastrointestinales y Urinarios “Profª Luisa Vizcaya” de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis (ULA). Septiembre 2016 hasta Junio 2019.	58
Tabla 14. Análisis de correspondencia de la variable multirresistencia a los antimicrobianos en <i>E. coli</i> comensal y la frecuencia de uso de antimicrobianos.Consultorio Pediátrico “La Cruz Dorada” y Laboratorio de Síndromes Gastrointestinales y Urinarios “Profª Luisa Vizcaya” de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis (ULA). Septiembre 2016 hasta Junio 2019.	60
Tabla 15. Multirresistencia de <i>E. coli</i> comensal en correspondencia con los grupos de edades.Consultorio	61

Pediátrico “La Cruz Dorada” y Laboratorio de Síndromes Gastrointestinales y Urinarios “Prof^a Luisa Vizcaya” de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis (ULA). Septiembre 2016 hasta Junio 2019.

**Tabla 16. Multirresistencia de *E. coli* comensal en correspondencia con el nivel socioeconómico. Consultorio 62
Pediátrico “La Cruz Dorada” y Laboratorio de Síndromes Gastrointestinales y Urinarios “Prof^a Luisa Vizcaya” de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis (ULA). Septiembre 2016 hasta Junio 2019.**

www.bdigital.ula.ve

TABLA DE GRÁFICOS

	pág.
Gráfico 1. Distribución de la variable edad de los niños sanos en correspondencia con el Gráfico de Tallo y Hoja (Nº).Consultorio Pediátrico “La Cruz Dorada” y Laboratorio de Síndromes Gastrointestinales y Urinarios “Profª Luisa Vizcaya” de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis (ULA). Septiembre 2016 hasta Junio 2019.	48
Gráfico 2. Distribución de la variable edad de los niños sanos en correspondencia con el Gráfico de caja y bigote.Consultorio Pediátrico “La Cruz Dorada” y Laboratorio de Síndromes Gastrointestinales y Urinarios “Profª Luisa Vizcaya” de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis (ULA). Septiembre 2016 hasta Junio 2019.	49
Gráfico 3. Distribución de la variable grupos de edades de los niños sanos (Nº y %). Consultorio Pediátrico “La Cruz Dorada” y Laboratorio de Síndromes Gastrointestinales y Urinarios “Profª Luisa Vizcaya” de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis (ULA). Septiembre 2016 hasta Junio 2019.	51
Gráfico 4. Distribución del variablegénero de los niños sanos. Consultorio Pediátrico “La Cruz Dorada” y Laboratorio de Síndromes Gastrointestinales y Urinarios “Profª Luisa Vizcaya” de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis (ULA). Septiembre 2016 hasta Junio 2019.	52
Gráfico 5. Distribución de la variable frecuencia de uso de los antibióticos en los niños sanos. Consultorio Pediátrico “La Cruz Dorada” y Laboratorio de Síndromes Gastrointestinales y Urinarios “Profª Luisa Vizcaya” de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis (ULA). Septiembre 2016 hasta Junio 2019.	54

**Gráfico 6. Multirresistencia de *E. colicomensal*. Consultorio
Pediátrico “La Cruz Dorada” y Laboratorio de Síndromes
Gastrointestinales y Urinarios “Prof^a Luisa Vizcaya” de la
Facultad de Farmacia y Bioanálisis (ULA). Septiembre 2016
hasta Junio 2019.** 59

www.bdigital.ula.ve

TABLA DE FIGURAS

	pág
Figura 1. Colonias lactosa positiva en agar MK sugestivas de <i>Escherichia coli</i>. Muestra problema n° 3 Laboratorio de Síndromes Gastrointestinales y Urinarios “Prof. (a). Luisa Vizcaya”.	37
Figura 2. Prueba de la Oxidasa para la identificación de la familia Enterobacteriaceae (Oxidasa negativa). Muestra problema n° 5^a-5b y 6a-6b. Laboratorio de Síndromes Gastrointestinales y Urinarios “Prof. (a). Luisa Vizcaya”.	38
Figura 3. Lectura de las Pruebas Bioquímicas (KIA, LIA, MIO, CITRATO,) para Enterobacterias. Cepa problema n° 5b y 6b. Laboratorio de Síndromes Gastrointestinales y Urinarios “Prof. (a). Luisa Vizcaya”.	39
Figura 4. Lectura de patrones de susceptibilidad de <i>Escherichia coli</i> comensal en correspondencia con el tamaño del halo de inhibición. Cepa problema n° 5b. Laboratorio de Síndromes Gastrointestinales y Urinarios “Prof. (a). Luisa Vizcaya”.	40



UNIVERSIDAD DE LOS ANDES
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOANÁLISIS
ESCUELA DE BIOANÁLISIS
LICENCIATURA EN BIOANÁLISIS
LINEA DE INVESTIGACIÓN: Multirresistencia



**MULTIRRESISTENCIA A LOS ANTIMICROBIANOS EN *Escherichiacoli*
COMENSAL RELACIONADA CON EL MÉTODO DE KIRB-BAUER Y LOS
FACTORES CLÍNICO-EPIDEMIOLÓGICOS EN HECES DE NIÑOS SANOS**

Trabajo de Grado

Autores

Héctor L. Gutiérrez G.

CI: 20.432.789

Marlyn V. Cegarra B.

CI: 21.439.239

Tutor:

Dr. José Gregorio Hernández

RESUMEN

La multirresistencia a los antimicrobianos es un problema de salud pública a nivel mundial. Estudiar microorganismos comensales como *Escherichia colies* un patrón apropiado para estimar el impacto del uso general de antibióticos y predecir la evolución de la resistencia antimicrobiana. El objetivo de este trabajofueanalizar la correspondencia entre la multirresistencia a los antimicrobianos en *Escherichia coli* comensal, el método de Kirby-Bauer y los factores clínico-epidemiológicos en heces de niños sanos. El tipo de investigación fue analítica y el diseño de campo, de laboratorio, contemporáneo, transeccional y multivariable. Ingresaron al estudio 34 muestras fecales provenientes de niños sanos, previo consentimiento informado de los padres, las cuales fueronprocesadas en el laboratorio de Síndromes Gastrointestinales y Urinarios “Prof (a). Luisa Vizcaya”. Los datos clínicos y epidemiológicos fueron recolectados a través de un instrumento validado por juicio de expertos y coeficiente alfa de Cronbach. Una vez identificado el microorganismo comensal se realizó el antibiograma a través del método de Kirby-Bauer, para analizar la multirresistencia, la cual fue interpretada según el criterio: resistencia a uno o más antibióticos de tres familias diferentes. La prevalencia de la multirresistencia de las cepas de *E. coli* comensal, obtenida en esta investigación, fue de 14,7 %. La multirresistencia fue de bajo nivel (<de 20 %) en el grupo de estudio. Predominó en el grupo de edades de 6 a 12 meses, en la clase media alta y no reveló correspondencia con la frecuencia de uso de antibióticos.

Palabras clave: multirresistencia a los antimicrobianos, *Escherichia colicomensal*, método de kirby-Bauer, factores clínico-epidemiológicos, frecuencia de uso de los antibióticos, niños sanos.

INTRODUCCIÓN

Antecedentes del problema

La Organización Mundial de la Salud (OMS) define la resistencia bacteriana como el fenómeno por el cual un microorganismo no es afectado por un antimicrobiano al que anteriormente presentó un fenotipo sensible. En este sentido, el mal uso y la dosificación inadecuada de estos fármacos han transformado a la población bacteriana. Por eso, muchos antimicrobianos han perdido parcial o totalmente su efecto¹. La resistencia es un fenómeno natural, pero se incrementa con el uso y abuso de los antimicrobianos en el tratamiento de las enfermedades infecciosas. Además, no solo afecta a los patógenos bacterianos sino también a las bacterias de la microbiota habitual, sobre todo a las provenientes de tracto intestinal. En consecuencia, la microbiota comensal puede transformarse en un reservorio de genes de resistencia debido a la presión selectiva de los agentes antimicrobianos².

En correspondencia con la resistencia antimicrobiana y la microbiota intestinal, es importante considerar que el intestino tiene una gran diversidad de bacterias comensales, aproximadamente entre 400 y 500 especies. Estas tienen un rol importante en la salud y en las enfermedades del ser humano. También se han considerado implicadas en el fenómeno de la resistencia a los antimicrobianos. A su vez, en el intestino es donde ocurre la transferencia de genes de resistencia. La transferencia de estos genes desde la microbiota residente hasta las bacterias patógenas puede causar daños severos en la salud humana³. Este fenómeno no solo modifica la susceptibilidad a los antimicrobianos, también puede fomentar la multiresistencia.

La multiresistencia bacteriana es un problema de salud global, tanto en el ambiente hospitalario como en el comunitario, con fuertes impactos en la morbilidad, mortalidad y costos⁴. Sin embargo, el término microorganismo multiresistente se ha utilizado sobre todo en bacterias clásicamente

hospitalarias que han desarrollado resistencia a múltiples antimicrobianos. Estos microorganismos multirresistentes son capaces de ocasionar diferentes infecciones graves, tal es el caso de las enterobacterias productoras de betalactamasas de espectro extendido (BLEE)⁵. Este fenómeno de multirresistencia se presenta cuando el microorganismo posee al menos estos dos criterios: resistencia a tres o más familias o grupos de antibióticos de uso común y, en consecuencia, este debe ser un problema para la terapia aplicada⁶. En términos causales, la presencia de microorganismos comensales resistentes a los antimicrobianos puede deberse a la presión directa del consumo de antimicrobianos o, de manera alternativa, a la adquisición de microorganismos resistentes⁷.

Escherichia coli (*E. coli*) es un miembro típico de la microbiota intestinal habitual, tanto en humanos como en animales⁸. Por ello, el análisis de los niveles de resistencia a los antimicrobianos en cepas de *Escherichia coli* comensales es un modelo válido para estimar el impacto del uso general de antimicrobianos en una área específica. Además, es una aproximación adecuada para predecir la evolución de la resistencia antimicrobiana en la comunidad⁹. Por eso, ha sido reconocido como un indicador en la vigilancia de la resistencia a los antimicrobianos. En tal sentido, Macías, Herrera y Muñoz refirieron que:

‘El microorganismo predomina en la microbiota intestinal y puede estar actuando como reservorio de genes de resistencia antibiótica; siendo responsable de la transmisión de la resistencia antimicrobiana a las bacterias patógenas. En efecto, se ha reportado la relación entre las bacterias de los aislamientos clínicos y la probabilidad de que su resistencia haya sido adquirida a través de microorganismos comensales’¹⁰.

El método utilizado con mayor frecuencia para analizar la susceptibilidad de las bacterias a los agentes antimicrobianos es la denominada prueba de difusión del disco. Esta técnica fue estandarizada por Kirby y Bauer en

1966;por eso, dicho método se le conoce con el nombre de kirby-Bauer³. Específicamente, se basa en colocar un disco impregnado con una determinada cantidad de antimicrobiano sobre un medio sólido inoculado con bacterias. En consecuencia, el antimicrobiano difundirá, inhibiendo o permitiendo el crecimiento de la bacteria⁴.

El evento de estudio de esta investigación, representado por la multirresistencia de *E. coli* comensal relacionada con el método de kirby-Bauer y los factores clínico-epidemiológicos, ha sido sustentado por varias aproximaciones teóricas. Específicamente, están relacionadas con: la genética molecular de la resistencia a los antibióticos, tipos de resistencia, indicador centinela relacionado con la resistencia a los antibióticos, aproximación epidemiológica y los factores clínicos. La primera, explica que la variabilidad genética es esencial para producir la evolución microbiológica⁷. La segunda, refiere que existen tipos de resistencia por los cuales las bacterias pueden expulsar o destruir al compuesto antimicrobiano³. La tercera, refiere que un indicador centinela puede informar sobre la evolución de un fenómeno. La cuarta, relacionada con la aproximación epidemiológica, refiere que un evento asociado a la salud se puede focalizar desde una perspectiva individual¹¹. Estas aproximaciones permiten comprender el por qué y el cómo del fenómeno de estudio.

La descripción del problema de estudio motivó a los autores de esta investigación a considerar la situación actual, relacionada con las evidencias o razones que informaron sobre su evolución. Al respecto, la OMS consideró que la resistencia a los antimicrobianos es motivo de preocupación mundial, pues las infecciones por microorganismos multirresistentes no responden a los tratamientos habituales. En consecuencia, prolongan la duración de la enfermedad y aumentan la mortalidad. Asimismo, reducen la eficacia del tratamiento, lo cual hace que los enfermos persistan infectados por más tiempo e infecten a otras personas. De igual manera, existe el riesgo de que muchas de las enfermedades infecciosas se vuelvan intratables. Por lo tanto,

al dejar de responder al tratamiento de primera línea, estimulan el uso de productos más costosos. Además, aumentan los costos asistenciales, la carga económica sobre la familia y la sociedad. Por eso, la resistencia bacteriana compromete el éxito de los tratamientos¹.

Entre otras evidencias situacionales, la resistencia de *E. colicomensal* a las diferentes familias de antimicrobianos, ha sido reportada por diferentes autores en varios continentes. En países como Venezuela resultan tan apremiantes como una enfermedad cualquiera. Pues, los escasos recursos económicos de las personas y la ausencia de un cuerpo legal que controle eficazmente la venta de antibióticos, contribuyen con este problema. También, influyen las particularidades de los pacientes, de las instituciones médicas y los reportes errados o poco verificados de muchos especialistas. En consecuencia, todos estos factores constituyen variables decisivas en el desarrollo de este problema¹².

Los niños también han sido blanco de las consecuencias de la resistencia a los antimicrobianos, considerándose un problema importante en esta parte de la población. Pues, es en los primeros años de vida cuando se producen la mayoría de las infecciones víricas y bacterianas. Por tal motivo, los niños son el grupo de la población más expuesto a recibir múltiples tratamientos con antibióticos. Concretamente, estos medicamentos eliminan las bacterias que en ese momento producen alguna infección. Pero, también sucumben las bacterias comensales, tales como las que forman parte de la microbiota intestinal. Además, algunas de las bacterias que causan infecciones pediátricas se encuentran entre las más resistentes a estos fármacos. Por lo tanto, este fenómeno disminuye la calidad de vida y compromete el futuro de esta población vulnerable¹².

En el mismo orden de ideas algunos investigadores han reportado el fenotipo de resistencia antimicrobiana de *E. coli* comensal en heces de niños sanos. Al respecto, Boket *et al*¹³ encontraron resistencia antimicrobiana alta en las cepas de *E. colicomensal* de niños a diferentes antibióticos: ampicilina, cefalotina y

estreptomicina. Mientras que la resistencia baja estuvo presente en algunos antibióticos betalactámicos, aminoglucósidos, quinolonas, tetraciclina y trimetoprim-sulfametoxazol. Por otro lado, Karamiet *et al*¹⁴ analizaron la resistencia a varios antibióticos en las cepas comensales de *E. coli*: no encontraron resistencia alta, predominaron las cepas resistentes a trimetoprim-sulfametoxazol (8%) y tetraciclinas (10%). Mientras que todas las cepas fueron sensibles a los aminoglucósidos probados (gentamicina, tobramicina). Entre otros, Shakya *et al*¹⁵ encontraron que 72% de las cepas aisladas fueron resistentes a por lo menos un antibiótico y 33% fueron multirresistentes.

Finalmente, Ecker *et al*¹⁶ publicaron resultados relacionados con la frecuencia de uso de antibióticos en correspondencia con el tipo de enfermedad; lo cual fomentó la presión selectiva ejercida sobre los microorganismos patógenos. En tal sentido, estos investigadores encontraron una tendencia a la prescripción de antibióticos, en niños menores de 5 años, relacionada con la faringitis, el broncoespasmo, disentería y neumonía. Con menor frecuencia los antibióticos fueron indicados en el caso de resfriado común y diarrea acuosa. Los autores reportaron que las tendencias de sobreuso de antibióticos no justificadas por el tipo de enfermedad, probablemente tenían relación con la ausencia de formación en Pediatría de los médicos prescriptores. La situación actual, aunada a la descripción del problema de estudio de esta investigación fue la fuente de razones y por qué que justificaron la realización de la misma. En este sentido, Hurtado ha referido varios tipos de razones que podrán justificar una investigación. Específicamente pueden ser razones de necesidad, potencialidad, interés, contradicción, oportunidad y tendencia¹⁷.

Esta investigación está justificada, pues considera un evento que se ha convertido en un problema emergente, tal como la multirresistencia a los antimicrobianos. Por tanto, es una necesidad estudiarlo ya que no solamente engloba factores clínicos sino también los epidemiológicos, los cuales

pueden dejar improntas con consecuencias graves para la población infantil. Además, es importante considerar que esta población representa a una comunidad con alta probabilidad de tener contacto con cepas bacterianas con resistencia y multiresistencia a los antibióticos¹. En tal sentido, los niños son más susceptible de padecer enfermedades infecciosas, lo cual podría influir sobre el uso irracional de antibióticos; generando resistencia y multiresistencia en las bacterias comensales. Resaltó más la necesidad de realizar esta investigación cuando en la realidad se encontró que la propagación de esta resistencia representa un desafío para la salud, pues afecta la eficacia de los agentes antimicrobianos. Además, produce un incremento sustancial de las tasas de enfermedad y muerte por enfermedades infecciosas².

En una comunidad expuesta a infecciones frecuentes, se observan determinantes importantes que influyen, evidentemente, en la multiresistencia tales como los factores clínicos y epidemiológicos³. En tal sentido, en esta investigación se encontraron razones de potencialidad al ser un punto de partida en la búsqueda de acciones necesarias para disminuir y vigilar la frecuencia de la multiresistencia, especialmente en niños susceptibles. Esto, además, ha estimulado el interés de los investigadores en los aspectos relacionados con los mecanismos que las bacterias desarrollan para combatir los antibióticos. En tal sentido, los conocimientos relacionados con la genética molecular de la resistencia a los antibióticos⁷, incrementó el interés durante el desarrollo de esta investigación.

Entre otros aspectos, tanto la situación actual del problema como la justificación de la investigación han focalizado el alcance de este proceso indagatorio. En este sentido, los alcances de la investigación se relacionan con la profundidad del conocimiento que los autores se proponen. Al respecto, se consideró la propuesta de Hernández-Sampieri *et al.* (2010), quienes refirieron lo siguiente:

‘Si hemos decidido una vez hecha la revisión de la literatura, que nuestra investigación vale la pena y debemos realizarla, el siguiente paso consiste en visualizar el alcance que tendrá. No se debe considerar el alcance como “tipos” de investigación, ya que, más que ser una clasificación, constituye un continuo de “causalidad” que puede tener un estudio’¹⁸.

Por lo tanto, durante este estudio se pretendió analizar la relación entre la multirresistencia a los antimicrobianos en *Escherichiacolicomensal* desde un nivel de complejidad analítico, en el cual se consideró la relación de correspondencia con el método de Kirby-Bauery con los factores clínico-epidemiológicos.

Finalmente, es importante considerar que una investigación aunque tenga un alcance concreto, podría tener limitaciones. Al respecto Hernández-Sampieri *et al*¹⁸refirieron que las limitaciones de una investigación pueden afectar su viabilidad. Están relacionadas con: recursos teóricos, técnicos y presupuestarios. Específicamente, en esta investigación desde la fase de proyecto se identificaron algunas limitaciones relacionadas con la disponibilidad de los discos de antibióticos, ya que en la actualidad los costos elevados y la precaria distribución afectan su adquisición. Por eso, se consideró un plan de financiamiento respectivo, con el fin de superar esta limitación.

El problema

Después de describir la situación actual del problema del problema, los autores de esta investigación formularon el siguiente enunciado holopráxico:

- ¿Cuál es la relación entre la multirresistencia a los antimicrobianos en *Escherichiacolicomensal*, el método de Kirby-Bauer y los factores clínico-epidemiológicos, en heces de niños sanos que acudieron al Consultorio Pediátrico “La Cruz Dorada” y al Laboratorio de Síndromes

Gastrointestinales y Urinarios “Prof (a) Luisa Viscaya”, en la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes, durante el periodo de Septiembre 2016 hasta Junio 2019.

Marco teórico

Trabajos previos

Boket *al* (2018), publicaron en la revista científica *International Journal of Environmental Research and Public Health* un trabajo titulado: *Comparison of Commensal Escherichia coli Isolates from Adults and Young Children in Lubuskie Province, Poland: Virulence Potential, Phylogeny and Antimicrobial Resistance*. El objetivo general de este estudio fue comparar la diversidad genética de aislamientos *E. coli* comensal, de dos grupos de edades: adultos y niños pequeños. El tipo de investigación fue comparativa y el diseño: contemporáneo, de laboratorio y multieventual. Para este estudio se utilizaron 382 muestras fecales de personas sanas que vivían en la provincia de Lubuskie (Polonia Occidental) seleccionadas aleatoriamente. El procedimiento se realizó de la siguiente manera: las muestras fueron sembradas en agar Mac Conkey, se incubaron a 37°C durante 24 horas. Las cepas de *E. coli* se identificaron mediante pruebas bioquímicas en más de la mitad de las colonias aisladas. La determinación de cuatro principales Grupos filogenéticos, la identificación de genes de virulencia y determinantes de resistencia antimicrobiana se realizó mediante PCR multiplex o simplex. El análisis fenotípico de la resistencia se hizo con el método de difusión del disco. La resistencia antimicrobiana en las cepas de *E. coli* de adultos y niños, respectivamente, fue: ampicilina (38,2/31,4%), amoxicilina-ácido clavulánico (13,5/3,5%), piperacilina (24,3/5,8%), cefalotina (29,1/27,9%), cefuroxima (6,8/3,5%), cefotaxima (1,4/2,7%), estreptomycinina (46,3/22,1%), gentamicina (10,8/10,5%), amikacina (10,1/8,1%), tetraciclina (21,3/19,8%),

doxiciclina (15,5/12,8%), trimetoprim-sulfametoxazol (11,1/14%), cloranfenicol (6,1/0%), ácido nalidixico (13,2/9,3%), norfloxacin (2,7/2,3%), ciprofloxacina (2,7/2,3%), y nitrofurantoína (4,1/3,5%). Entre sus principales hallazgos se destacó la prevalencia de los genes de resistencia, siendo significativamente mayor entre los aislados de adultos que de niños pequeños. Sin embargo, más aislamientos de adultos que de niños se clasificaron como cepas resistentes a por lo menos un solo antibiótico, y otras cepas multirresistentes¹³. Por consiguiente, este artículo guardó una estrecha relación con la investigación realizada, ya que se estudió la resistencia a los antimicrobianos de *E. coli* comensal en niños, además se probaron las familias de antimicrobianos similares.

Karamiet *al* (2016) publicaron en la revista científica *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* un trabajo de investigación titulado: *Antibiotic resistance is linked to carriage of papC and iutA virulence genes and phylogenetic group D background in commensal and uropathogenic Escherichia coli from infants and young children*. El objetivo general de este estudio fue analizar si la resistencia fenotípica a los antibióticos de uso común en *Escherichia coli* comensal y uropatógena de lactantes y niños pequeños, estaba asociada con transporte de genes de virulencia, grupo filogenético en el caso de las cepas fecales y la persistencia en la flora intestinal. El tipo de investigación fue analítica y el diseño: contemporáneo, de laboratorio y multieventual. En el análisis se procesaron 272 cepas de *E. coli* comensal en muestras fecales de 128 lactantes de 0 a 1 año de edad. Los aislamientos de las cepas de *E. coli* se tipificaron utilizando ADN polimórfico ampliado aleatoriamente y se analizaron con respecto al transporte de genes de virulencia y la asignación de grupos filogenéticos. La resistencia a los antibióticos se evaluó utilizando varios grupos de antibióticos: ampicilina (12%), mecilliam (0%), cloranfenicol (1%), gentamicina (0%), tobramicina (0%), nitrofurantoína (0,5%), ácido nalidixico (1%), tetraciclina (10%) y trimetoprim-sulfametoxazol (8%). Se comprobó la

resistencia a la ampicilina, la tetraciclina y atrimetoprim sulfametoxazol, siendo estas las más frecuentes. Se asoció significativamente con el transporte de genes que codifican P fimbrias (papC) y aerobactina (iutA), y un origen filogenético del grupo D. La cantidad de población fecal y la capacidad de persistencia a largo plazo en el intestino no se relacionaron con la resistencia a los antibióticos¹⁴. Este artículo se relacionó con el trabajo de investigación ya que hizo referencia a los criterios de inclusión de la unidad de estudio, así como a la susceptibilidad de *E. coli* comensal.

Shakya *et al* (2013) publicaron en la revista científica *BMC Infectious Diseases* un trabajo de investigación titulado: *Antibiotic resistance among Escherichia coli isolates from stool samples of children aged 3 to 14 years from Ujjain, India*. El objetivo de este trabajo fue describir la prevalencia de la resistencia de *E. coli* comensal en cepas aisladas de niños sanos que oscilaban entre 3 y 14 años de edad en 30 pueblos de Palwa, India Central, los cuales fueron seleccionados aleatoriamente. El tipo de investigación fue analítica y el diseño: contemporáneo, de laboratorio y multieventual. Las cepas de *E. coli* fueron aisladas de 529 muestras de heces, identificadas mediante pruebas bioquímicas y se realizaron las pruebas de susceptibilidad mediante métodos estandarizados. Además, se analizaron los fenotipos de resistencia de 18 antibióticos diferentes, los cuales fueron: ácido nalidíxico (45%), tetraciclinas (37%), ampicilina (37%), trimetoprim sulfametoxazol (29%), amoxicilina/ac.clavulánico (29%), piperacilina (33%), gentamicina (4%), piperacilina/tazobactam (2%), ciprofloxacina (8%), norfloxacina (11%), cefoxitin (4%), cefotaxime (13%), ceftazidime (14%), ceftriaxone (13%), cefepime (13%), imipenem (0%), amikacina (5%), cloranfenicol (4%). En total 72% de las cepas aisladas fueron resistentes a por lo menos un antibiótico y 33% fueron multirresistentes. Los autores observaron elevadas tasas de resistencia cruzada en 83% de los antibióticos estudiados que puede ser indicativo de un conjunto de genes de resistencia en *E. coli* comensal en la

India¹⁵. Esta investigación guardó relación con este trabajo ya que los autores estudiaron resistencia y multiresistencia en *E.coli* comensal, haciendo referencia al objeto de estudio.

Eckeret *a*/(2013) publicaron en la Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública un trabajo titulado: Preferencias de uso de antibióticos en niños menores de cinco años por médicos de centros de salud de primer nivel en zonas periurbanas de Lima, Perú. El objetivo de la investigación fue describir las preferencias de uso de antibióticos en niños menores de cinco años en el personal médico de los centros de salud de nivel primario, en tres distritos periurbanos de Lima, Perú. El tipo de investigación fue analítica y el diseño: de campo, transeccional y contemporáneo. Se aplicó una encuesta estructurada a 218 médicos generales, que incluía seis casos clínicos típicos en niños menores de cinco años con preguntas acerca del uso de antibióticos en resfrío común, faringitis, neumonía, síndrome obstructivo bronquial y diarrea (acuosa y disintérica). Se obtuvieron los siguientes resultados: 15,6% usaría un antibiótico en el caso de resfrío común, en el caso de disentería 90,4% usaría antibióticos, a predominio de trimetoprim-sulfametoxazol (TMP-SMX) y furazolidona. 86,2% de los médicos recomendaría un antibiótico para tratar faringitis. Para tratar diarrea acuosa, 33% usaría antibióticos. En el caso de broncoespasmo, 72,9% de los médicos recomendaría un antibiótico y 98,2% recomendaría un antibiótico en el caso de neumonía. Los autores concluyeron: existe una tendencia al sobreuso de antibióticos en diagnósticos como faringitis y broncoespasmo, así como en casos de diarrea acuosa y resfrío común, lo cual se debería a que una gran cantidad de niños menores de cinco años son atendidos por médicos generales que no han recibido entrenamiento en atención pediátrica¹⁶. Esta investigación se relacionó con el problema en estudio ya que los autores analizaron la preferencia de uso de antibióticos en niños menores de 5 años, lo cual se relaciona con los factores clínicos que podrían influir sobre la multiresistencia a los antimicrobianos.

Antecedentes históricos

En 1928 Fleming descubrió la penicilina, siendo este un hecho de gran importancia en la historia de la medicina y el comienzo del uso de los antibióticos; prevaleciendo su utilización en la Segunda Guerra Mundial entre 1939 y 1945. Sin embargo, advirtió que el uso indebido de dichos antibióticos podría provocar la selección y propagación de formas mutantes en el laboratorio. En el transcurso del tiempo, se han reportado cepas resistentes de *Haemophilus influenzae* y algunas *Enterobacterias* debido a su capacidad productora de penicilinas. En consecuencia, durante los años 1950 y 1960 se desarrolló una penicilina sintética de amplio espectro, la ampicilina; la cual combatiría los bacilos gramnegativos productores de penicilinas^{19,20}.

En 1940 Abraham y Chain, descubrieron una enzima que sintetizaba la *Escherichiacoli* comensal. Además, encontraron que dicha enzima destruía la penicilina. Por tal motivo, los autores sugirieron que tal enzima a la que habían llamado penicilinas influía en la resistencia de aquellas bacterias que la sintetizaban. Particularmente, desde 1940 hasta inicios de los años 60, fue aumentando progresivamente la prevalencia de cepas productoras de estas penicilinas en los hospitales. A su vez, estos gramnegativos también poseen la capacidad de generar β -lactamasas, lo cual les confiere un alto protagonismo como causantes de las infecciones. Desde entonces, dados los hallazgos, se iniciaron los estudios sobre resistencia antimicrobiana de *Escherichiacolicomensal*, propia de la microbiota intestinal²¹. En la evolución de la resistencia a los antimicrobianos, los patrones de susceptibilidad de *E. coli* comensal han sido investigados frecuentemente con el fin de conocer la variabilidad de la acción de los antibióticos.

Resaltó en la revisión de la literatura el antecedente histórico, revelado por varios investigadores, sobre la resistencia antimicrobiana en cepas de *E. coli* comensal. Al respecto, algunos autores encontraron en lactantes menores peruanos elevados niveles de resistencia a: ampicilina (62,6%),

cotrimoxazol (48,6%) y tetraciclina (43,0%). Además, destacaron los elevados niveles de resistencia a ácido nalidíxico (32,0%) en este grupo de edades²². Otros investigadores informaron sus hallazgos en lactantes menores, mayores y en pre-escolares, encontraron altas prevalencias de resistencia a tetraciclina (74%), cotrimoxazol (68%), ampicilina (65%), cloranfenicol (40%) y ácido nalidíxico (27%). 67% de los aislamientos fueron resistentes a tres o más antibióticos²⁰. Estos hallazgos revelaron la resistencia a más de tres familias de antibióticos en las cepas comensales de *E. coli*.

Bases teóricas

Aproximación teórica sobre la genética molecular de la resistencia a los antibióticos

La variabilidad genética es esencial para que se produzca la evolución microbiológica. La vida de un microorganismo depende de su capacidad para adaptarse a las condiciones cambiantes del ambiente. En este sentido, los fármacos antimicrobianos ejercen una fuerte presión sobre las poblaciones bacterianas, la cual no afecta a los microorganismos capaces de resistirla. La variabilidad genética puede ocurrir mediante diferentes mecanismos. Pueden presentarse un cambio microevolutivo, tal como la mutación en un par de bases de nucleótidos. En un segundo nivel de variabilidad genómica microbiológica está el cambio macroevolutivo, que modifica a gran escala segmentos de ADN como fenómeno único. Por último, el tercer nivel de variabilidad genética en las bacterias es provocado por la obtención de un ADN extrínseco trasladado por plásmidos, bacteriófagos, secuencias desnudas de ADN o elementos genéticos susceptibles de transposición⁷. Estos mecanismos desarrollados en las bacterias permiten la resistencia a cualquier agente antimicrobiano, con una expresión posiblemente ilimitada.

Cuando un gen de resistencia a los antimicrobianos se presenta en una bacteria, este puede extenderse a otras por transformación, traducción, unión o transposición. No obstante, se ha encontrado evidencia de que los genes resistentes a los antibióticos permanecían en la era previa a los tratamientos con antimicrobianos. En el transcurso del tiempo, dichos genes se han diseminado a innumerables cepas bacterianas dotándolas de la posibilidad de resistir los efectos inhibitorios de los antimicrobianos⁸. Por eso, la genética molecular que poseen los microorganismos es de gran importancia pues permite conocer los diferentes mecanismos que desarrollan las bacterias para defenderse, principalmente, de los antibióticos⁷.

Aproximación teórica sobre la resistencia a los antibióticos

Existen diferentes tipos de resistencia por los cuales las bacterias pueden expulsar o destruir al compuesto antimicrobiano. En tal sentido, la resistencia bacteriana puede ser intrínseca o adquirida. Específicamente, la resistencia intrínseca es la natural, la cual puede deberse a una barrera natural impermeable al antibiótico. También, puede ser originada por la falta del transporte, la ausencia de una molécula diana o la presencia de enzimas inactivantes del antibiótico. En cambio, la resistencia adquirida se produce por algunos mecanismos tales como: las mutaciones, mecanismos conocidos como la evolución vertical y la transferencia de fragmentos de ADN que codifican para la resistencia entre bacterias, también llamada evolución horizontal³.

Aproximación teórica sobre el indicador centinela de la resistencia a los antimicrobianos

El indicador centinela de la resistencia a los antimicrobianos hace referencia a un microorganismo que predomina en la microbiota residente, tal como *E.*

coli comensal, a diferencia del menor número de patógenos adquiridos. A su vez, estos microorganismos comensales pueden adquirir genes de resistencia provenientes de la microbiota patógena. También, dichos microorganismos pueden transferir a las bacterias patógenas estos genes de resistencia a través de elementos móviles. Por eso, el análisis de la susceptibilidad en cepas bacterianas comensales puede ser un indicador de la evolución de la resistencia antimicrobiana producto de la presión selectiva de los antibióticos y de la dinámica de la interacción entre las bacterias. Entre otros aspectos, estos hallazgos de la susceptibilidad a los antimicrobianos representan una clave para la vigilancia epidemiológica y microbiológica de la resistencia bacteriana^{4, 23}.

Modelo conceptual de la aproximación epidemiológica

La epidemiología se dedica al estudio de la frecuencia y distribución de los procesos de salud-enfermedad, con la finalidad de promover soluciones para la mejoría de los mismos. Esta disciplina del área de la medicina actúa directamente con los procedimientos derivados de las ciencias de la salud y las ciencias sociales. De esta manera, puede generar hipótesis para descubrir las razones por las cuales se desarrollan los problemas de salud en una población. Se basa directamente en las características propias del individuo, las cuales lo hacen susceptible a sufrir algún tipo de enfermedad infecciosa o no. La característica principal para desarrollarse la enfermedad es que debe existir un agente causal, generalmente exógeno y capacitado para reproducirse rápidamente. Por eso, la epidemiología se focaliza en el estudio de todo aquello que relaciona el agente causal con el hospedero susceptible.

El modelo conceptual de la aproximación epidemiológica, radica en la atribución que tiene para explicar y describir el fenómeno salud-enfermedad. También, considera la estrecha relación existente con el individuo y sus

características interpersonales y socioculturales. Adicionalmente, considera las acciones correctivas con necesidad de evitar y disminuir los problemas de salud por enfermedades infecciosas. Finalmente, el conocimiento de las causas proximales de un problema, permitirá el enfoque individual o poblacional de un proceso de salud o enfermedad¹¹. Este modelo conceptual sustenta a esta investigación ya que se consideraron los factores clínicos y epidemiológicos en relación a la variable multirresistencia.

***Escherichiacoli* comensal y resistencia a los antimicrobianos**

E.coli comensal, igual a otras bacterias patógenas, está expuesta a la presión selectiva de los agentes antimicrobianos²⁴. Por ello, el uso de antibióticos de amplio espectro de manera prolongada genera una disbacteriosis en la microbiota normal; específicamente, en la microbiota gastrointestinal²⁵. Tal es el caso de *E. colicomensal*, microorganismo que se ha convertido en un reservorio de genes de resistencia a los antibióticos, siendo capaz de transmitirlos de manera lateral a otros comensales y bacterias patógenas. En consecuencia, la resistencia a los antimicrobianos dados por estos agentes, se ha convertido en un problema de salud pública y en un impedimento para el manejo adecuado de las enfermedades infecciosas².

Clasificación de los antibióticos

Los fármacos antimicrobianos actúan por diversos mecanismos, los cuales han permitido su clasificación. Específicamente, los antibióticos producen su efecto a través de la inhibición de la síntesis de la pared celular de los microorganismos y por la activación de enzimas que destruyen dicha pared. También, puede actuar por medio del incremento de la permeabilidad de la membrana celular microbiana o por la interferencia con la síntesis de

proteínas y el metabolismo de los ácidos nucleídos. Por eso, el efecto antimicrobiano, a través de los mecanismos de acción, de estos fármacos les ha posicionado como la principal herramienta terapéutica para combatir enfermedades infecciosas a nivel mundial. Sin embargo, para la prescripción de estos fármacos se deben utilizar datos clínicos o analíticos indicativos de una infección de origen microbiana²⁶.

Es importante resaltar que muchos antimicrobianos se encuentran relacionados desde el punto de vista de su estructura química, por esta razón se agrupan en clases. Sin embargo, a pesar de que los compuestos pertenecientes a cada clase comparten diversas características estructurales y funcionales, a menudo poseen unas propiedades farmacológicas y un espectro de actividades diferentes. En consecuencia, algunos son de amplio espectro y otros de espectro reducido. Por otra parte, existen fármacos que pueden destruir las bacterias, denominándose antibióticos bactericidas. Otros antibióticos pueden retardar o detener el crecimiento *in vitro* de los microorganismos, denominándose antibióticos bacteriostáticos²⁶.

Según la estructura química los fármacos antibacterianos se pueden clasificar en diferentes familias. Estas familias, a su vez, se subdividen en varios grupos de antibióticos. Entre estos grupos se encuentran: los β -lactámicos, aminoglucósidos, quinolonas, lincosaminas, macrólidos, anfenicoles, glucopéptidos, oxazolidinonas, sulfamidas y trimetoprim, nitroimidazoles. Entre los β -lactámicos se agrupan: penicilinas, cefalosporinas, carbapenemos, monobactámicos y los inhibidores de las β -lactactamasas. En el grupo de aminoglucósidos se encuentran: gentamicina, amikacina, tobramicina, netilmicina, estreptomina. Entre otros, las quinolonas están representadas por: ácido nalidíxico (Primera generación), norfloxacin, ciprofloxacina, ofloxacina, levofloxacina (Segunda generación), esparfloxacina, tosufloxacina (Tercera generación), gemifloxacina, moxifloxacina, gatifloxacina (Cuarta generación)²⁶.

Análisis de la multirresistencia a los antimicrobianos

Etapa pre-analítica

Torres (2011) refirió la importancia de esta fase, ya que permite recolectar la información relacionada con la fuente de la muestra biológica. Entre esta información se consideran los siguientes datos: identificación del paciente, la edad, el tipo de analito requerido y la justificación de la solicitud del examen. Específicamente, además de los datos mencionados se requiere saber cuáles antibióticos ha recibido en el último año y la enfermedad infecciosa que generó la indicación. Esta información es muy interesante porque permite conocer con cuáles grupos de antibióticos se hizo presión selectiva en el paciente problema. Esta etapa es fundamental para que se asegure el máximo rendimiento de la fase analítica.

Etapa analítica

En esta etapa se analiza la muestra biológica a través de un método analítico estandarizado. En el caso específico de la multirresistencia antimicrobiana de *E. coli* comensal, se debe recuperar el microorganismo de la muestra de heces a través del cultivo primario en una placa de agar Mac Conkey. Posteriormente, las colonias lactosas positivas con morfología típica de *E. coli* son analizadas para confirmar la identificación a través de pruebas realizadas con medios selectivos diferenciales. Luego, se realiza la prueba de susceptibilidad a los diferentes antimicrobianos a través del antibiograma en correspondencia con la prueba de Kirby Bauer. Por medio de esta prueba se procede a analizar los halos de inhibición del crecimiento alrededor del disco de antibiótico y se interpreta el patrón de susceptibilidad (Bartoloniet al., 2006)⁴.

Etapa post-analítica

Una vez obtenidos los resultados sobre los halos de inhibición observados en la placa de MüllerHinton, se procede a la interpretación. Para realizar la interpretación de estos resultados se utiliza el siguiente criterio: categorías de la susceptibilidad según el tamaño del halo de inhibición propuestas por *Clinical Laboratory Standard Institute* (CLSI). Una vez interpretada la susceptibilidad, se procede a determinar la multiresistencia utilizando el siguiente criterio: resistencia de este microorganismo a por lo menos un antibiótico de tres familias o grupos de antimicrobianos⁶.

Definición operacional de términos

Antibióticos

Los antibióticos son sustancias naturales producidas por microorganismos (hongos, bacterias), sintéticas o semi-sintéticas. Tienen la capacidad de destruir, impedir o retardar la proliferación de otros microorganismos. También, actúan a bajas concentraciones y no son tóxicos para el hospedero²⁷.

Nivel socioeconómico

Se refiere a las diferentes clases sociales que integran una sociedad. Se puede medir por el método de Graffar modificado por Méndez-Castellano. Este instrumento contiene cuatro variables, tales como: profesión del jefe de familia, instrucción de la madre, fuente de ingreso y alojamiento. Los resultados se expresan a través de cinco categorías: clase marginal, clase obrera, clase media baja, clase media alta y clase alta²⁸.

Grupo de edades

Los grupos de edades en la población infantil forman parte de una estratificación, relacionada con el crecimiento y desarrollo del niño. Así se sistematizan varias categorías: recién nacidos, lactantes menores, lactantes mayores, preescolares, escolares y adolescentes. Esta clasificación permite interpretar las asociaciones de características con fines epidemiológicos²⁸.

Género

Está distribuido en dos categorías: femenino y masculino. Está relacionado con características específicas para cada una de las categorías. Esta clasificación permite diferenciar aspectos relacionados con el crecimiento y desarrollo del niño. También, facilita la interpretación de estudios de vigilancia epidemiológica en todas las edades²⁸.

Cultivo primario

Es la inoculación primaria de la muestra en una superficie agarizada. También, se refiere a la siembra por estría del inóculo con asa de alambre en los cuatro cuadrantes de la placa. La finalidad de esta técnica es diluir suficiente el inóculo para que se puedan obtener las colonias de bacterias aisladas, denominadas unidades formadoras de colonias (UFC)⁷.

Condiciones de aerobiosis

Se refiere a las condiciones fisicoquímicas del medio ambiente que influyen directamente sobre el crecimiento bacteriano. Específicamente, a los requerimientos de oxígeno con una tensión absoluta (21%). Es decir, a la

presión de oxígeno atmosférica necesaria para el metabolismo oxidativo de las bacterias aeróbicas²⁹.

Antibiograma

Se usa para medir la sensibilidad a uno o varios antibióticos de una cepa bacteriana que se sospecha ser responsable de una infección. La sensibilidad *in vitro* es uno de los requisitos previos para la eficacia *in vivo* de un tratamiento antibiótico. El antibiograma sirve para orientar las decisiones terapéuticas individuales. También, se emplea para seguir la evolución de las resistencias bacterianas. Gracias a este seguimiento epidemiológico, a escala de un servicio, un centro de atención médica, una región o un país, es que puede adaptarse a la antibioterapia empírica. También, pueden revisarse regularmente los espectros clínicos de los antibióticos y adoptarse ciertas decisiones sanitarias, como el establecimiento de programas de prevención en los hospitales³⁰.

Operacionalización del evento de estudio y criterio de análisis

Las variables se operacionalizaron con el fin de medirlas. En tal sentido, Palella y Martins han referido que las variables son conceptos abstractos y de esta manera no se pueden medir. Al respecto, es necesario, para medirlas, transformarlas en empíricas. Por eso, se definen y categorizan para identificar el indicador específico³¹. A continuación, se presenta el cuadro de operacionalización de las variables (Tabla 1, 2, 3, 4, 5 y 6).

Tabla 1. Operacionalización del evento multirresistencia de *E. coli* comensal a los antimicrobianos.

1. Evento/variable	2. Tipo de Variable	3. Definición Conceptual	4. Definición Operacional	5. Dimensiones
Multirresistencia de <i>E. coli</i> comensal	No aplica	Se considera que <i>E. coli</i> es multirresistente cuando es resistente a 3 o más grupos o familias de antibióticos. Este es un fenómeno adquirido por la presión selectiva de los antimicrobianos ⁶ .	Se mide a través del tamaño del halo de inhibición y la resistencia a 3 o más grupos de antibióticos.	Cepas multirresistentes
				Cepas no multirresistentes
6. Indicador	7. Medición	8. Unidad de medición	9. Índice	10. Valor
Fenotipo de resistencia a 3 o más grupos de antibióticos	Nominal	% Frecuencia absoluta y porcentual	-índice de multirresistencia. -índice de no multirresistencia	-% de cepas multirresistentes. -% de cepas no multirresistentes
11. Fuente de Datos	12. Técnica de Recolección de Datos	13. Propiedades Matemáticas	14. Pruebas Estadísticas	15. Técnica estadística
El antibiograma	Observación directa	Propiedad de equivalencia	Análisis descriptivo	Distribución de frecuencias. Tablas de contingencia. Gráfico de sectores.

Cegarra, Gutiérrez y Hernández, 2019.

Tabla 2. Operacionalización de la variable frecuencia de uso de antimicrobianos

1. Evento/variable	2. Tipo de Variable	3. Definición Conceptual	4. Definición Operacional	5. Dimensiones
Frecuencia de uso de antimicrobianos	No aplica	Se refiere al número de veces en que es utilizado el antimicrobiano. El uso frecuente e inadecuado de los antibióticos tiene como consecuencia la aparición de cepas bacterianas resistentes al tratamiento.	Se puede medir mediante el instrumento de recolección de datos a través de la categorización o criterios de frecuencia de uso de antibióticos	Ninguno
				Escaso < 3 veces/año
				Moderado 3-5 veces/año
				Frecuente >6 veces/año
6. Indicador	7. Medición	8. Unidad de medición	9. Índice	10. Valor
Frecuencia de uso al año	Ordinal	Frecuencia absoluta y porcentual	Índice de uso escaso, moderado o frecuente.	% de uso escaso % de uso moderado % de uso frecuente
11. Fuente de Datos	12. Técnica de Recolección de Datos	13. Propiedades Matemáticas	14. Pruebas Estadísticas	15. Técnica estadística
Instrumento de recolección de datos	Observación directa	Propiedad de equivalencia	Análisis descriptivo	Distribución de frecuencias. Tablas de contingencia. Gráfico de barras.

Cegarra, Gutiérrez y Hernández, 2019.

Tabla 3. Operacionalización de la variable Factores clínicos: enfermedades que motivaron la prescripción de antibióticos.

1. Evento/variable	2. Tipo de Variable	3. Definición Conceptual	4. Definición Operacional	5. Dimensiones
Enfermedades que motivaron la prescripción de antibióticos	No aplica	Trastornos provocados por microorganismos, como bacterias, virus, hongos o parásitos. Muchos organismos viven dentro y sobre nuestros cuerpos. Normalmente son inofensivos o incluso útiles, pero bajo ciertas condiciones, algunos organismos pueden causar enfermedades	Se puede medir mediante el instrumento de recolección de datos a través de la categorización Enfermedades que motivaron la prescripción de antibióticos.	Infecciones respiratorias
				Infección urinaria
				Diarrea
				Infección de piel
6. Indicador	7. Medición	8. Unidad de medición	9. Índice	10. Valor
Presencia de algún tipo de enfermedad	Nominal	Frecuencia absoluta o porcentual	Índice de infecciones respiratorias, diarrea, infección urinaria e infección de piel	%infecciones respiratorias %diarrea %infección urinaria %infección de piel
11. Fuente de Datos	12. Técnica de Recolección de Datos	13. Propiedades Matemáticas	14. Pruebas Estadísticas	15. Técnica estadística
Instrumento de recolección de datos	Observación directa	Propiedad de equivalencia	Análisis descriptivo	Distribución de frecuencias

Cegarra, Gutiérrez y Hernández, 2019.

Tabla 4. Operacionalización de la variable Factores epidemiológicos:género.

1. Evento/variable	2. Tipo de Variable	3. Definición Conceptual	4. Definición Operacional	5. Dimensiones
Género	No aplica	Esta distribuida en dos categorías: femenino y masculino. Esta clasificación permite diferenciar aspectos relacionados con el crecimiento y desarrollo del niño ²⁸ .	El género se puede medir a través de las características fenotípicas.	Masculino
				Femenino
6. Indicador	7. Medición	8. Unidad de medición	9. Índice	10. Valor
Fenotipo del género de niño	Nominal	% Frecuencia absoluta y porcentual	-índice del género masculino -índice del género femenino	-% del género masculino -% del género femenino
11. Fuente de Datos	12. Técnica de Recolección de Datos	13. Propiedades Matemáticas	14. Pruebas Estadísticas	15. Técnica estadística
Instrumento de recolección de datos	Observación directa	Propiedad de equivalencia	Análisis descriptivo	Distribución de frecuencias. Gráfico de sectores.

Cegarra, Gutiérrez y Hernández, 2019.

Tabla 5. Operacionalización de la variable factores epidemiológicos: nivel socioeconómico.

1. Evento/variable	2. Tipo de Variable	3. Definición Conceptual	4. Definición Operacional	5. Dimensiones
Nivel socioeconómico	No aplica	Se refiere a las clases sociales, manifestadas durante la convivencia de los seres humanos ²⁸ .	Se puede medir a través del puntaje Método Graffar.	Clase alta (0-6) Clase media alta (7-10) Clase media baja (10-12) Clase obrera (13-15) Clase marginal (16-20)
6. Indicador	7. Medición	8. Unidad de medición	9. Índice	10. Valor
Puntaje Método Graffar	Ordinal	Frecuencia absoluta y porcentual	Índice de clase alta, clase media alta, clase media baja, clase obrera o clase maginal.	% de clase alta, %clase media alta % clase media baja %clase obrera % clase marginal
11. Fuente de Datos	12. Técnica de Recolección de Datos	13. Propiedades Matemáticas	14. Pruebas Estadísticas	15. Técnica estadística
Instrumento de recolección de datos	Observación directa	Propiedad de equivalencia	Análisis descriptivo	Distribución de frecuencias

Cegarra, Gutiérrez y Hernández, 2019.

Tabla 6. Operacionalización de la variable factores epidemiológicos: grupo de edades.

1. Variable	2. Tipo de Variable	3. Definición Conceptual	4. Definición Operacional	5. Dimensiones
Grupos de edades	No aplica	Forman parte de una estratificación relacionada con el crecimiento y el desarrollo del niño ²⁸ .	Los datos relacionados con los grupos de edades se obtienen a través del instrumento de recolección de datos, considerando la edad cronológica.	Recién nacido (0-29 días)
				Lactante menor (1-11 meses)
				Lactante mayor (12-23 meses)
				Pre-escolar (2- 5 años)
6. Indicador	7. Medición	8. Unidad de medición	9. Índice	10. Valor
Edad Cronológica	Ordinal	Frecuencia absoluta y porcentual	Índice de recién nacido, lactante menor, lactante mayor, pre-escolar	%Recién nacido %Lactante menor %Lactante mayor %Pre-escolar
11. Fuente de Datos	12. Técnica de Recolección de Datos	13. Propiedades Matemáticas	14. Pruebas Estadísticas	15. Técnica estadística
Instrumento de recolección de datos	Observación directa	Propiedad de equivalencia	Análisis descriptivo	Distribución de frecuencias. Gráfico de barras.

Cegarra, Gutiérrez y Hernández, 2019.

Objetivos de la investigación

Objetivo general

- Analizar la correspondencia entre la multirresistencia a los antimicrobianos en *Escherichia coli* comensal, el método de Kirby-Bauer y los factores clínico-epidemiológicos en heces de niños sanos que acudieron al Consultorio Pediátrico La Cruz Dorada y el Laboratorio de Síndromes Gastrointestinales y Urinarios “Prof (a). Luisa Viscaya”, durante el periodo Septiembre 2016 hasta Junio 2019.

Objetivos específicos

- Describir la edad y el género en la unidad de investigación.
- Analizar los grupos de edades en correspondencia con el criterio taxonómico estandarizado por la Organización Mundial de la Salud, en la unidad de investigación.
- Examinar el nivel socioeconómico en correspondencia con el método de Graffar Modificado, en la unidad de investigación.
- Distinguir la correspondencia entre frecuencia de uso de los antibióticos y el indicador del número de veces de terapia antimicrobiana, en la unidad de investigación.
- Interpretar la correspondencia entre la susceptibilidad *Escherichia coli* comensal a los antimicrobianos y el halo de inhibición en el antibiograma, en la unidad de investigación.
- Interpretar la correspondencia entre la multirresistencia de *Escherichia coli* comensal y el criterio de identificación, en la unidad de investigación.
- Ubicar la correspondencia entre la susceptibilidad de *Escherichia coli* comensal a los antimicrobianos, la multirresistencia y los factores clínico-epidemiológicos, en la unidad de investigación.

MATERIALES Y METODOS

Tipo de investigación

El tipo de investigación tiene relación con lo que se quiere saber de un fenómeno, y esto se concreta a través de la pregunta y el objetivo general enunciado con el verbo específico¹⁷. Además, existen diez tipos de investigación, mencionados por Hurtado, tales como: exploratoria, descriptiva, analítica, comparativa, explicativa, predictiva, proyectiva, interactiva, confirmatoria y evaluativa. Entre ellos, la investigación analítica permite conocer la estructura de un evento de estudio a través de un criterio de análisis. En tal sentido, la investigación que se realizara tiene como criterio de análisis el método de Kirby-Bauer, el cual permitirá analizar la presencia del objeto de estudio representado por la multirresistencia de *E. coli* comensal a los antimicrobianos. Adicionalmente, se consideraron unos elementos de correlación representados por los factores clínico-epidemiológicos. Finalmente, considerando las descripciones anteriores, esta investigación fue analítica.

www.bdigitalula.ve Diseño de investigación

Las estrategias que se utilizan para responder la pregunta de investigación, corresponden con el diseño. Específicamente, el diseño se refiere a la recolección de los datos, la cual puede ser en un ambiente natural o creado, durante o después de la ocurrencia del fenómeno, en uno o varios momentos en cada sujeto de estudio^{17,31}. Al respecto, los datos clínico-epidemiológicos y la muestra se recolectaron en la realidad, en el ambiente del consultorio pediátrico “La Cruz Dorada”. Las muestras de heces fueron analizadas en el Laboratorio de Síndromes Gastrointestinales y Urinarios “Prof^a. Luisa Viscaya” de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes. La temporalidad correspondió con el periodo contemporáneo y en un solo momento en cada unidad de investigación, desde Septiembre 2016 hasta Junio 2019. Por lo tanto, el diseño de esta investigación fue mixto (campo-laboratorio), contemporáneo, transversal y multivariante. A su vez, la

amplitud de la información a recolectar fue multivariante, ya que se analizaron la variable multirresistencia y los factores clínico-epidemiológicos.

Población y muestra

Unidad de investigación

El grupo de estudio estuvo representado por los niños sanos que asistieron al Consultorio Pediátrico “La Cruz Dorada” de Mérida. Previo consentimiento de los padres, se incluyeron los niños que cumplieron con los siguientes criterios de inclusión: (a) niños sanos, (b) niños que no habían sido tratados previamente con antibióticos en los 7 días previos al estudio, (c) niños con aislamiento de *E. coli* comensal en las heces, (d) niños cuyos padres firmaron el consentimiento informado.

Selección del tamaño de la muestra

La “n” muestral fue determinada de acuerdo a la disponibilidad de reactivos en el laboratorio. En tal sentido, se incluyeron 34 muestras de heces provenientes de los niños que cumplieron con los criterios de inclusión de esta investigación, cuyas edades variaron entre 1 mes y 12 meses. Respectivamente, en estos niños se recuperaron las cepas de *E. coli* comensal a través del cultivo primario de las heces.

Sistema de variables

Las variables relacionadas con la investigación fueron: (a) multirresistencia de *E. coli* comensal a los antimicrobianos, (b) factores clínicos, (c) factores epidemiológicos. Sin embargo, estas variables no fueron sistematizadas en

dependiente e independiente, ya que esta investigación fue analítica. Por lo tanto, no se estudió una relación de causa-efecto, sino de correspondencia.

Instrumento de recolección de datos

El instrumento para la recolección de los datos clínico-epidemiológicos fue sistematizado en siete partes. Entre las cuales se consideraron las siguientes: datos de identificación, la información general del niño, los criterios de inclusión, los antecedentes clínicos y epidemiológicos. Finalmente, el resultado del análisis de la muestra y la evaluación correspondiente. Este instrumento fue sometido a la validación por un juicio de tres expertos a través de un escalamiento tipo Likert. Posteriormente, se analizó la validez y confiabilidad del instrumento a través del coeficiente alfa de Cronbach.

Procedimientos de la investigación

Estudio clínico-epidemiológico

Se explicó la información a los padres de los niños acerca del objetivo de la investigación, con el propósito de que declararan, de forma voluntaria, su deseo de participar en el presente estudio. Por eso, firmaron el consentimiento informado (Anexo 1), y seguidamente se recolectaron los datos clínicos y epidemiológicos. Específicamente, el nivel socioeconómico se analizó a través del método de Graffar modificado y los factores clínicos (frecuencia de uso de antibióticos, enfermedades que motivaron la prescripción de antibióticos) se obtuvieron a través del instrumento pertinente (Anexo 2).

Recolección y transporte de la muestra

La muestra de heces fue recolectada a través del hisopado rectal. El hisopo fue introducido en el medio de transporte Cary Blair³⁴ y se colocó en un contenedor a temperatura ambiente durante el traslado al Laboratorio de Síndromes Gastrointestinales y Urinarios “Prof^a Luisa Viscaya” de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes.

Aislamiento e identificación de *Escherichia coli* comensal

Las muestras de heces de los niños fueron sembradas sobre la superficie del medio Agar Mac Conkey y se incubaron a 37°C durante 18-24 horas en condiciones de aerobiosis, según lo propuesto por Velasco y Longa²⁸. Posteriormente, se seleccionaron de 3 a 5 colonias fermentadoras de la Lactosa (rosadas o fucsia) grandes, secas, umbilicadas, rodeadas de un halo fucsia, sugestivas de *E. coli*. Estas colonias fueron sub-cultivadas en el medio básico Trypticase Soya 3%. Luego se realizó la prueba clave de oxidasa y las respectivas pruebas bioquímicas para enterobacterias en los medios selectivos-diferenciales tales como: Kligler, LIA (Lisina Hierro Agar), MIO (Motilidad, Indol, Ornitina) y Citrato. La interpretación de las pruebas sugestivas de *E. coli* fue: Kligler (A/A +-), LIA (K/K +-), MIO (+++), Citrato (-) (Esquema 1) (Figura 1,2,3).

Estudio de los patrones de susceptibilidad de *Escherichia coli* comensal

Se preparó el inóculo de *E. coli* comensal con una densidad según la turbidez del estándar de Mc Farland de 0,5 de acuerdo a la propuesta de Araque³⁴. Luego se introdujo un hisopo de algodón estéril dentro del tubo que contenía el inóculo estandarizado. El exceso de líquido se eliminó haciendo rotar

suavemente el hisopo contra las paredes del tubo. Después, se inoculó un medio de Agar MüllerHinton, en tres o cuatro direcciones girando el aza en ángulos de 90°. Se dejó secar a temperatura ambiente por un tiempo no mayor de 20 minutos. Seguidamente, se colocaron, con una pinza estéril, los discos de antibióticos (amoxicilina-ácido clavulánico, ceftazidima, cefuroxima, ampicilina, amikacina, trimetoprim-sulfametoxazol, ácido nalidíxico, ciprofloxacina) de las diferentes familias en forma equidistante, presionándolos suavemente contra la superficie del agar. Posteriormente, se incubaron las placas a 37°C en atmósfera aeróbica durante 18-24 horas.

Lectura del antibiograma

Los patrones de crecimiento alrededor de los discos de antibióticos fueron leídos según las categorías de sensible, resistente y sensibilidad intermedia, guiados por los puntos de corte establecidos por *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI-2019)³⁵ (Figura 4).

Análisis de la multirresistencia de *Escherichia coli* comensal

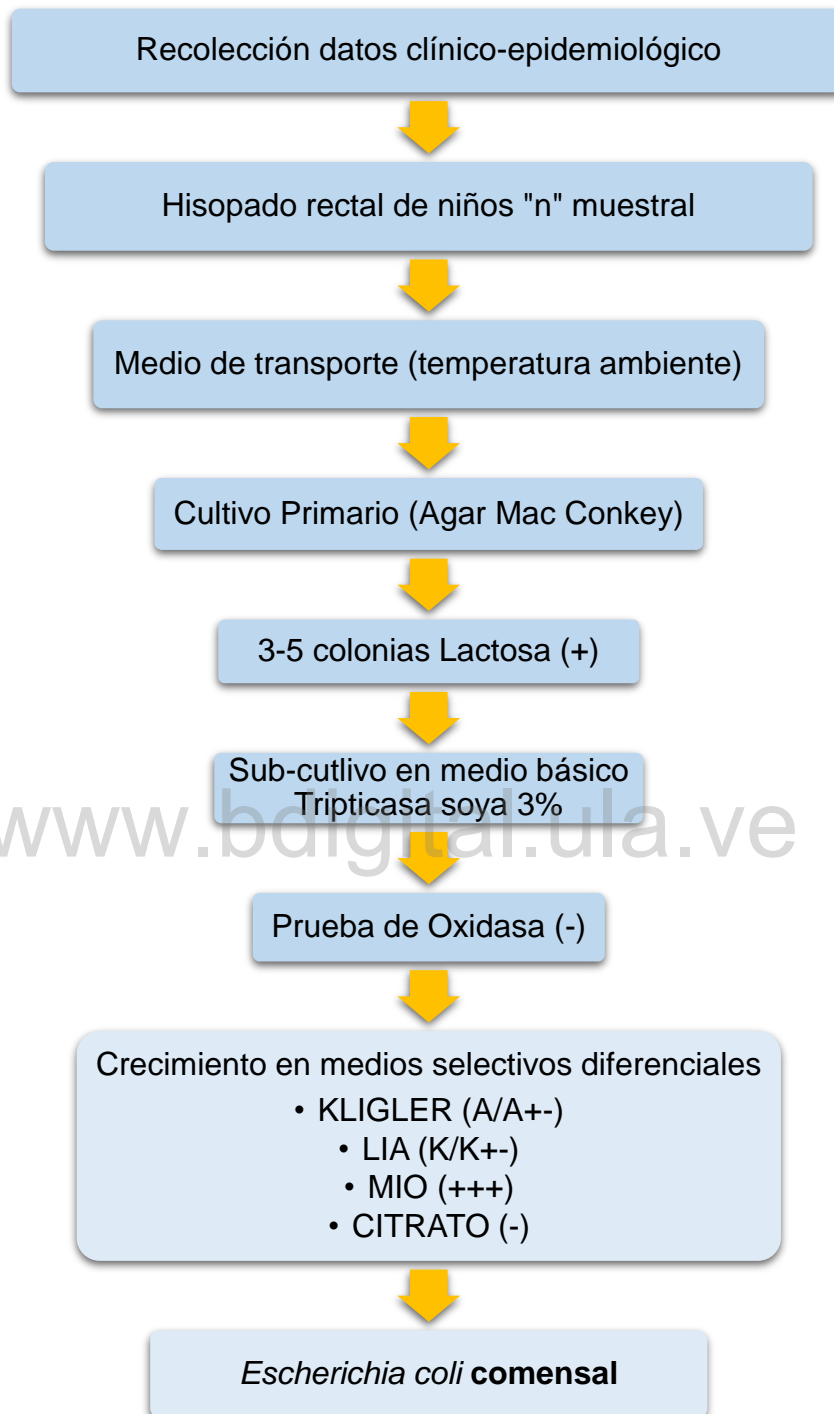
Los resultados de las cepas de *Escherichia coli* comensales resistentes a los antimicrobianos ensayados en el laboratorio fueron sistematizados en una matriz de análisis. Posteriormente, fueron cotejados con el criterio de análisis de: Resistencia a 3 o más grupos de antibióticos. Multirresistencia: resistencia a 1 o más antibióticos de 3 o más grupos de antimicrobianos⁶.

Diseño de análisis

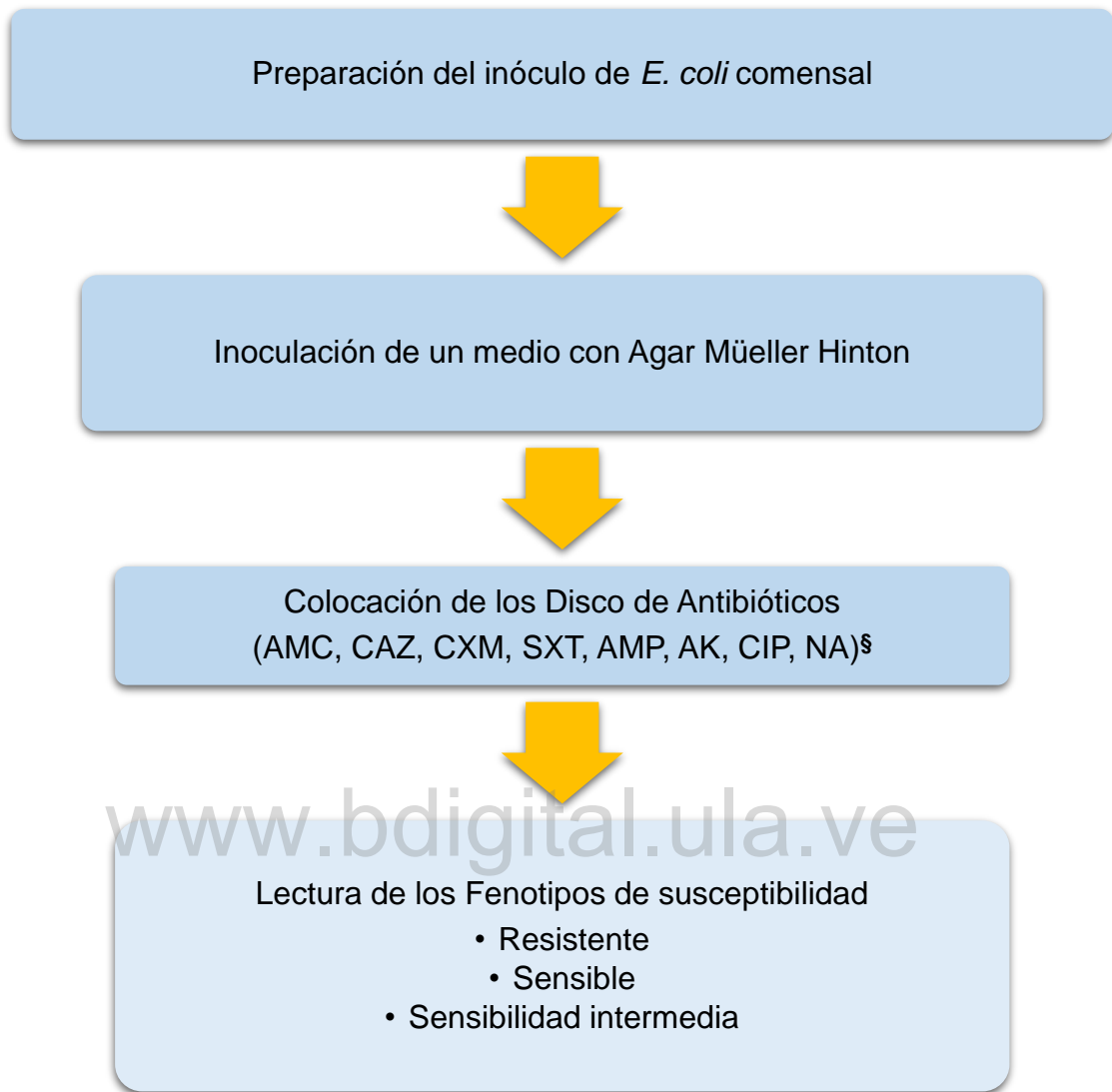
Los resultados de esta línea de investigación fueron analizados a través de un modelo cuantitativo, es decir, se consideró el dato estadístico como expresión de la posible relación entre la multirresistencia de *E. coli* comensal a los antimicrobianos y los factores clínico-epidemiológicos en niños sanos.

Por eso, tal como lo sugirieron Palella y Martins³¹, se recolectaron y midieron los datos relacionados con las variables. Al respecto, las características medidas tuvieron como punto de partida su naturaleza cualitativa o cuantitativa. En tal sentido, las variables cualitativas tuvieron una escala de medida nominal y ordinal. Mientras que las variables cuantitativas correspondieron con una escala de medida de razón. Finalmente, los datos se analizaron según el diseño multivariante, policotómico, multifactorial, bicategorico y multicategorico. El análisis estadístico se ejecutó a través del SPSS-21 (*Statistical Package of the for Social Science*) en dos fases: (a) Fase descriptiva, por medio de frecuencias simples, porcentajes simples, válidos y acumulados, (b) Análisis con estadísticos descriptivos: contingencia, frecuencias, diagrama de tallo y hoja, *box plot*.

Los resultados fueron sistematizados a través de tablas, gráficos y diagramas. El fin de esta sistematización fue contribuir con la interpretación de los resultados. De esta manera, se contribuyó con la respuesta al enunciado holopráxico y con el conocimiento nuevo formulado en el objetivo general.



Esquema1. Aislamiento e Identificación de *Escherichiacolicomensal*.



Esquema2. Estudio de los patrones de susceptibilidad de *Escherichia coli* comensal.

§ AMC: amoxicilina- ácido clavulánico; CAZ: ceftazidima; CXM: cefuroxima; SXT: trimetoprim-sulfametoxazol; AMP: ampicilina; AK: amikacina; CIP: ciprofloxacina; NA: ácido nalidíxico

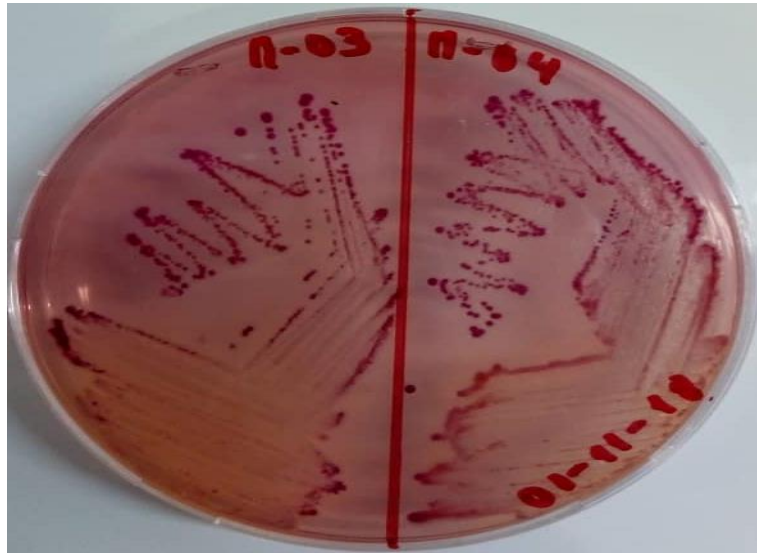


Figura 1. Colonias lactosa positiva en agar MK sugestivas de *Escherichia coli*. Muestra problema n° 3 Laboratorio de Síndromes Gastrointestinales y Urinarios “Prof. (a). Luisa Vizcaya”.

Nota. MK: Agar Mac Conkey



Figura 2. Prueba de la Oxidasa para la identificación de la familia Enterobacteriaceae (Oxidasa negativa). Muestra problema n° 5^a-5b y 6a-6b. Laboratorio de Síndromes Gastrointestinales y Urinarios “Prof. (a). Luisa Vizcaya”.



Figura 3. Lectura de las Pruebas Bioquímicas (KIA, CITRATO, LIA, MIO) para Enterobacterias. Cepa problema n° 5b y 6b. Laboratorio de Síndromes Gastrointestinales y Urinarios “Prof. (a). Luisa Vizcaya”.

Nota. KIA: Agar Kligler, LIA: Agar Lisina Hierro; MIO: Motilidad-Indol-Ornitina. (a) Kligler, (b) Citrato, (c) LIA, (d) MIO.



Figura 4. Lectura de los patrones de susceptibilidad de *Escherichia coli* comensal en correspondencia con el tamaño del halo de inhibición. Cepa problema n° 5b. Laboratorio de síndromes Gastrointestinales y Urinarios “Prof. (a). Luisa Vizcaya”.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Resultados

Se recolectaron 34 muestras de heces de niños sanos, conjuntamente con los datos clínico-epidemiológicos. Los niños fueron seleccionados en el Consultorio Pediátrico “La Cruz Dorada” de Mérida. Los datos recolectados a través del instrumento validado fueron sistematizados en una matriz de registro y luego en una matriz de análisis, con el fin de realizar la distribución de la muestra según cada variable. A su vez, las muestras de heces analizadas en el Laboratorio de Síndromes Gastrointestinales y Urinarios “Prof^a Luisa Vizcaya”. Las fases operativas de la investigación en la que se incluyó la recolección de los datos (fase interactiva), se cumplieron durante el período comprendido desde septiembre 2016 hasta Junio de 2019.

Distribución de frecuencias de la variable edad y correspondencia con el Diagrama de Tallo y Hoja

Los datos de la edad se agruparon en el grupo menor de 8 meses de edad, correspondiendo con lactantes menores. Sin embargo, los niños de 6 y 7 meses de edad fueron los que predominaron en el grupo menor de 8 meses (10 casos). Este subgrupo de 6 y 7 meses es muy importante porque ya ha tenido más tiempo de contacto con el grupo familiar y con la manipulación de las manos de las personas, vehículo importante para la transmisión de cepas resistente a los antimicrobianos. Además, los cuadros infecciosos podrían ser más frecuentes en esas edades. También se observaron 8 casos de lactantes ente 10 y 12 meses de edad (Tabla 7, Gráfico 1).

Análisis de la edad en correspondencia con el Diagrama de Caja (Box-plot)

Respecto a la edad, el valor mínimo fue de 1 mes, el valor mayor de la edad fue de 12 meses. La mitad de los niños se agruparon en edades inferiores a la mediana (6 meses). No se encontraron valores atípicos (Gráfico 2).

Medidas de posición y de variabilidad de la variable edad

Respecto a las medidas de posición en la "n" representada por los niños sanos, la edad promedio fue de 6 meses. La mitad de los niños tenían menos de 6 meses de edad, respecto a la mediana, el otro 50% de la "n" se encontró por encima de ese valor. En cuanto a las medidas de variación, la variable edad fue muy dispersa, pues reveló un rango alto. La edad se desvía con respecto a la media, en 3,37 meses. A su vez se puede notar que la mayoría de los niños se agruparon por debajo de los 8 meses de edad (Percentil 75). La asimetría de los datos de la edad fue positiva, lo cual indica que la distribución de los valores está sesgada hacia la izquierda de la curva, es decir por debajo de la media. A su vez, la edad reveló una curtosis positiva, lo cual indica que los valores de esta variable son más homogéneos; y la curva es leptocúrtica. Estos resultados permiten conocer cómo el grupo de niños se dispersan y a su vez genera interrogantes sobre cómo podría variar el fenómeno de la multirresistencia. (Tabla 8).

Distribución de la muestra poblacional según la variable grupos de edades

En la unidad de investigación la variable grupo de edades fue distribuida en 2 categorías: (1) un grupo de 12 niños con edades comprendidas entre 0 y 5

meses 12/34 (35,3%), (2) un grupo de 22 niños con edades comprendidas entre 6 y 12 meses 22/34 (64,7%) (Gráfico 3).

Distribución de la muestra poblacional según la variable género

La variable género fue categorizada como cualitativa y bicategorica. La frecuencia relativa de las categorías fue la siguiente: 20 niños pertenecieron al género masculino (58,8%), y 14 al género femenino (41,2%) (Gráfico 4).

Distribución de la muestra poblacional según la variable nivel socioeconómico

La variable multicategorica nivel socioeconómico, fue categorizada obteniendo las siguientes frecuencias absolutas y relativas: clase alta 4/34 (11,8%), clase media alta 6/34 (17,6%), clase media baja 18/34 (52,9%), clase obrera 6/34 (17,7%) y clase marginal 0/34 (0%) (Tabla 9).

Distribución de la muestra poblacional según la variable frecuencia de uso antimicrobiano

La variable multicategorica frecuencia de uso antimicrobiano, fue categorizada obteniendo las siguientes frecuencias absolutas y relativas: ninguno 28/34 (82,4%), escasa 6/34 (17,6%), moderada 0/34 (0%) y frecuente 0/34 (0%) (Gráfico 5).

Distribución de la muestra poblacional según la variable enfermedades que ocasionaron la prescripción de antibióticos

La variable multicategorica enfermedades que ocasionaron la prescripción de antibióticos, fue categorizada obteniendo las siguientes frecuencias

absolutas y relativas: ninguna 28/34 (82,3%), amigdalitis 2/34 (5,9%), conjuntivitis 2/34 (5,9%) y diarrea inflamatoria 2/34 (5,9%) (Tabla 10).

Distribución de las cepas según la variable susceptibilidad en *E. colicomensal* a los β -lactámicos

La variable susceptibilidad de *E. coli* comensal a los β -lactámicos fue categorizada de acuerdo a la susceptibilidad de las cepas a los antibióticos utilizados: Ampicilina, Amoxicilina-ácido clavulánico, Cefuroxima, Ceftazidima. Al respecto, las cepas mostraron los siguientes fenotipos de susceptibilidad: Sensibles: Ampicilina 9/34 (26,5%), Amoxicilina-ácido clavulánico 30/34 (88,2%), Cefuroxima 32/34 (94,1%), Ceftazidima 33/34 (97,1%). Resistentes: Ampicilina 25/34 (73,5%), Amoxicilina-ácido clavulánico 4/34 (11,8%), Cefuroxima 2/34 (5,9%), Ceftazidima 1/34 (2,9%) (Tabla 11).

www.bdigital.ula.ve

Distribución de las cepas según la variable susceptibilidad en *E. colicomensal* a Trimetoprim-sulfametoxazol, Amikacina y Quinolonas

La variable susceptibilidad de *E. coli* comensal a Trimetoprim-sulfametoxazol, Amikacina y Quinolonas fue categorizada de acuerdo a la susceptibilidad de las cepas a los antibióticos utilizados: Trimetoprim-sulfametoxazol, Amikacina, Ácido nalidíxico y Ciprofloxacina. Al respecto, las cepas mostraron los siguientes fenotipos de susceptibilidad: Sensibles: Trimetoprim-sulfametoxazol 17/34 (50%), Amikacina 33/34 (97,1%), Ácido nalidíxico 30/34 (88,2%), Ciprofloxacina 32/34 (94,1%). Resistentes: Trimetoprim-sulfametoxazol 17/34 (50%), Amikacina 1/34 (2,9%), Ácido nalidíxico 4/34 (11,8%) Ciprofloxacina 2/34 (5,9%). Estimuló el interés de los autores de esta investigación que en estos lactantes existan cepas

resistentes, aunque baja, a las quinolonas y resalta la resistencia alta a Trimetoprim-sulfametoxazol (Tabla 12).

Distribución de las cepas según la variable resistencia de *E. coli* comensal a uno o varios antibióticos

La variable resistencia de *E. coli* comensal a uno o varios antibióticos fue categorizada obteniendo las siguientes frecuencias absolutas y relativas: resistencia a ningún antibiótico 4/34 (11,8%), resistencia a un antibiótico 12/34 (35,3%), resistencia a dos antibióticos 13/34 (38,2%), resistencia a tres antibióticos 4/34 (11,8%), resistencia a cuatro antibióticos 1/34 (2,9%) (Tabla 13).

Distribución de las cepas según la variable multirresistencia de *E. coli* comensal a los antimicrobianos

La variable multirresistencia de *E. coli* comensal a los antimicrobianos fue categorizada obteniendo las siguientes frecuencias absolutas y relativas: resistencia a tres o más antimicrobianos 5/34 (14,7%) y resistencia a menos de tres antimicrobianos 29/34 (85,3%) (Gráfico 6).

Análisis de correspondencia de la variable multirresistencia a los antimicrobianos en *E. coli* comensal y la frecuencia de uso de antimicrobianos

5/28 (17,9%) cepas de *E. coli* comensal de los niños que no habían usado antibióticos presentaron multirresistencia. No se observó ningún caso de multirresistencia en el grupo que sí había recibido antibióticos. No se encontró correspondencia entre la variable multirresistencia y la frecuencia de uso de antibióticos (Tabla 14).

Análisis de correspondencia de la variable multirresistencia de *E.coli* comensal a los antimicrobianos y los grupos de edades

En relación a los grupos de edades y la multirresistencia de las cepas de *E.coli* provenientes de los niños sanos, los hallazgos fueron los siguientes: lactantes menores 6 meses de edad con cepas multirresistentes 1/12 (8,3%) y lactantes menores con edades entre 6 y 12 meses con cepas multirresistentes 4/22 (18,2%). Finalmente, se observó mayor correspondencia entre las variables en los lactantes entre 6 y 12 meses (18,2%) (Tabla 15).

Análisis de correspondencia de la variable multirresistencia de *E.coli* comensal a los antimicrobianos y el nivel socioeconómico

Según la variable nivel socioeconómico, la multirresistencia en el grupo de cepas estudiadas se distribuyó de la siguiente manera: clase alta/multirresistencia 0/5 (0%), clase media alta/multirresistencia 0/5 (0%), clase media baja/multirresistencia 4/14 (22,2%), clase obrera/multirresistencia 1/6 (16,7%). Finalmente, estas variables revelaron correspondencia en la clase media baja y obrera (38,9 %) (Tabla 16).

Tabla 7. Distribución de frecuencias de la variable edad (Nº, %). Consultorio Pediátrico “La Cruz Dorada” y Laboratorio de Síndromes Gastrointestinales y Urinarios “Prof^a Luisa Vizcaya” de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis (ULA). Septiembre 2016 hasta Junio 2019.

Edad (meses)	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
1	4	11,8	11,8	11,8
2	4	11,8	11,8	23,5
3	2	5,9	5,9	29,4
4	2	5,9	5,9	35,3
6	8	23,5	23,5	58,8
7	2	5,9	5,9	64,7
8	4	11,8	11,8	76,5
10	6	17,6	17,6	94,1
12	2	5,9	5,9	100,0
Total	34	100,0	100,0	

Nota. Los datos de la edad se agruparon en el grupo menor de 8 meses de edad, correspondiendo con lactantes menores. Resalta la frecuencia porcentual de los niños de 6 y 10 meses de edad (23,5 y 17,6%).



Anchura del tallo: 10
Cada hoja: 1 caso (s)

Gráfico 1. Distribución de la variable edad de los niños sanos en correspondencia con el Gráfico de Tallo y Hoja (Nº). Consultorio Pediátrico “La Cruz Dorada” y Laboratorio de Síndromes Gastrointestinales y Urinarios “Profª Luisa Vizcaya” de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis (ULA). Septiembre 2016 hasta Junio 2019.

Nota. Los datos de la edad se agruparon en el grupo menor de 8 meses de edad, correspondiendo con lactantes menores. Sin embargo, los niños de 6 y 7 meses de edad fueron los que predominaron en el grupo menor de 8 meses (10 casos). Este subgrupo de 6 y 7 meses es muy importante porque ya ha tenido más tiempo de contacto con el grupo familiar y con la manipulación con las manos, vehículo importante para la transmisión de cepas resistente a los antimicrobianos.

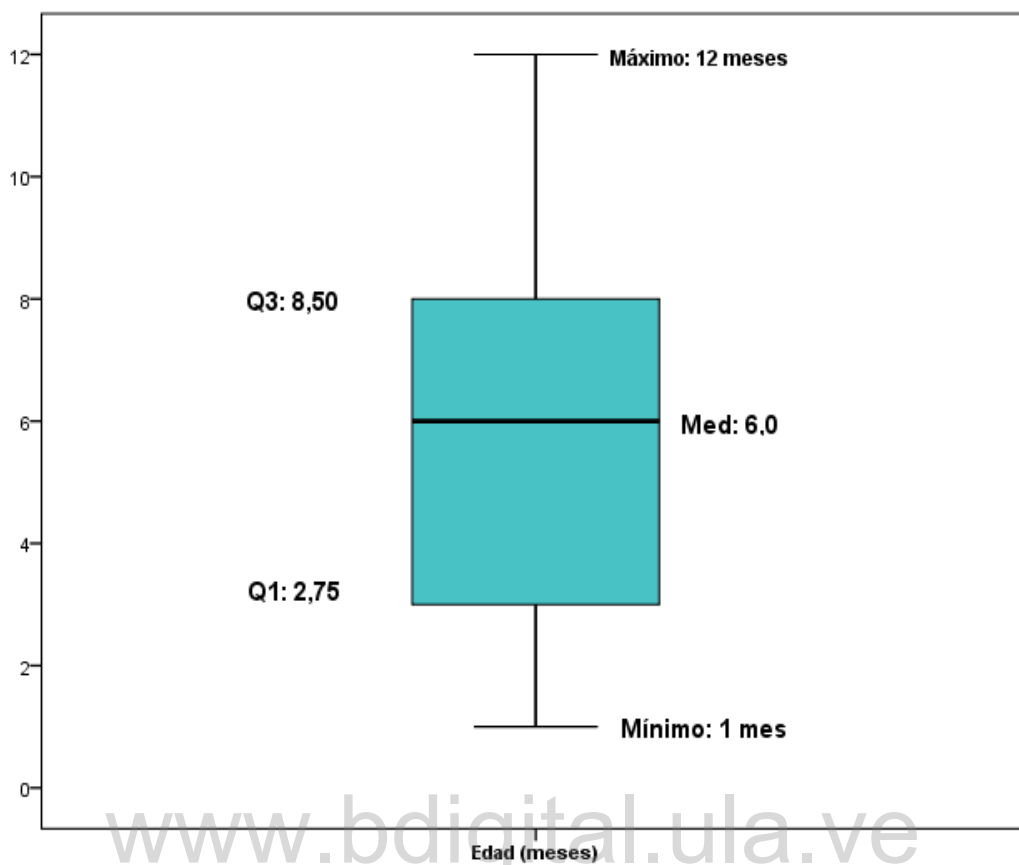


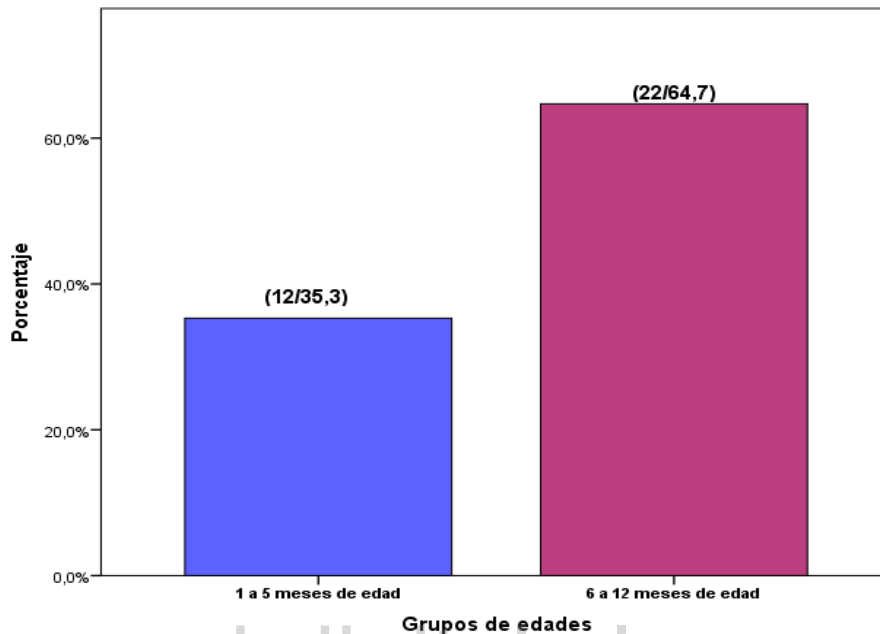
Gráfico 2. Distribución de la variable edad de los niños sanos en correspondencia con el Gráfico de caja y bigote. Consultorio Pediátrico “La Cruz Dorada” y Laboratorio de Síndromes Gastrointestinales y Urinarios “Prof^a Luisa Vizcaya” de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis (ULA). Septiembre 2016 hasta Junio 2019.

Nota. Respecto a la edad, el valor mínimo fue de 1 mes, el valor mayor de la edad fue de 12 meses. La mitad de los niños se agruparon en edades inferiores a la mediana. No se encontraron valores atípicos.

Tabla 8. Medidas de posición y variabilidad de la variable edad (Nº). Consultorio Pediátrico “La Cruz Dorada” y Laboratorio de Síndromes Gastrointestinales y Urinarios “Prof^a Luisa Vizcaya” de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis (ULA). Septiembre 2016 hasta Junio 2019.

Estadísticos Edad (meses)		
Nº	Válidos	34
	Perdidos	0
Media		6,00
Error típ. de la media		,579
Mediana		6,00
Moda		6
Desv. típ.		3,375
Varianza		11,394
Asimetría		,020
Error típ. de asimetría		,403
Curtosis		-1,078
Error típ. de curtosis		,788
Rango		11
Mínimo		1
Máximo		12
Suma		204
Percentiles	25	2,75
	50	6,00
	75	8,50

Nota. Respecto a las medidas de posición en la “n” representada por los niños sanos, la edad promedio fue de 6 meses. La mitad de los niños tenían menos de 6 meses de edad, respecto a la mediana, el otro 50% de la “n” se encontró por encima de ese valor. En cuanto a las medidas de variación, la variable edad fue muy dispersa, pues reveló un rango alto. La edad se desvía con respecto a la media, en 3,37 meses. A su vez se puede notar que la mayoría de los niños se agruparon por debajo de los 8 meses de edad (Percentil 75). La asimetría de los datos de la edad fue positiva, lo cual indica que la distribución de los valores está sesgada hacia la izquierda de la curva, es decir por debajo de la media. A su vez, la edad reveló una curtosis positiva, lo cual indica que los valores de esta variable son más homogéneos; y la curva es leptocúrtica.



www.bdigital.ula.ve

Gráfico 3. Distribución de la variable grupos de edades de los niños sanos (Nº y %). Consultorio Pediátrico “La Cruz Dorada” y Laboratorio de Síndromes Gastrointestinales y Urinarios “Profª Luisa Vizcaya” de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis (ULA). Septiembre 2016 hasta Junio 2019.

Nota. Los datos de la edad se agruparon predominantemente en el grupo de 6 a 12 meses (64,7 %).

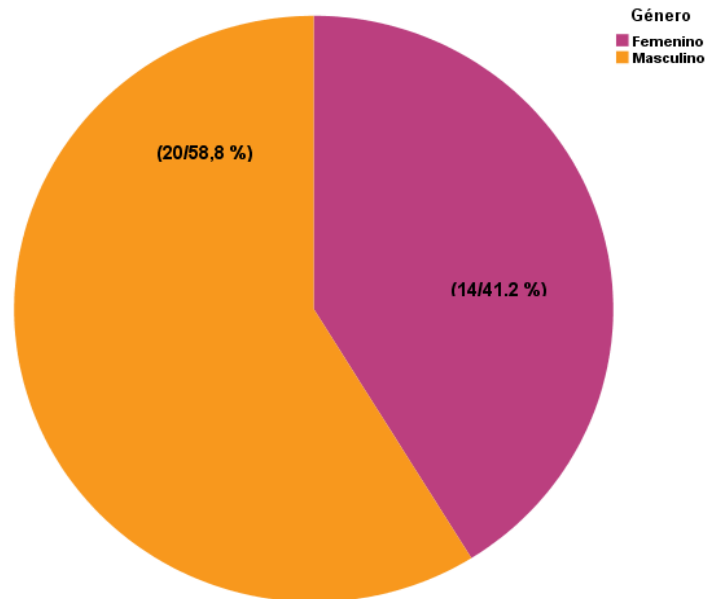


Gráfico 4. Distribución de la variable género de los niños sanos. Consultorio Pediátrico “La Cruz Dorada” y Laboratorio de Síndromes Gastrointestinales y Urinarios “Prof^a Luisa Vizcaya” de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis (ULA). Septiembre 2016 hasta Junio 2019.

Nota. En el grupo de estudio predominaron los niños (58,8 %) con respecto al género femenino.

**Tabla 9. Nivel socioeconómico de los niños (Nº y %)). Consultorio
Pediátrico “La Cruz Dorada” y Laboratorio de Síndromes
Gastrointestinales y Urinarios “Profª Luisa Vizcaya” de la Facultad de
Farmacia y Bioanálisis (ULA). Septiembre 2016 hasta Junio 2019.**

Nivel socioeconómico	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Clase alta	4	11,8	11,8	11,8
Clase media alta	6	17,7	17,7	29,5
Media baja	18	52,9	52,9	82,4
Obrera	6	17,6	17,6	100,0
Total	34	100,0	100,0	

Nota. La mayoría de los niños incluidos en el estudio pertenecían a la clase media baja. Sin embargo, sumada a la clase obrera resalta la predominancia de los estratos socioeconómicos inferiores.

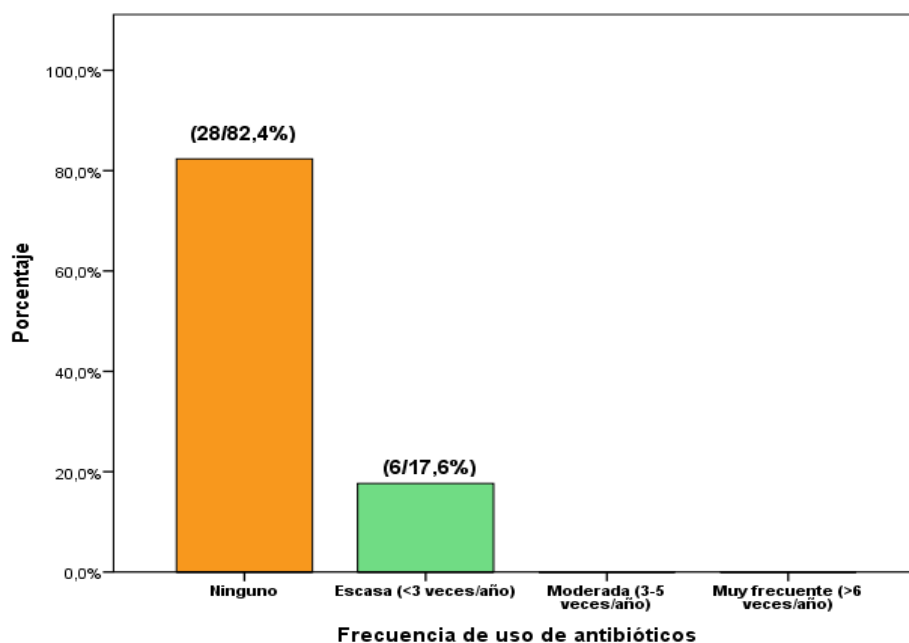


Gráfico 5. Distribución de la variable frecuencia de uso de los antibióticos en los niños sanos. Consultorio Pediátrico “La Cruz Dorada” y Laboratorio de Síndromes Gastrointestinales y Urinarios “Prof^a Luisa Vizcaya” de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis (ULA). Septiembre 2016 hasta Junio 2019.

Nota. En cuanto a la frecuencia de uso de antibióticos, se encontró que la presión selectiva, con estos fármacos, de la microbiota residente de estos niños fue un antecedente muy infrecuente (82,4 %).

Tabla 10. Enfermedades que motivaron el uso de antibióticos en los niños (Nº y %). Consultorio Pediátrico “La Cruz Dorada” y Laboratorio de Síndromes Gastrointestinales y Urinarios “Prof^a Luisa Vizcaya” de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis (ULA). Septiembre 2016 hasta Junio 2019.

Enfermedades	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Ninguna	28	82,3	82,3	82,3
Amigdalitis	2	5,9	5,9	88,2
Conjuntivitis	2	5,9	5,9	94,1
Diarrea inflamatoria	2	5,9	5,9	100,0
Total	34	100,0	100,0	

Nota. Resalta en la población de estudio que las enfermedades infecciosas generadoras del uso de antibióticos correspondieron con tres sistemas: respiratorio, ocular e intestinal. El porcentaje de frecuencia de estas enfermedades, en conjunto, fue de 17,7 %.

Tabla 11. Susceptibilidad de *E. coli* comensal a los β -lactámicos (Nº y %) en heces de niños sanos. Consultorio Pediátrico “La Cruz Dorada” y Laboratorio de Síndromes Gastrointestinales y Urinarios “Profª Luisa Vizcaya” de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis (ULA). Septiembre 2016 hasta Junio 2019.

Antibióticos		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Ampicilina	Sensible	9	26,5	26,5	26,5
	Resistente	25	73,5	73,5	100,0
	Total	34	100,0	100,0	
Amoxicilina-ácido clavulánico	Sensible	30	88,2	88,2	88,2
	Resistente	4	11,8	11,8	100,0
	Total	34	100,0	100,0	
Cefuroxima	Sensible	32	94,1	94,1	94,1
	Resistente	2	5,9	5,9	100,0
	Total	34	100,0	100,0	
Ceftazidima	Sensible	33	97,1	97,1	97,1
	Resistente	1	2,9	2,9	100,0
	Total	34	100,0	100,0	

Nota. Respecto al patrón de susceptibilidad de las cepas de *E. coli* estudiadas, frente a los β -lactámicos probados, la resistencia fue alta para la ampicilina (73,5 %) y muy baja en Amoxicilina-ácido clavulánico, Cefuroxima, Ceftazidima.

Tabla 12. Susceptibilidad de *E. coli* comensal a Trimetoprim-sulfametoxazol, amikacina y quinolonas(Nº y %) en heces de niños sanos.Consultorio Pediátrico “La Cruz Dorada” y Laboratorio de Síndromes Gastrointestinales y Urinarios “Profª Luisa Vizcaya” de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis (ULA). Septiembre 2016 hasta Junio 2019.

Antibióticos		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Trimetoprim-sulfametoxazol	Sensible	17	50,0	50,0	50,0
	Resistente	17	50,0	50,0	100,0
	Total	34	100,0	100,0	
Amikacina	Sensible	33	97,1	97,1	97,1
	Resistente	1	2,9	2,9	100,0
	Total	34	100,0	100,0	
Ácido nalidíxico	Sensible	30	88,2	88,2	88,2
	Resistente	4	11,8	11,8	100,0
	Total	34	100,0	100,0	
Ciprofloxacina	Sensible	32	94,1	94,1	94,1
	Resistente	2	5,9	5,9	100,0
	Total	34	100,0	100,0	

Nota. Respecto al patrón de susceptibilidad de las cepas de *E. coli* estudiadas, frente a otros antibióticos probados(Trimetoprim-sulfametoxazol,Amikacina, Ácido nalidíxico, Ciprofloxacina)la resistencia fue muy alta para Trimetoprim-sulfametoxazol (50 %). Estimula el interés la resistencia encontrada con respecto a las quinolonas, considerando que estos antibióticos no se utilizan con mucha frecuencia en los lactantes menores.

Tabla 13. Resistencia de *E. coli* comensal a uno o varios antibióticos. Consultorio Pediátrico “La Cruz Dorada” y Laboratorio de Síndromes Gastrointestinales y Urinarios “Prof^a Luisa Vizcaya” de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis (ULA). Septiembre 2016 hasta Junio 2019.

Nº de antibióticos	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Ninguno	4	11,8	11,8	11,8
Un antibiótico	12	35,3	35,3	47,1
Dos antibióticos	13	38,2	38,2	85,3
Tres antibióticos	4	11,8	11,8	97,1
Cuatro antibióticos	1	2,9	2,9	100,0
Total	34	100,0	100,0	

Nota. Respecto a la resistencia de *E. coli* a uno o varios antibióticos, 88,2 % de las cepas revelaron fenotipo de resistencia. Sin embargo, resalta la frecuencia de las cepas resistentes a 3 y 4 antibióticos (14,7 %).

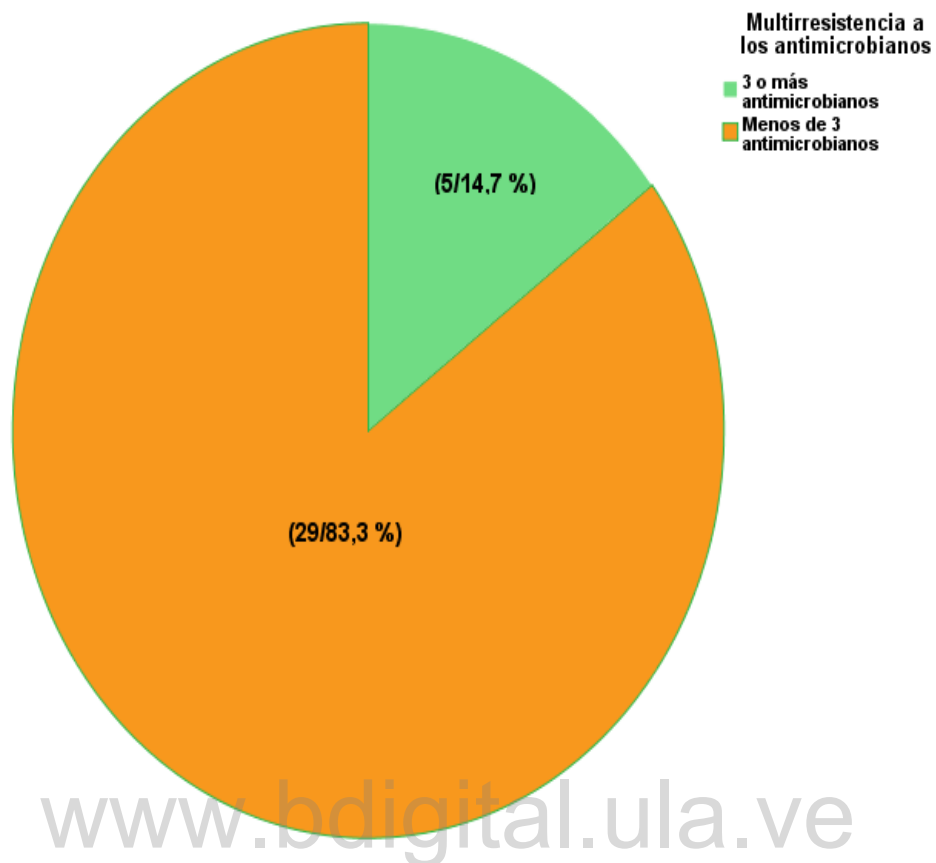


Gráfico 6. Multirresistencia de *E. colicomensal*. Consuntorio Pediátrico “La Cruz Dorada” y Laboratorio de Síndromes Gastrointestinales y Urinarios “Profª Luisa Vizcaya” de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis (ULA). Septiembre 2016 hasta Junio 2019.

Nota. Respecto a la multirresistencia, 14,7 % de las cepas de *E. coli* comensal revelaron este fenotipo. El criterio de análisis utilizado para la interpretación de esta variable fue: cepas resistentes a 3 o más antibióticos, pertenecientes a 3 o más familias diferentes.

Tabla 14. Análisis de correspondencia de la variable Multirresistencia a los antimicrobianos en *E. coli* comensal y la frecuencia de uso de antimicrobianos. Consultorio Pediátrico “La Cruz Dorada” y Laboratorio de Síndromes Gastrointestinales y Urinarios “Prof^a Luisa Vizcaya” de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis (ULA). Septiembre 2016 hasta Junio 2019.

Frecuencia de uso de antibióticos		Multirresistencia a los antimicrobianos		Total
		3 o más antimicrobianos	Menos de 3 antimicrobianos	
Ninguno	Recuento	5	23	28
	% dentro de Frecuencia de uso de antibióticos	17,9%	82,1%	100,0%
	% dentro de Multirresistencia a los antimicrobianos	100,0%	79,3%	82,4%
	% del total	14,7%	67,6%	82,4%
Escasa (<3 veces/año)	Recuento	0	6	6
	% dentro de Frecuencia de uso de antibióticos	0,0%	100,0%	100,0%
	% dentro de Multirresistencia a los antimicrobianos	0,0%	20,7%	17,6%
	% del total	0,0%	17,6%	17,6%
Total	Recuento	5	29	34
	% dentro de Frecuencia de uso de antibióticos	14,7%	85,3%	100,0%
	% dentro de Multirresistencia a los antimicrobianos	100,0%	100,0%	100,0%
	% del total	14,7%	85,3%	100,0%

Nota. Respecto a la correspondencia de la multirresistencia con la frecuencia de uso de antibióticos, se encontró la presencia de esta variable en el grupo de cepas recuperadas de las heces de los niños que no habían recibido antimicrobianos hasta la fecha de la toma de muestra (17,9 %). No se observó ningún caso de multirresistencia en el grupo que sí había recibido antibióticos.

Tabla 15. Multirresistencia de *E. coli* comensal en correspondencia con los grupos de edades. Consultorio Pediátrico “La Cruz Dorada” y Laboratorio de Síndromes Gastrointestinales y Urinarios “Prof^a Luisa Vizcaya” de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis (ULA). Septiembre 2016 hasta Junio 2019.

Grupos de edades		Multirresistencia a los antimicrobianos		Total
		3 o más antimicrobianos	Menos de 3 antimicrobianos	
1 a 5 meses de edad	Recuento	1	11	12
	% dentro de Grupos de edades	8,3%	91,7%	100,0%
	% dentro de Multirresistencia a los antimicrobianos	20,0%	37,9%	35,3%
	% del total	2,9%	32,4%	35,3%
6 a 12 meses de edad	Recuento	4	18	22
	% dentro de Grupos de edades	18,2%	81,8%	100,0%
	% dentro de Multirresistencia a los antimicrobianos	80,0%	62,1%	64,7%
	% del total	11,8%	52,9%	64,7%
Total	Recuento	5	29	34
	% dentro de Grupos de edades	14,7%	85,3%	100,0%
	% dentro de Multirresistencia a los antimicrobianos	100,0%	100,0%	100,0%
	% del total	14,7%	85,3%	100,0%

Nota. Respecto a la correspondencia de la multirresistencia con los grupos de edades, se encontró la presencia de esta variable predominantemente en el grupo de cepas recuperadas de las heces de los niños con edades entre 6 y 12 meses (18,2 %).

Tabla 16. Multirresistencia de *E. coli* comensal en correspondencia con el nivel socioeconómico. Consultorio Pediátrico “La Cruz Dorada” y Laboratorio de Síndromes Gastrointestinales y Urinarios “Prof^a Luisa Vizcaya” de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis (ULA). Septiembre 2016 hasta Junio 2019.

Nivel socioeconómico		Multirresistencia a los antimicrobianos		Total
		3 o más antimicrobianos	Menos de 3 antimicrobianos	
Clase alta	Recuento	0	4	4
	% dentro de Nivel socioeconómico	0,0%	100,0%	100,0%
	% dentro de Multirresistencia	0,0%	13,8%	11,8%
	% del total	0,0%	11,8%	11,8%
Clase media alta	Recuento	0	6	6
	% dentro de Nivel socioeconómico	0,0%	100,0%	100,0%
	% dentro de Multirresistencia	0,0%	20,7%	17,6%
	% del total	0,0%	17,6%	17,6%
Media baja	Recuento	4	14	18
	% dentro de Nivel socioeconómico	22,2%	77,8%	100,0%
	% dentro de Multirresistencia	80,0%	48,3%	52,9%
	% del total	11,8%	41,2%	52,9%
Obrera	Recuento	1	5	6
	% dentro de Nivel socioeconómico	16,7%	83,3%	100,0%
	% dentro de Multirresistencia	20,0%	17,2%	17,6%
	% del total	2,9%	14,7%	17,6%
Total	Recuento	5	29	34
	% dentro de Nivel socioeconómico	14,7%	85,3%	100,0%
	% dentro de Multirresistencia	100,0%	100,0%	100,0%
	% del total	14,7%	85,3%	100,0%

Nota. Respecto a la correspondencia de la multirresistencia con el nivel socioeconómico, se encontró la presencia de esta variable solamente en las cepas de *E. coli* comensal recuperadas en las heces de los niños de la clase media baja y obrera (38,9 %).

Discusión

En esta investigación multivariante, dicotómica, bicategorica y multicategorica, se pretendió analizar la correspondencia entre la multirresistencia a los antimicrobianos en *Escherichia coli* comensal, el método de Kirby-Bauer y los factores clínico-epidemiológicos en heces de niños sanos. El objeto de estudio representado por la multirresistencia a los antimicrobianos en *Escherichia coli* comensal fue analizado conjuntamente con las otras variables: frecuencia de uso de antibióticos, edad, grupos de edades, género, nivel socioeconómico y los factores clínicos, con el fin de interpretar la probable relación de correspondencia. Para tal fin se recolectaron los datos clínicos y epidemiológicos a través del instrumento de recolección. También, se realizaron los ensayos de laboratorio para obtener la información sobre la susceptibilidad a 8 antibióticos agrupados en 4 familias diferentes: β -lactámicos, aminoglucósidos, trimetoprim-sulfametoxazol y quinolonas.

La prevalencia de la multirresistencia de las cepas de *E. coli* comensal, obtenida en esta investigación, fue de 14,7 %. Al respecto, otros investigadores también han analizado la multirresistencia en cepas comensales de *E. coli* encontrando prevalencias variadas. En tal sentido, Shakya *et al*¹⁵ encontraron una multirresistencia de 33 % en niños de mayor edad (3 a 14 años) comparado con las edades menores de los infantes incluidos en este estudio. En contraposición, Karami *et al*¹⁴ no encontraron multirresistencia en una investigación realizada en lactantes menores. En el mismo orden de ideas, Boket *et al*¹³ encontraron resistencia en estas cepas comensales por lo menos a 1 antibiótico y una multirresistencia baja. Esta variabilidad de la multirresistencia en cepas de *E. coli* comensal, puede estar relacionada con la edad de los niños y el consumo de antibióticos en la comunidad en la cual viven. También, probablemente con el nivel

socioeconómico bajo asociado a una mayor transmisión de enfermedades infecciosas, y en consecuencia al uso desmedido de antibióticos.

Respecto a la resistencia de *E. coli* comensal a los β -lactámicos, en esta investigación se encontró 73,5 % de cepas resistentes a la ampicilina. Otros autores han informado porcentajes menores (62,6-65%)^{20,22} pero cercanos a los obtenidos en esta investigación. Esta resistencia muy alta es un hallazgo compartido entre diferentes investigadores, y probablemente esté asociado al uso frecuente de este β -lactámico, sin indicaciones concretas. Adicionalmente, es importante destacar que la resistencia alta a la ampicilina se mantiene aún en niños mayores (pre-escolares, escolares y adolescentes)¹⁵. Esto revela la gran movilidad y prevalencia del gen de resistencia y probablemente a la presión selectiva sostenida con este β -lactámico.

El grupo de antibióticos representado por las quinolonas también es blanco de la resistencia en cepas bacterianas de niños, aunque no se indica con frecuencia en la población infantil. En esta investigación se encontró resistencia a quinolonas (17,7 %). Otros investigadores han encontrado una frecuencia porcentual de esta resistencia parecida o más alta; variando entre 18 y 32%^{20,22,36}. Este hallazgo relacionado con las quinolonas puede ser catalogado como una resistencia de bajo nivel (< 20%), lo cual tiene importancia clínica ya que estas cepas bacterianas pueden evolucionar requiriendo mayor concentración de antibióticos para inhibir su crecimiento.

Entre los grupos de antibióticos, el trimetoprim-sulfametoxazol fue causa de resistencia en este estudio, encontrándose una frecuencia alta (50 %). Esta resistencia alta también ha sido informada por otros autores, en cuyos estudios han encontrado frecuencias que varían entre 29 y 38,8%^{15,36}. Sin embargo, otros investigadores han encontrado resistencia a este antibiótico con una frecuencia mayor (87 %). Esta frecuencia es muy alta y refleja una resistencia de alto nivel, en la cual las bacterias requieren mayor

concentración de antibiótico para inhibir su crecimiento, refleja además un cambio evolutivo^{37,38}.

El uso indiscriminado de antibióticos en la población infantil es fuente de presión selectiva en las microbiotas patógenas y residentes. Por eso, su uso frecuente puede ser un factor contribuyente con la prevalencia de bacterias resistentes. En tal sentido, en esta investigación se encontró que la variable frecuencia de uso de antibióticos, en los niños ingresados al estudio, obtuvo un porcentaje de 17,6% (< 3 veces al año). Aunque predominó el grupo de niños que no habían recibido ningún antimicrobiano (82,4%), 14,7 % de estos tenían en sus muestras fecales cepas de *E. coli* multirresistentes. En tal sentido, Bartolini *et al.* ha referido que la resistencia no solo es influenciada por la presión selectiva, sino también por la movilización de genes de resistencia y la adquisición por conjugación. Entre otras razones, las indicaciones de antibióticos en niños son frecuentes en los Ambulatorios de salud, atendidos por Médicos que no han desarrollado la competencia de prescripción justificada de antibióticos¹⁶.

En este estudio se observó que la multirresistencia de *E. coli* comensal predominó en el grupo de edad de 6 a 12 meses, con una frecuencia porcentual de 11,8 %. El hallazgo de resistencia bacteriana a los antibióticos en lactantes podría ser reflejo del uso frecuente, tal como lo refirió Bartolini *et al.* En el mismo orden de ideas de la multirresistencia, en este estudio se presentó esta variable en el grupo que no había recibido antibióticos durante su vida, lo cual podría explicarse a través de la evolución vertical y horizontal de las bacterias³⁸.

Con respecto a la contingencia entre la multirresistencia y el nivel socioeconómico, en este estudio se encontró que esta variable predominó en la clase media baja (22,2 %). Algunos autores han referido que el consumo de antibióticos es mayor en las clases sociales con mejor recurso económico para la adquisición de estos fármacos³⁶. Sin embargo, dado que en esta investigación el grupo con cepas de *E. coli* multirresistentes no había

utilizado antimicrobianos durante su vida, probablemente esto tenga relación con la resistencia adquirida por vía horizontal o vertical^{4,37,38}.

En resumen, en esta investigación se reafirmó que el método de Kirby-Bauer es útil para el estudio de la multiresistencia antimicrobiana. Además, se encontró que las cepas de *E. coli* comensal pueden ser indicadores centinela de la multiresistencia. Entre otros aspectos, no se encontró correspondencia de la multiresistencia con la frecuencia de uso de antibióticos. Es conveniente realizar otras investigaciones en las cuales se consideren otras variables, tales como: consumo de antibióticos entre los familiares y duración de la lactancia materna, con el fin de comprender mejor este fenómeno.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Conclusiones

www.bdigital.ula.ve

Las conclusiones son las respuestas a cada uno de los objetivos específicos, pues en conjunto revelan el conocimiento nuevo generado durante la investigación (Hurtado, 2010).

1. El grupo de edades predominante fue mayor a 5 meses. Del total de niños, la mayoría pertenecían al género masculino y a las clases media alta y media baja.
2. La mayoría de los niños no habían recibido antibióticos durante su vida. Algunos niños habían recibido antibióticos menos de 3 veces al año.
3. La multiresistencia antimicrobiana de las cepas de *E. coli* comensal fue de bajo nivel (<de 20 %) en el grupo de estudio. Predominó en el

grupo de edades de 6 a 12 meses, en la clase media alta y no reveló correspondencia con la frecuencia de uso de antibióticos.

Recomendaciones

Las recomendaciones derivan de las limitaciones identificadas durante las fases operativas de la investigación. Al respecto, se presentan las siguientes recomendaciones:

1. Es conveniente consolidar un plan de financiamiento durante el período de proyecto, para no retrasar la fase interactiva de la investigación.
2. Ante la escasez de trabajos previos relacionados con un problema de estudio, es importante la publicación de esta investigación en revistas de divulgación primaria con la modalidad de acceso libre, para que esté disponibles para otros investigadores.
3. Es conveniente realizar otras investigaciones en las que se incluyan variables, tales como: tiempo de lactancia materna, frecuencia de uso de antibióticos entre los miembros de la familia.

REFERENCIAS BIBLIOHEMEROGRAFICAS

1. Organización Mundial de la Salud (OMS). Resistencias a los antimicrobianos. Informe de un Grupo Científico de la OMS. Ginebra: OMS; 2013 (Serie de Informes Técnicos: 194).
2. Rosenblatt N. El paisaje de la resistencia a los antibióticos. *Salud Pública*. México 2009; 51(5): 435-442.
3. Rodas C, Halvorsen K, Iñiguez V. Multiresistencia antimicrobianos asociadas a integrones en enteropatógenos de la diarrea infantil *Escherichiacoli* de la flora normal en niños menores de 5 años en la ciudad de La Paz. *Cuadernos Hospital de Clínicas*2005; 50(2): 38-48.
4. Bartoloni A, Pallecchi L, Benetti M, Fernández C, Vallejos Y, Guzmán E et al. Multidrug-resistant Commensal *Escherichia coli* in Children, Peru and Bolivia. *Emerg Infect Dis*2006 Jun; 12(6): 907–913. doi: 10.3201/eid1206.051258
5. Lopez M, Barcenilla F, Amaya R, Garnacho J. multirresistencia antibiótica en unidades de críticos. *Medicina intensive* 2011; 35(1):41-53. doi:10.1016/j.medin.2010.07.011
6. Ruiz-Garbajosa P, Cantón R. Epidemiología de los bacilos gramnegativos multirresistentes. *Revista Española de Quimioterapia* 2016;29(Suppl. 1): 15-20.
7. Koneman E, Allen S, Janda W, Schreckenberger P, Winn W (eds). *Diagnóstico microbiológico. Introducción a la Microbiología Parte I*. 5ª ed. Buenos Aires-Argentina: Médica Panamericana; 2004.
8. Holmes SJ, Morrow AL and Pickering LK. Child-care practices: effects of social change on the epidemiology of infectious diseases and antibiotic resistance. *Epidemiologic Reviews* 1996; 18(1):10-28.

9. Rossignoli A, Clavenna A, Bonati M. Antibiotic prescription and prevalence rate in the outpatient paediatric population: analysis of surveys published during 2000-2005. *European Journal of Clinical Pharmacology* 2007; 63(12): 1099-106.
10. Macias A, Herrera L, Muñoz J, Medina H. *Escherichiacolifecal resistente a antibióticos en niños sano ¿Inducción por uso de antibióticos?* *Revista de Investigación Clínica* 2002; 54(2): 108-112.
11. Hernández I, Jarril I, Delgado M (eds). *Manual de epidemiología y salud pública*. 1ª ed. Madrid-España: Editorial Médica Panamericana; 2005.
12. Ortiz V. Resistencia bacteriana en Venezuela: Reportes clínicos suplenn carencias de nuevos fármacos. *Vitae academia biomédica digital* 2004; (47): 1-9.
13. Bok E, Mazurek J, Myc A *et al.* Comparison of Commensal *Escherichia coli* Isolates from Adults and Young Children in Lubuskie Province, Poland: Virulence Potential, Phylogeny and Antimicrobial Resistance. *international Journal of Environmental Research and Public Health* 2018, 15(4), 617.
14. Karami N, Wold A, Adlerberth I. Antibiotic resistance is linked to carriage of *papC* and *aiutA* virulence genes and phylogenetic group D background in commensal and uropathogenic *Escherichia coli* from infants and young children. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* 2017; 36:721–729.
15. Shakya P, Barrett P, Diwan V *et al.* Antibiotic resistance among *Escherichia coli* isolates from stool samples of children aged 3 to 14 years from Ujjain, India. *BMC Infectious Diseases* 2013; 13:477
16. EckerL, Ochoa T, Vargas M, Del Valle L, Ruiz J. Preferencias de uso de antibióticos en niños menores de cinco años por médicos de centros de salud de primer nivel en zonas periurbanas de Lima, Perú. *Revista peruana de Medicina Experimental y Salud Pública* 2013; 30(2): 181-189.
17. Hurtado J (ed.). El “para que”, o los objetivos de la investigación. En *el proyecto de investigación, comprensión holística de la metodología y la*

- investigación*. 6ª ed. Caracas-Venezuela: Ediciones Quirón; 2010. p. 94-96.
18. Hernández–Sampieri R. Definición del alcance de la investigación a realizar. Exploratoria, descriptiva, correlacional, o explicativa. *En metodología de la investigación*. 5ª ed. Chile: MC Graw Hill; 2010. p. 78.
 19. Lázaro E, De Abajo Iglesia J, Lopez A, Fernández M. Uso de antibióticos en España y marco regulador para su desarrollo clínico en la Unión Europea. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica* 2010;28(Supl 4):10-16.
 20. Dyar O, Hoa N, Trung N, Puc H, Larsson M, Chuc N, et al. High prevalence of antibiotic resistance in commensal *Escherichia coli* among children in rural Vietnam. *BMC Infectious Diseases* 2012; 12(1): 1-8.
 21. Hernández A (ed.). La epidemia saliente del siglo XXI, resistencia antimicrobiana. En *microbiología y parasitología médicas*. La Habana-Cuba: Ciencias Médicas; 2001. p. 91-99.
 22. Pons M, Mosquito S, Ochoa T, Vargas M, Molina M, Lluque A, et al. Niveles de resistencia a Antimicrobianos en especial a quinolonas, en Cepas de *Escherichiacoli* comensales en niños de la zona periurbana de Lima. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública* 2012; 29(1): 82-86.
 23. Monsalve J, Jerez C, Hernández J. Resistencia de *Escherichia coli* comensal a los betalactámicos asociada al uso de antimicrobianos y factores clínico epidemiológicos en niños sanos. Trabajo de Grado. Universidad de Los Andes, Venezuela; 2011.
 24. Gómez R (ed). Historia de la Antibioterapia. *Microbiología Médica*. Zaragoza; 1997. p. 62.
 25. Kakabadse D. Transferencia de genes de resistencias a antibióticos en aislados de *Escherichiacoli* provenientes de comunidades remotas de esmeralda. Tesis de Pregrado. Universidad San Francisco de Quito; 2007.

26. Beers M, Porter R, Jones T (eds). Bacterias y Fármacos Antibacterianos. *El Manual Merk*. 11ª ed. España: editorial ELSEVIER; 2007. p. 1537-1571.
27. Barberán J, Moya M. Repercusión ecológica de la utilización de los antibióticos. *Emergencias* 2006; 18(1): 105-108.
28. Méndez Castellanos, H. Sociedad y estratificación. *Método Graffar-Méndez Castellanos*. Caracas, Venezuela: Fundacredesa; 1994.
29. Sánchez K. *Requerimientos de Oxígeno. Manual práctico de bacteriología general*. Mérida-Venezuela: Universidad de Los Andes, CODEPRE; 2006. p. 87-88.
30. Crespo M. La lectura interpretativa del antibiograma: una herramienta para predecir la resistencia bacteriana en el laboratorio de microbiología de rutina. *Colombia Médica* 2002; 33(4): 179-193.
31. Palella S, Martins F (eds). Introducción a la investigación. En *metodología cuantitativa*. 2ª ed. Caracas-Venezuela: FEDUPEL; 2006. p. 39-96.
32. Araque M. *Principios diagnósticos de las enfermedades infecciosas. Manual práctico de bacteriología clínica*. Mérida-Venezuela: Universidad de Los Andes, CODEPRE; 2008. p. 9-23.
33. Velazco J, Longa A. *Diagnóstico de la enfermedad diarreica aguda (EDA) Coprocultivo*. En *manual práctico de bacteriología clínica*. Mérida-Venezuela: Universidad de Los Andes, CODEPRE; 2008. p. 103-117.
34. Araque M. *Pruebas de Susceptibilidad Antimicrobiana*. En *manual práctico de bacteriología clínica*. Mérida-Venezuela: Universidad de Los Andes, CODEPRE; 2008. p. 25-30.
35. *Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI), M100-S24. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; twenty-fourth informational supplement. Clinical Laboratory Standards Institute 2019, EE.UU.*
36. Brito Y, Hernández J y Díaz T. Susceptibilidad de *Escherichia coli* comensal a las Quinolonas y Trimetoprim-Sulfametoxazol asociada al uso de antibióticos y factores clínicos-epidemiológicos en niños sanos. Trabajo de Grado. Universidad de Los Andes, Venezuela; 2015.

37. Opal S, Mayer K, Medeiros A. Mecanismo de resistencia bacteriana a los antibióticos. En *enfermedades infecciosas principios y prácticas*. 5ª ed. Buenos Aires-Argentina: Médica Panamericana; 2002. 291-312.
38. Rodas C, Halvorsen K, Iñiguez V. Multirresistencia antimicrobianos asociadas a integrones en enteropatógenos de la diarrea infantil *Escherichiacoli* de la flora normal en niños menores de 5 años en la ciudad de La Paz. ResearchGate 2005; 50(2): 38-48.

www.bdigital.ula.ve

Anexo 1

[Instrumento recolección de datos]



UNIVERSIDAD DE LOS ANDES
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOANÁLISIS
ESCUELA DE BIOANÁLISIS
DEPARTAMENTO DE BIOANÁLISIS CLÍNICO
LABORATORIO DE SÍNDROMES
GASTROINTESTINALES Y URINARIOS
“Prof(a). LUISA VIZCAYA”



**MULTIRRESISTENCIA A LOS ANTIMICROBIANOS EN *Escherichiacoli*
COMENSAL RELACIONADA CON EL MÉTODO DE KIRBY- BAUER Y
LOS FACTORES CLÍNICO-EPIDEMIOLOGICOS EN HECES DE NIÑOS
SANOS**

www.bdigital.ula.ve

Instrumento recolección de datos

Autor

Héctor L. Gutiérrez G.

CI: 20.432.789

Marlyn V. Cegarra B.

CI: 21.439.239

Tutor:

Prof. José Gregorio Hernández

Mérida, 2018

Parte I. Datos de Identificación

Número de Identificación:.....

D2. Enfermedades que motivaron la prescripción de los antibióticos

1. Infecciones respiratorias

Tracto respiratorio superior:

- Amigdalitis..... _____
- Otitis..... _____
- Sinusitis..... _____

Tracto respiratorio inferior:

- Bronconeumonía..... _____
- Neumonía..... _____

Tipo de Antibiótico _____

2. Diarrea:

- Inflamatoria..... _____
- No inflamatoria..... _____

Tipo de Antibiótico: _____

3. Infección Urinaria:

Tipo de Antibiótico: _____

4. Infección de piel

Tipo de Antibiótico: _____

Parte V. Antecedentes Epidemiológicos

E1. Grupos de Edades:

- Recién Nacidos (0-29 días)..... _____
- Lactantes menores (1mes-11meses)..... _____
- Lactantes mayores (12meses-23meses)..... _____
- Preescolar..... _____

Femenino..... _____

Parte VI. Muestra

F1. Fenotipos de susceptibilidad detectados
Fenotipos de Resistencia _____
Fenotipos de Sensibilidad _____
Fenotipos de Sensibilidad Intermedia..... _____

Parte VII. Final de la evaluación

G1.

Fecha.....

____	____	____
Día	Mes	Año

G2. Comentarios:

Responsable(s):_____

Anexo 2

[Consentimiento Informado]

UNIVERSIDAD DE LOS ANDES
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOANÁLISIS
ESCUELA DE BIOANÁLISIS
DEPARTAMENTO DE BIOANÁLISIS CLÍNICO
LABORATORIO DE SÍNDROMES GASTROINTESTINALES Y URINARIOS
“Prof(a). LUISA VIZCAYA”

CONSENTIMIENTO INFORMADO

En la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes se están realizando el proyecto de investigación científica titulado: “Multirresistencia a los antimicrobianos en *Escherichiacoli* comensal relacionada con el método de Kirby-Bauer y los factores clínico-epidemiológicos en heces de niños sanos” con el objeto de analizar la correspondencia entre la multirresistencia a los antimicrobianos de este grupo de bacterias a los antibióticos, el método de Kirby-Bauer y los factores clínico-epidemiológicos de los niños participantes en este estudio.

Yo, _____ C.I.: _____
Nacionalidad _____ Estado Civil: _____ Domicilio en: _____

Siendo mayor de 18 años, en pleno uso de mis facultades mentales, sin que medie coacción ni violencia alguna y en completo conocimiento de la naturaleza, forma, duración, propósito, inconvenientes y riesgos relacionados con este estudio, declaro mediante la presente:

1. Haber sido informado de manera objetiva, clara y sencilla, por parte del grupo de investigadores Héctor L. Gutiérrez G. CI: 20.432.789; Marlyn V. Cegarra B. CI: 21.439.239, coordinados por el Dr. José Gregorio Hernández, CI: 5.368.849, de todos los aspectos relacionados con este proyecto de investigación.
2. Tener conocimiento claro de que el objetivo de este estudio es: Analizar la correspondencia entre la multirresistencia a los antimicrobianos en *Escherichiacoli* comensal, el método de Kirby-Bauer y los factores clínico-epidemiológicos en heces de niños sanos participantes en este estudio.
3. Que la participación de mi representado: _____ de _____ años de edad no implica riesgo ni inconveniente para su salud.
4. Que esta participación implica una toma de muestra fecal a mi representado por medio de la técnica de hisopado rectal y que la misma será realizada por una persona capacitada.
5. Que la muestra que acepto donar, así como la información que suministre al equipo de investigadores será utilizada única y exclusivamente para cumplir con el objetivo del estudio descrito anteriormente.
6. Que el equipo de investigadores me ha garantizado la confidencialidad de identidad y cualquier información relativa a mi persona y a la de mi representado, a la que tengan acceso por concepto de nuestra participación en este estudio.
7. Que estoy de acuerdo con el uso, para fines académicos, de los resultados obtenidos en esta investigación.
8. Que cualquier pregunta que yo tenga en relación con este estudio, me será respondido oportunamente por parte del equipo de investigadores antes mencionados con quienes me puedo comunicar por el teléfono 04247374810 con el Bachiller Héctor Gutiérrez, por el 04247639172, Marlyn Cegarra o por el 0414-7463648 con el Dr. José Gregorio Hernández.
9. Que bajo ningún concepto me han ofrecido ni pretendo recibir algún beneficio de tipo económico producto de los hallazgos que pueda producirse en el referido proyecto de investigación y que los resultados de las pruebas me serán entregados oportunamente.

Anexo 3

[Declaración del Voluntario]

UNIVERSIDAD DE LOS ANDES
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOANÁLISIS
ESCUELA DE BIOANÁLISIS
DEPARTAMENTO DE BIOANÁLISIS CLÍNICO
LABORATORIO DE SÍNDROMES GASTROINTESTINALES Y URINARIOS
“Prof(a). LUISA VIZCAYA”

Proyecto de Investigación:

“Multirresistencia a los antimicrobianos en *Escherichiacoli* comensal relacionada con el método de Kirby-Bauer y los factores clínico-epidemiológicos en heces de niños sanos”

Declaración del Voluntario

Luego de haber leído y recibido las respuestas a mis preguntas con respecto a este formato de consentimiento y por cuanto mi participación en este estudio es totalmente voluntaria acuerdo:

- a. Aceptar las condiciones estipuladas en el mismo y a la vez autorizar a este equipo de investigadores para que realicen el referido estudio sobre la muestra obtenida de mi representado.
- b. Reservarme el derecho de revocar esta autorización, así como mi participación en el proyecto, en cualquier momento, sí que ello conlleve a ningún tipo de consecuencia negativa para mi persona o la de mi representado.

Firma del voluntario: _____

Firma de los investigadores:

Héctor Gutiérrez, CI: 20.432.789:

Marlyn Cegarra, CI: 21.439.239:

Dr. José Gregorio Hernández. CI: 5.368.849:

Lugar: _____

Fecha: _____