

# AISLAMIENTO DE BACTERIAS NO VINCULADAS USUALMENTE A LA PRODUCCIÓN DE ENFERMEDADES DIARREICAS

## ISOLATION OF BACTERIA NOT USUALLY LINKED TO THE PRODUCTION OF DIARRHEAL DISEASES

Jesús Eduardo Rojas Jaimes<sup>1</sup>, Alberto Díaz Tello<sup>2</sup>, Carlos Elías Cruzado<sup>2</sup>

### RESUMEN

Reportes previos muestran el vínculo de las bacterias intestinales en la producción de cuadros diarreicos. Se obtuvieron 315 muestras coprológicas de pacientes con cuadros diarreicos de 7 diferentes servicios del Hospital Nacional Guillermo Almenara Irigoyen, con reacción inflamatoria positiva (más de 20 leucocitos/campo a 100X). Se cultivaron en medios selectivos de MacConkey, Salmonella Shigella SS, agar lisina dexoxicolato (XLD) y, como medio de enriquecimiento, caldo selenito. Después de las 24 horas de incubación, se realizó la identificación por metodología convencional manual, utilizando la batería de: TSI, LIA, SIM, urea, citrato. Se seleccionaron los aislados de bacterias diferentes a Shigella sp., Salmonella sp., Escherichia coli enteropatógena y Yersinia sp. (patógenos clásicos), que fueron un 25,7% de las muestras totales. Se identificó mayor prevalencia de pacientes con diarreas sin aislamiento de un patógeno clásico

en las muestras de niños menores de 5 años de los servicios de Pediatría y Emergencia Pediátrica, que presentaron bacterias intestinales como *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Citrobacter*, *Escherichia coli* no enteropatógena, *Proteus*, *Serratia*, *Morganella* y *Providencia* sp., siendo *Enterobacter* sp. y *Klebsiella* sp. las más prevalentes de este grupo. Existe la posibilidad de que las bacterias aisladas “no patógenas” podrían vincularse a diarreas en niños menores de 5 años y ocasionar reinfecciones de alto riesgo a nivel hospitalario.

**Palabras claves:** enfermedad intrahospitalaria, enterobacterias, reacción inflamatoria, diarrea

### ABSTRACT

Previous studies have shown the link between intestinal bacteria and the production of diarrheal diseases. A total of 315 coprological samples were obtained from patients with diarrheic diseases

<sup>1</sup> CARRERA DE MEDICINA HUMANA DE LA UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR. LIMA, PERÚ.

<sup>2</sup> SERVICIO DE MICROBIOLOGÍA DEL HOSPITAL NACIONAL GUILLERMO ALMENARA IRIGOYEN. LIMA, PERÚ.

from 7 different services of the Guillermo Almenara Irigoyen National Hospital, with a positive inflammatory reaction (more than 20 leukocytes x100 field). Salmonella-Shigella SS Agar Lysine Deoxycholate (XLD), and Selenite broth were cultured in selective McConkey media and enrichment medium. After 24 hours of incubation, identification was conducted using conventional manual methodology, using TSI, LIA, SIM, Urea, Citrate. The isolates of bacteria other than *Shigella* sp., *Salmonella* sp., *Escherichia coli enteropatogena* and *Yersinia* sp. (classical pathogens) were selected, constituting 25.7% of the total samples. The study identified a higher prevalence of patients with diarrhea without isolation of a classic pathogen in the samples of children under 5 years of age from the pediatric and emergency pediatric services, who presented intestinal bacteria such as *Enterobacter Klebsiella Citrobacter*, *Escherichia coli no enteropatogena*, *Proteus*; *Serratia*, *Morganella* and *Providencia* sp., with *Enterobacter* sp and *Klebsiella* sp. being the most prevalent of the group. It is possible that isolated "non-pathogenic" bacteria could be linked to diarrhea in children under 5 years of age, causing high-risk reinfections at the hospital level.

**Keywords:** Intra-hospital infection, enterobacteria, inflammatory reaction, diarrhea

## INTRODUCCIÓN

La diarrea es consecuencia de una alteración en el equilibrio del agua y los electrolitos en el intestino, lo que genera deshidratación y pérdida de minerales vitales para la persona (1).

Los mecanismos patogénicos que ocasionan diarrea son los siguientes:

1. Invasión de células del intestino

2. Producción de citotoxinas que inhiben la síntesis proteica
3. Producción de enterotoxinas que desequilibran el balance entre el agua y los iones, lo que mantiene a los enterocitos sin alteraciones en su morfología
4. Adherencia a la superficie de la mucosa que destruye la función celular normal

Uno de los tipos de diarrea más frecuentes es la aguda, con una duración menor a 14 días y que puede ser acuosa o con sangre (2). En contraste, la diarrea crónica tiene una duración de más de tres semanas y es prevalente en niños, según la OMS, entre el 3% y el 5% (3). Además, las diarreas son causa de un porcentaje considerable de morbilidad y mortalidad a nivel mundial, especialmente en niños menores de 5 años (4).

La diarrea es una de las causas de mayor prevalencia de enfermedad en ser humano. Existe una marcada diferencia entre los países desarrollados y aquellos en vías de desarrollo, pues los primeros presentan un sistema sostenido de salubridad, especialmente de tipo asistencial en el agua y los alimentos. La exposición repetida a los agentes que causan la diarrea lleva a que las personas generen una inmunidad progresiva que se acentúa en la madurez (5). Cerca de 1,7 billones de personas por año contraen enfermedades diarreicas y casi 760 000 de los casos son fatales (6).

La diarrea consiste en un cambio en la densidad de las heces con un aumento del número de las deposiciones (7). Los cuadros diarreicos presentan un alto valor de mortalidad, especialmente a nivel infantil, pues llegando a un 20% con cuadros mórbidos en niños menores de 5 años. En la mayoría de los casos, las diarreas son de tipo agudo, aunque en algunos casos se vuelven persistentes y

se prolongan más de 14 días. Cualquier tipo de diarrea provoca una distorsión de la absorción, la digestión y la motilidad, lo que se manifiesta en un aumento del volumen, la frecuencia y el contenido de agua en las heces. Una diarrea por más de catorce días produce mala absorción de lactosa en la luz intestinal, lo que provoca una diarrea sostenida por causa osmótica. Esto, a su vez, disminuye la secreción hormonal y motilidad del intestino, con una sobrepoblación de enterobacterias en la microflora duodenal que perpetúa el cuadro (8).

Las diarreas son causadas por múltiples agentes infecciosos —en especial, en grupos de riesgo como los niños menores de cinco años—, entre ellos algunos géneros bacterianos como *Campylobacter* sp. (9).

La colonización de la flora intestinal se inicia con el nacimiento de la persona, a partir de la flora intestinal materna y la del medio ambiente. A medida que pasa el tiempo comienza a existir un equilibrio entre los tipos de colonias que habitan en ella. La flora intestinal previene y controla la producción de bacterias patógenas, lo que previene las diarreas; además, estimula una respuesta inmunológica local y sistémica que incluye la producción de la IgA y la inmunomodulación propia del sistema inmunológico (10).

El ser humano es colonizado por una flora intestinal que en la mayoría de los casos resulta beneficiosa para el organismo, ya que lo protege de la colonización de algunas enterobacterias patógenas, así como interviene en la producción de metabolitos como las vitaminas. La flora intestinal, generalmente, pertenece a la familia Enterobacteriaceae gramnegativo (11).

Es conocido que el sobrecrecimiento bacteriano del intestino delgado provoca malabsorción que puede causar cuadros

diarreicos (12). La microbiota en el intestino y su equilibrio están regidos de forma cuantitativa y cualitativa por una diversa gama de enterobacterias (13). En ciertas circunstancias, puede ocurrir un desbalance de la flora intestinal después del uso de antibióticos, lo que podría causar cuadros diarreicos (10).

Estudios previos muestran que las enterobacterias pueden producir infecciones en cuatro localizaciones: biliares, por lesión intestinal, ginecológicas y urinarias (14).

Entre las enterobacterias, existe un grupo que son patógenos específicos, como algunas variedades de *Escherichia coli*: enterotoxigénica, enteropatógena, enterohemorrágica (productora de la toxina Shiga), enteroinvasiva y enteroagregativa. *Salmonella* es otra enteropatógena clásica, sus variedades *S. typhi*, *S. paratyphi* y, ocasionalmente, *S. typhimurium* son las que producen la fiebre tifoidea. *Shigella* es la responsable de la llamada disentería bacilar y es una de las bacterias con mayor tasa de aislamiento en las disenterías (11). El diagnóstico de las diarreas agudas se realiza mediante la prescripción de los coprocultivos, después del interrogatorio clínico, en busca de bacterias patógenas como *Shigella*, *Salmonella*, *Campylobacter* y *Yersinia* (15).

En contraste, las enterobacterias que forman parte de la flora intestinal en el ser humano son representadas por *Klebsiella*, aunque existen algunas especies de esta vinculadas con enfermedades en personas inmunodeprimidas o inmunocompetentes, como en el caso de *K. pneumoniae*. El género *Enterobacter* está compuesto por bacilos móviles con mucha plasticidad génica. *Citrobacter* se encuentra con frecuencia en el tracto urinario, este género utiliza particularmente el citrato como fuente de energía. Los géneros *Proteus*, *Providencia* y

*Morganella* son lactosa negativa, móviles que producen fenilalanina desaminasa. *Serratia* incluye bacilos móviles que fermentan con lentitud o no fermentan la lactosa, y con frecuencia son multidrogoresistentes (11).

Algunas especies de *Klebsiella* están directamente vinculadas con las neumonías y son bacterias oportunistas que generan enfermedad en pacientes inmunosuprimidos. *Enterobacter* puede ocasionar infecciones en diferentes tejidos del cuerpo cuando existe un estado inmunológico suprimido. *Serratia*, además de colonizar el sistema digestivo, puede aislarse del tracto urinario y respiratorio, y causar enfermedad. *Proteus* puede producir infección a nivel del tracto urinario. *Morganella* es difícil de erradicar por la formación de cálculos fosfatados en donde se interioriza la bacteria y *Providencia* puede producir infecciones nosocomiales transmitidas por personal de salud. *Citrobacter* es capaz de producir infecciones del tracto urinario (16). Las enterobacterias del género *Klebsiella* están involucradas en episodios de diarreas en niños menores de cinco años; entre ellas se encuentran *K. pneumoniae* y *K. oxytoca*, asociadas a infecciones oportunistas del tracto urinario, bacteriemias nosocomiales y gastroenteritis (17). *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia* y *Citrobacter*, llamados bacilos coliformes, y *Proteus*, son patógenos oportunistas que forman parte de la flora intestinal. *Proteus*, *Klebsiella* y *Enterobacter* son patógenos del tracto urinario. La ruptura natural de la piel y las mucosas, así como la disrupción de la flora intestinal generada por antibioterapia, especialmente en pacientes hospitalizados, son condiciones para que los bacilos coliformes y *Proteus* puedan generar infecciones nosocomiales (18). Adicionalmente, *Klebsiella* y *Enterobacter* están involucrados en infec-

ciones nosocomiales con la adherencia de resistencia a los antibióticos. *Serratia* es una bacteria que coloniza las vías respiratorias y el tracto urinario de los pacientes hospitalizados. *Proteus mirabilis* es la especie más representativa de *Proteus*, que genera infecciones en el tracto urinario. *Morganella*, *Providencia* y *Citrobacter* están involucrados en la presencia de bacteriemias en pacientes hospitalizados (19).

El estudio de las bacterias intestinales es importante para conocer si su alteración pudiera estar condicionando a un cuadro diarreico (1).

Las diarreas son un cuadro clínico con una alta prevalencia de morbimortalidad, especialmente en grupos de riesgo como niños menores de cinco años e inmunodeprimidos (4). Existe poca información sobre el rol de la patogenia que podría involucrar a la flora intestinal en ciertas condiciones para causar cuadros diarreicos. Estudios puntuales previos mencionan la presencia de *Proteus mirabilis*, *Morganella*, *Providencia* y *Enterobacter aerogenes* en los casos de diarrea aguda. En cambio, la presencia de *Proteus morganii*, *Enterobacter aerogenes*, *K. pneumoniae*, *Enterobacter agglomerans*, *Serratia* y *Proteus rettgerii* se vincula con casos de diarrea persistente (1, 20). Asimismo, *Enterobacter sakazakii* se encuentra vinculada a la disentería, principalmente en bebés prematuros (21). Adicionalmente, *Proteus*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Morganella*, *Providencia* y *Serratia* están involucradas en infecciones de diferentes tejidos en el cuerpo humano.

El objetivo del presente trabajo fue identificar bacterias de cuadros diarreicos diferentes a *Shigella*, *Salmonella*, *E. coli* y *Yersenia*.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### PROCESO INICIAL DE SELECCIÓN DE MUESTRAS

Se colectó, en recipientes estériles de plástico, muestras coprológicas de 315 pacientes con cuadros diarreicos y con reacción inflamatoria positiva (igual o mayor a 20 leucocitos por campo). Las muestras se procesaron en el Laboratorio de Microbiología del Hospital Guillermo Almenara (Lima, Perú), según la metodología estándar para coprocultivo. Para ello, se realizaron montajes húmedos de la parte de la muestra más representativa en SSF y lugol para buscar leucocitos y parásitos, se realizó un frotis en lamina para búsqueda de *Campylobacter* sp. por coloración en lámina y, al mismo tiempo, se cultivaron las muestras en medios de cultivo sólidos y en caldo.

### CULTIVO DE LAS MUESTRAS

Las muestras con reacción inflamatoria positivas se cultivaron por agotamiento en medios sólidos. Agar Salmonella-Shigella (SS), MacConkey (McK) y Agar xilosa lisina desoxicolato (XLD), además en caldo selenitos, y se incubaron durante 24 horas a 37 °C.

### SELECCIÓN E IDENTIFICACIÓN DE BACTERIAS

Se seleccionaron colonias aisladas de los medios sólidos SS, XLD y McK, tanto lactosa positivas como lactosa negativas, con o sin hidrógeno sulfurado, y se les aplicó la bioquímica diferencial en medios de TSI, LIA, SIM, urea y citrato, para su identificación final. En el caso de

encontrar alguna bacteriana patogénica característica, se asilaron los biotipos de *Esherichia coli*, *Salmonella*, *Shigella*, se les hizo serología con antisueros específicos en busca de la especie o serotipo característico. Las muestras cultivadas en caldo selenito fueron sembradas en medios sólidos para el estudio y caracterización posterior de las colonias, y se procedió de la misma forma que en el primer aislamiento. En el presente trabajo solo se analizaron las bacterias pertenecientes a la flora intestinal no productoras de diarrea, supuestamente, en condiciones normales.

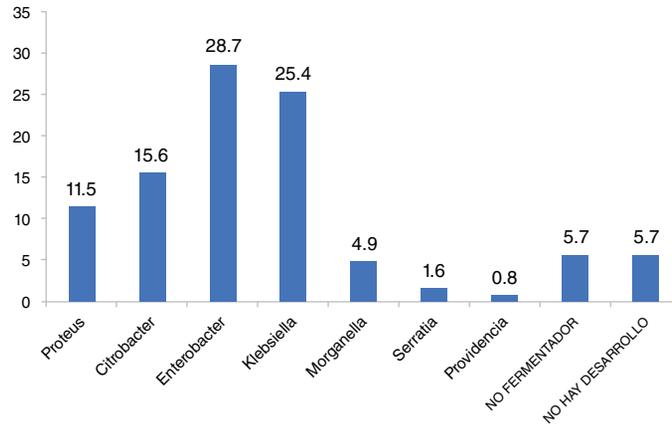
### ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

Los análisis de los datos no paramétricos se efectuaron con el programa estadístico SPS 21 y Microsoft Excel. Se utilizaron las variables como género de pacientes, edad, servicios de donde provenían las muestras, sexo del paciente y género bacteriano.

## RESULTADOS

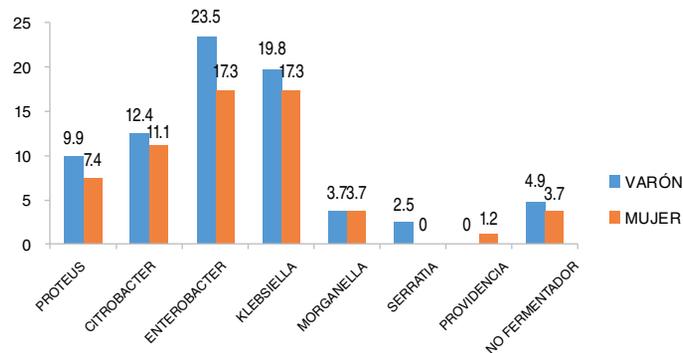
De 315 muestras captadas en 81 (25,70%) se pudo aislar bacterias diferentes a *Shigella*, *Salmonella*, *E. coli* y *Yersenia*, y que pertenecen al microbioma intestinal.

Los grupos etarios más afectados fueron entre los 0-5 años y mayores de 31 años en primer y segundo lugar, respectivamente. Los servicios de Pediatría y Emergencia en niños menores de 2 son las que reportaron mayor prevalencia en el aislamiento de bacterias identificando a *Enterobacter* y *Klebsiella* como las de mayor aislamiento (figura 1).



**FIGURA 1.** SE OBSERVA EN EL CONSOLIDADO DE DATOS (RESUMEN DE LA 1 Y 2 IDENTIFICACIÓN BIOQUÍMICA) EL PORCENTAJE DE BACTERIAS AISLADAS EN PACIENTES CON DIARREA. *ENTEROBACTER* SP. Y *KLEBSIELLA* SP. OCUPAN EL PRIMER Y SEGUNDO LUGAR, RESPECTIVAMENTE.

Con respecto al género, el grupo con mayor aislamiento bacteriano fueron los varones (figura 2).



**FIGURA 2.** AISLAMIENTO BACTERIANO POR SEXO. SE OBSERVÓ QUE LOS VARONES PRESENTAN MAYOR PORCENTAJE DE BACTERIAS AISLADAS. EL PRIMER LUGAR LO OCUPA *ENTEROBACTER* SP.

## DISCUSIÓN

Se ha demostrado que la sobrepoblación de la flora intestinal a nivel duodenal o de yeyuno causa la diarrea persistente. Aunque es menos común que la diarrea aguda, representa un mayor peligro y severidad en especial en niños (1). Las bacterias parte del microbioma pueden causar enfermedad, en especial en personas con inmunosupresión. Un

reporte realizado en Estados Unidos dio a conocer que el microbioma causa hasta el 29% de infecciones nosocomiales, por lo que es un grupo que debe ser tomado en cuenta (18).

Las bacterias del ecosistema intestinal aisladas en el presente estudio, según su prevalencia en número de orden correlativo, fueron *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Citrobacter*, *Proteus*, *Morganella*, *Serratia*

y *Providencia*, relacionadas con cuadros diarreicos.

La patogenia de cada género bacteriano es específica. Por ejemplo, *Klebsiella*, *Enterobacter* y *Serratia* se encuentran asociadas a las bacteriemias y la infección del tracto respiratorio; *Citrobacter* puede causar meningitis, septicemia e infecciones pulmonares en neonatos y niños (18). Un estudio previo mostró la presencia de *Proteus mirabilis* y *Enterobacter aerogenes* en los casos de diarrea aguda. En contraste, se pudo observar la presencia de *P. morganii*, *Enterobacter aerógenes*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter agglomerans*, *Serratia* sp. y *Proteus rettgerii* en los casos de diarrea persistente (1). *Enterobacter sakazakii* está vinculada con la disentería, principalmente en bebés prematuros (21). Además, *Proteus penneri* está asociado con infecciones urinarias, pielonefritis aguda y urolitiasis. *Proteus*, *Morganella* y *Providencia* se aislaron de pacientes con gastroenteritis y cálculos (20). Adicionalmente, la infección por bacilos coliformes y *Proteus* sp. puede ser endógena o exógena, así como la transmisión puede ser directa, como en el caso de una autoinfección, o indirecta, cuando es transmitido por el personal de salud o por equipos y dispositivos (18).

Estudios como estos son la base para la prevención de brotes, especialmente a nivel hospitalario (22). *K. pneumoniae* y *K. oxytoca* son enterobacterias que

presentan dos mecanismos de patogenicidad, uno es de adherencia y el otro es de efecto citotóxico. Estos efectos fueron comprobados en líneas celulares (17). *Klebsiella oxytoca* ha sido involucrada en cuadros diarreicos de pacientes chinos, por lo que se asume la importancia de identificar la patogenicidad de esta bacteria (23).

El presente estudio mostró que las bacterias aisladas con mayor prevalencia fueron *Enterobacter* y *Klebsiella*, siendo los grupos etarios de cero a cinco años y los mayores de treinta uno lo más afectados. También se observó que los varones fueron los más afectados, lo cual coincide con la literatura (24).

Los servicios hospitalarios en donde se presentaron más casos de aislamiento de la flora bacteriana vinculada con diarreas fueron Pediatría y Emergencia, siendo el primero de estos grupos donde se observó la mayor prevalencia debido a sus hábitos higiénicos y el cuidado que con ellos tiene la familia, además de la reciente etapa de maduración del sistema inmunológico (1, 10).

Se concluye que los factores de riesgo a cuadros diarreicos encontrados fueron ser niño varón menor de cinco años y estar hospitalizado en las áreas de Pediatría o Emergencia. Los aislamientos bacterianos más prevalentes relacionado a las diarreas fueron *Klebsiella* sp. y *Enterobacter* sp.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. García Y, Fragoso T, Valdés Dapena M, Sagaro E, Garrin N. Estudio de la microflora intestinal en niños con diarrea aguda y persistente. *Rev Gastroent Perú* 1995; 15 (1): 35-41.
2. Riverón R. Fisiopatología de la diarrea aguda. *Rev Cubana Pediat.* 1999; 71 (2): 86-115.
3. Pineda L, Otero W, Arbeláez V. Diarrea crónica. Diagnóstico y evaluación clínica. *Rev Colombiana Gastroent.* 2004; 19 (1): 115-26.
4. Albarado L, Flores E, Mendoza G, Mundarain T. Asociación de *Klebsiella* spp. con síndrome diarreico agudo en niños de 0 a 2 años de edad. *Salus* 2007; 11 (3): 1-6.
5. Socas M, Alemán R, López A, Castellano A, Martín E, Gómez S. Diarrea del viajero. *An Sist Sanit Navar.* 2006; 29 (1): 127-38.
6. Böhles N, Busch K, Hensel M. Vaccines against human diarrheal pathogens: Current status and perspectives. *Hum Vaccin Immunother.* 2014; 10 (6): 1522-35.
7. Moreira V, López A. Diarreas por antibióticos. *Rev Esp Enferm Digest.* 2006; 98 (7): 550.
8. Ruiz M, Frómata A, García R, Ximelis A, Cobas J. Actualización terapéutica sobre diarrea persistente. *Actualización Terapéutica* 2009; 1 (1): 1-13.
9. Sarkar S, Hossain M, Paul S, Mahmud M, Ahmed S, Ray N, Hoque S, Haq J, Yasmin T. Culture of pathogenic *Campylobacter* species at Mymensingh medical college. *Mymensingh Med J* 2014; 23 (2): 208-12.
10. Mendoza A, Paulsen K, Gorena S. Probióticos en Pediatría. *Rev Boliviana de Pediat.* 2004; 43 (2): 1-6.
11. Puerta García A, Mateos Rodríguez F. Enterobacterias. *Medicine* 2010; 10 (51): 3426-31.
12. Quera R, Quigley E, Madrid A. Sobrecrecimiento bacteriano intestinal. *Rev Méd de Chile* 2005; 133 (1): 1361-70.
13. Trindade E, Souza L, López C, Pereira P. Intestinal microbiota and HIV-1 infection. *J Venom Anim Toxin.* 2007; 13 (2): 431-45.
14. Ossa G, Quilodrán S. Infecciones por bacilos gram-negativos. *Infectología* 2014; 1 (1): 1-6.
15. Polilane I, Collignon A. Biodiagnóstico de las diarreas agudas bacterianas y virales. *Acta Bioquím Clín Latinoam.* 2006; 40 (3): 1-4.
16. Vargas F. Infecciones por enterobacterias y pseudomonas infecciosas. *Infecciosas-7.* 2014. 7(1):1-11

17. Martínez F, Gómez S, Rodríguez P, Paéz J, Urbina G, Ortiz B. *Klebsiella pneumoniae* y *K. oxytoca* aisladas de niños con diarrea: adherencia y citotoxicidad en líneas celulares. Rev Soc Venezolana de Microbiol. 2005; 25 (2): 236-43.
18. Neal M. *Escherichia, Klebsiella, Enterobacter, Serratia, Citrobacter, and Proteus*. Medical Microbiol. 1996; 4 (1): 1-16.
19. Friñas C. Enfermedades infecciosas. Open Course Ware 2014; 1 (1): 1-48.
20. Cantón R, Paz M. *Proteus penneri*. Control Calidad SEIMC. 2014; 1 (1): 2-11.
21. Agencia Gubernamental de Control. Ministerio de Justicia y Seguridad. Buenos Aires. Principales Bacterias causantes de enfermedades transmitidas por alimentos. 2014
22. Gaibani P, Ambretti S, Farruggia P, Bua G, Berlingeri A, Tamburini M, et.al. Outbreak of *Citrobacter freundii* carrying VIM-1 in an Italian Hospital, identified during the carbapenemases screening actions. Int J Infect Dis. 2013; 17 (1): 714-7.
23. Cheng V, Yam W, Tsang L, Yau M, Siu G, Wong S. Epidemiology of *Klebsiella oxytoca*-associated diarrhea detected by Simmons citrate agar supplemented with inositol, tryptophan, and bile salts. J Clin Microbiol. 2012; 50 (5): 1571-9.
24. Tomat M, Remartini P, Salinas B, Materan M, González R, et al. Síndrome disentérico en niños menores de 5 años. Salus 2009; 13 (1): 75-88.

RECIBIDO: 04/09/2017

ACEPTADO: 20/11/2017

AUTOR: JESÚS EDUARDO ROJAS JAIMES

CORRESPONDENCIA: jrojasj@cientifica.edu.pe