

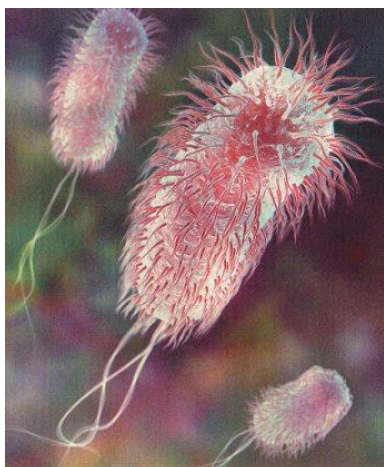


BOLETIN LABORATORIO Y VIGILANCIA AL DIA
INSTITUTO DE SALUD PÚBLICA DE CHILE- DEPARTAMENTO DE ASUNTOS CIENTÍFICOS
N° 10 / 10 de Mayo 2012

1. Introducción: El objetivo de este Boletín es difundir y comentar alertas sanitarias sobre eventos de salud pública recientes de importancia nacional o internacional, según lo especifica el Reglamento Sanitario Internacional. La información proviene de Organismos Internacionales, Instituciones afines al ISP y revisión bibliográfica respecto de materias de salud con efecto actual o potencial en nuestra población.

2. Tema: Vigilancia de *Escherichia coli* diarreogénica

3. Agente causal: La *Escherichia coli* es un bacilo gram negativo comensal de la microbiota intestinal de los animales y el hombre. En su mayoría son cepas inocuas,



necesarias para el funcionamiento del aparato digestivo y producen vitaminas B y K. Sin embargo, algunas tienen un rol patógeno a través de la síntesis de diversas toxinas propias y otras de ellas, obtenidas por intercambio genético, lo que les permite causar daño intestinal o extraintestinal (1). Este microorganismo fue descrito por primera vez por el pediatra alemán Theodore von Escherich en 1885, quien la denominó *Bacterium coli commune* para indicar su aparición universal en el intestino de individuos sanos (1). Posteriormente la taxonomía le adjudicó el nombre del *Escherichia coli* en homenaje a su descubridor. Este bacilo gram negativo es anaerobio facultativo, móvil por

flagelos periféricos (rodean su cuerpo), no esporulado, oxidasa negativo y capaz de fermentar la glucosa y la lactosa. Con frecuencia se utiliza en experimentos de genética y biología molecular. La combinación de letras y números en la denominación de la bacteria se refiere a los marcadores antigénicos específicos que se encuentran en su superficie y la distingue de otros tipos de *Escherichia coli*: estos antígenos son el somático O, correspondiente al lipopolisacárido de la pared celular, el antígeno flagelar H, compuesto por 75 polisacáridos y el antígeno K de superficie. En los últimos 100 años la *Escherichia coli* se ha estudiado en tal medida, que probablemente se ha transformado en la forma de vida libre más perfectamente conocida sobre la tierra (2). Las *Escherichia coli* diarreogénicas (ECD) representan una causa importante de diarrea endémica y epidémica en el mundo (3), y es altamente probable que la frecuencia de estos patógenos sea subestimada, debido a que su detección exige medios específicos

que no se utilizan en la práctica clínica; se clasifican en categorías patogénicas de acuerdo a factores de virulencia específicos, codificados por cromosomas, plásmidos y DNA bacteriófagos. Estos factores de virulencia suministran a cada categoría una capacidad de causar síndrome clínico con características epidemiológicas y patológicas distintas (4). Según sus mecanismos de patogenidad, ECD pueden ser clasificadas en grupos (5,6,7).

- *E. coli* enteropatógenas (ECEP): Es el agente causal predominante de diarrea en niños que viven en países en desarrollo, que interacciona con las células epiteliales produciendo una lesión histopatológica característica conocida como “adherencia/destrucción”. En este caso se observa una adherencia inicial por la producción de fimbria y cambios importantes en el citoesqueleto de la célula hospedadora.
- *E. coli* entero toxigénica (ECET): Se adhiere a la mucosa del intestino delgado, no la invade y elabora toxinas que producen diarrea (se parece a *V. cholerae*). No hay cambios en la mucosa y muy poca inflamación. Produce diarrea no sanguinolenta.
- *E. coli* entero invasiva (ECEI): Invade el epitelio intestinal causando diarrea sanguinolenta en niños y adultos. Es una de las que causa más daño debido a la invasión del epitelio, libera calcio impidiendo la solidificación ósea.
- *E. coli* enterohemorrágica o verotoxigénica (ECEH), red denominada por convención internacional de nomenclatura como: productora de Toxina Shiga (STEC). Las STEC producen una toxina citotóxica para células Vero de cultivo de similar estructura a la toxina producida por *Shigella dysenteriae*. Estas cepas actúan sobre el colon. Sus síntomas son: primero colitis hemorrágica, luego Síndrome Hemolítico Urémico (SHU) (potencialmente con infección al riñón, coma y muerte) y por último: púrpura trombocitopénica trombótica (lo anterior más infección del sistema nervioso central). Esta cepa no fermenta sorbitol, posee un fago donde están codificadas las verotoxinas, también llamadas “Toxinas Shiga”, posee factores de adherencia intestinal que están codificados en el gen *eae*, que codifica una fimbria de adherencia y una proteína denominada intimina, responsable de la unión íntima de la bacteria al enterocito y de la organización de las microvellosidades con producción de las lisinas AE (del inglés, attaching and effacing) (8).
- *E. coli* entero agregativa (ECEA). Estudios realizados sobre la capacidad adherente de la *E. coli* a células Hep-2, demostraron que además de la adherencia localizada, existen otros dos mecanismos: uno difuso que es cuando se unen al citoplasma celular y otro agregativo, en que las bacterias se acumulan formando empalizada sobre la superficie celular. Fenómeno que está condicionado por un plásmido que codifica una enterotoxina estable (TEAE), ello permite al microorganismo sobrevivir por largo tiempo en el intestino y provocar diarreas prolongadas.

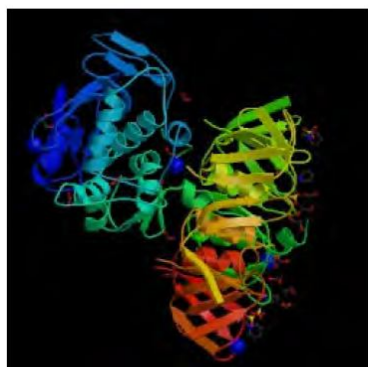


- *E. coli* de adherencia difusa (ECAD), en que se adhiere a la totalidad de la superficie de las células epiteliales y habitualmente causa enfermedad en niños inmunológicamente no desarrollados o desnutridos. No se ha demostrado que cause diarrea en mayores de un año ni en adultos.

Estas categorías de ECD pueden ser identificadas a través de ensayos serotípicos, fenotípicos y moleculares (6).

4. *Escherichia coli* productor de Toxina Shiga (STEC): Es un patógeno emergente transmitido por alimentos, asociado a casos esporádicos y a brotes de diarrea con o sin sangre, colitis hemorrágica y SHU (9).

Imagen tridimensional de la toxina Shiga 2



Adaptado de PDB (Protein Data Bank).

Desde su identificación como patógeno en 1982, el STEC O157:H7 ha ocasionado una serie de brotes, especialmente en Canadá, Japón, Reino Unido y Estados Unidos (10). Los rumiantes en general y el ganado vacuno en particular, han sido señalados como los principales reservorios de STEC, el ganado bovino también es excretor de estos microorganismos (11,12). Distintos alimentos como carne molida y o productos cárneos crudos o insuficientemente cocidos, hamburguesas, embutidos fermentados,

lácteos no pasteurizados, mayonesa, jugos de manzana y vegetales tales como lechuga, pepinos, brotes de soja, alfalfa, etc., han sido identificados como fuente de contaminación en casos esporádicos o brotes asociados a STEC. La bacteria es resistente a los ácidos y puede sobrevivir en alimentos fermentados, de hecho puede sobrevivir latente en sidra a pH 2.0 y en frío durante 10 a 31 días (13). Si bien la mayoría de los estudios estaban orientados a la identificación *E. coli* O157, en la actualidad han aumentado los esfuerzos para detectar los distintos serotipos de STEC no-O157 (como el O104:H4 detectado en el 2011 en Alemania, O26:H11, O103:H2, O111:NM, O121:H19 y O145:NM asociados a enfermedad humana severa) y las dos variantes de toxina Shiga (genes *stx1* y *stx2*) (14). Cabe recordar que el tipo 2 de Toxina Shiga (*stx2*) es el principal responsable de la falla renal en el SHU (15,16).

Otras formas de transmisión son: contaminación cruzada durante la preparación de alimentos, contacto directo con animales y de persona a persona por la ruta fecal-oral. Hay que tener presente que bajas dosis infectivas de estas bacterias (menos de 100 bacterias por gramo de alimentos) pueden causar la enfermedad (14).

Para facilitar la interpretación y caracterización epidemiológica del comportamiento de los distintos serotipos involucrados en STEC, Karmali propuso en el 2003 (17) una clasificación de las cepas STEC en cinco “seropatotipos” con el propósito de esclarecer

las diferencias de virulencia. Pese a sus limitaciones, ha sido reconocida como una herramienta útil para observar la relación de los distintos serotipos con factores de virulencia característicos. **Ver Tablas N° 1 y 2.**

Tabla N° 1. Clasificación de tipos de STEC en seropatotipos

Tabla N° 2. Serotipos y perfiles de factores de virulencia.

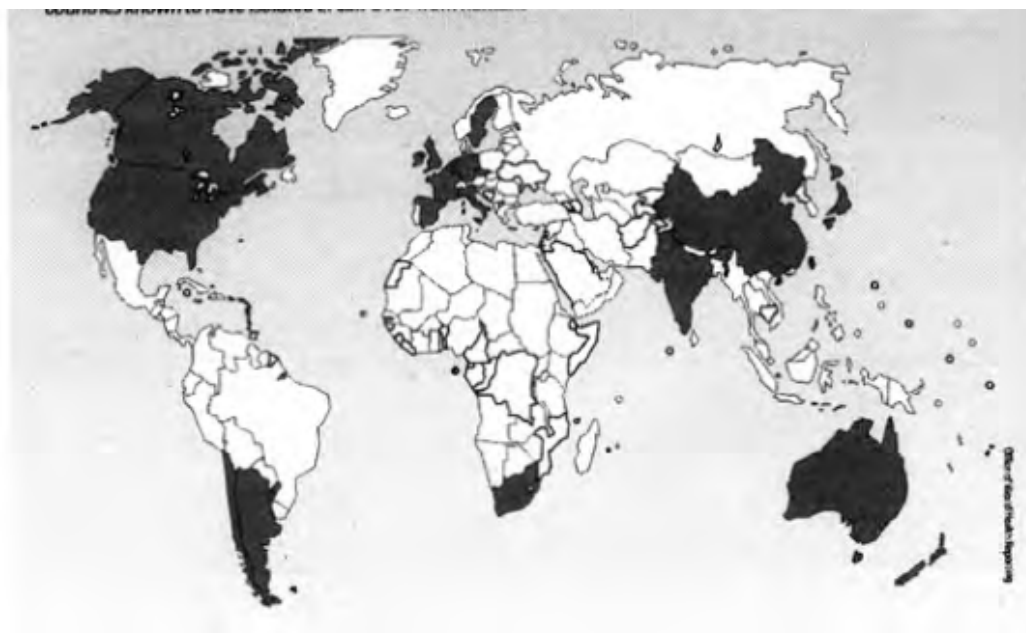
Seropatotipo	Incidencia relativa	Frecuencia en la ocurrencia de brotes	Asociación con enfermedades severas	Serotipos
A	Alta	Común	Si	O157:H7, O157:NM
B	Moderada	No común	Si	O26:H11, O103:H2 O111:NM, O121:H19 O145:NM
C	Baja	Rara	Si	O91:H21, O104:H21, O113:H21; otros
D	Baja	Rara	No	Variados
E	Nula en humanos	Nula	Nula	Variados

Seropatotipo	Serotipo	Huésped	Factores de virulencia					
			stx1	stx2	eae	hlyA	espP	KatP
A	O157:H7	Humano	+	+	+	+	+	+
	O157:NM	Humano	-	+	+	+	+	+
B	O26:H11	Humano	+	-	+	+	+	+
	O103:H2	Humano	+	-	+	+	+	-
	O103:H2	Humano	+	-	+	+	-	-
	O103:H2	Humano	+	-	+	+	-	+
	O111:NM	Humano	+	-	+	-	-	-
	O111:NM	Humano	+	-	+	+	-	-
	O121:H19	Humano	-	+	+	-	+	-
	O145:NM	Humano	-	+	+	+	+	+
E	O145:NM	Humano	+	+	+	+	+	+
	O145:NM	Humano	+	-	+	+	+	+

Fuente: Karmali et al. 2003(17)

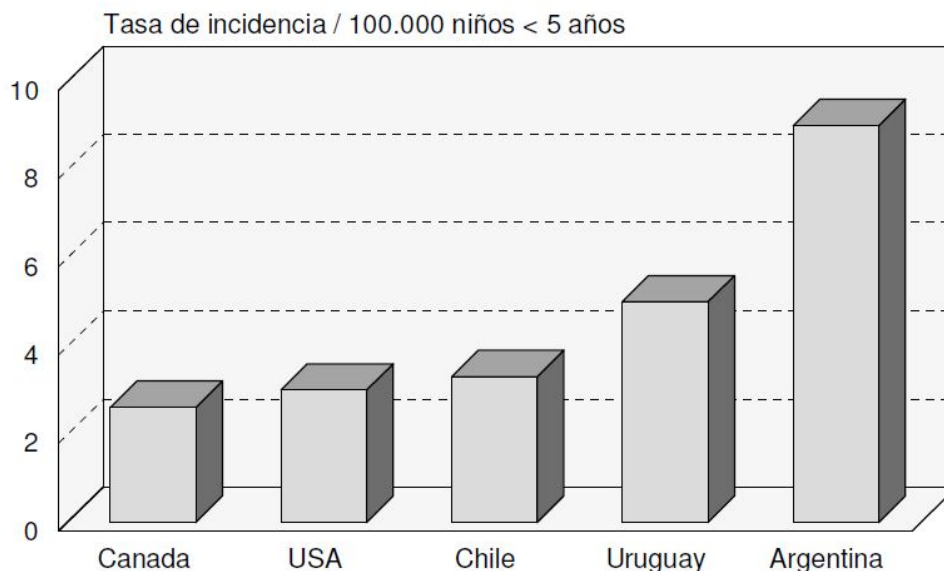
En el Mapa N° 1, se identifican los países que ya han notificado aislamientos de *Escherichia coli* O157 desde muestras de origen humano y en el **Gráfico N° 1** se observa, según datos OPS, la tasa de incidencia de SHU en cinco países de la Región. Se aprecia que la tasa de Argentina es dos veces superior a la de Uruguay y tres veces mayor que la de Canadá, Estados Unidos y Chile (8).

Mapa N° 1. Países que han notificado aislamientos de *Escherichia coli* O157: H7 en muestras humanas.



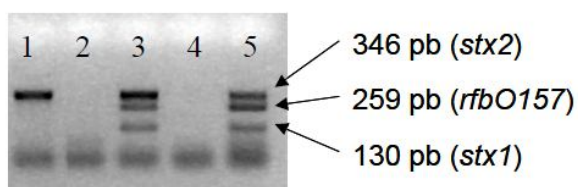
Fuente: OPS/ Instituto Malbrán. Manual de Procedimientos. 2011(8)

Gráfico N° 1. Tasa de incidencia de SHU en países de la Región. 2011



Fuente: OPS/ Instituto Malbrán. Manual de Procedimientos. 2011(8)

5. Estudio de laboratorio: La reacción en cadena de polimerasa (PCR) es un método selectivo y sensible que amplifica regiones específicas de un gen. Para ganar tiempo y materiales, los primers pueden ser combinados en una reacción única (PCR múltiple) que permite detectar varios genes en una sola muestra (18), técnica que ha sido validada por diversos autores (19,20).



Interpretación de PCR: En la línea 1, *E. coli* OR:HNT/*stx2* aislado de carne molida. En línea 2, un control negativo *E. coli* ATCC 25922 sin factores de virulencia. En la línea 3, un control positivo *E. coli* EDL 933 *stx1/stx2/rfbO157*.

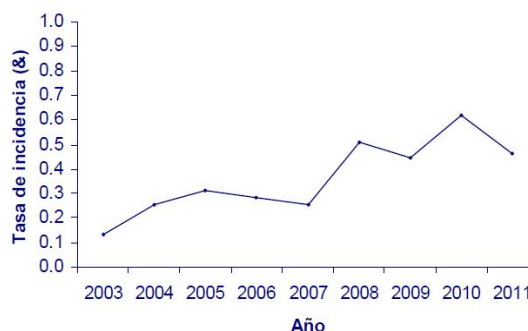
En la línea 4, control de reactivos (mezcla sin templado). En la línea 5: Repetición control positivo. La imagen es propiedad de D. María Cicuta de Gallardo de la Universidad Nacional del Nordeste, Argentina (14).

El DS. N° 158/2004 establece que la STEC es objeto de vigilancia de laboratorio, lo que implica que todos los laboratorios clínicos, tanto público como privados, deben enviar los aislamientos para confirmación microbiológica al Instituto de Salud Pública de Chile. El objetivo es la caracterización del agente causal y la detección oportuna de brotes para la acción sanitaria correspondiente.

6. Situación en Chile:

Según informe emitido por el Departamento de Epidemiología del MINSAL, la tasa de incidencia en los últimos años de infecciones intestinales por STEC ha oscilado entre 0.1 a 0.7 por 1000.000 habitantes. La mayor incidencia se presenta en la Región Metropolitana que concentra el 74% de los casos, seguido por Valparaíso (10%) y la Araucanía (9%). La mayor prevalencia en Chile es de la cepa O157:H7 con casi la mitad de los aislamientos y la cepa O26:H11 con un 24% (21).

Gráfico N° 2 Tasa de incidencia de infección por *E. coli* productor de toxina Shiga (STEC) Chile, 2003-2011. Departamento Epidemiología. Minsal (21)
Incidencia de cepas confirmadas de *E. coli* productora de toxina de Shiga (STEC) Chile, 2003 - 2011.



(&) Tasa por cien mil habitantes.
(*) Información preliminar hasta la SE 13.
Fuente: Instituto de Salud Pública de Chile.

7. Comentarios del editor: El último evento infeccioso en esta materia que ha causado repercusión en Europa y el mundo es el brote debido a *Escherichia coli* enterohemorrágica serogrupo O104:H4, productora de Toxina Shiga 2 (stx2 positiva), intimina (eae) negativa, enterohemolisina (ehxA) negativa. El brote se inicia en Alemania en el mes de mayo del 2011. La cepa era resistente a: Ampicilina, Amoxicilina/Ac.clavulánico, Piperacilina/Sulbactam, Piperazina/Tazobactam, Cefuroxima, Cefuroxima-Axetil, Ac.Nalidíxico, Tetraciclina, rimetoprina/sulfametoxazol. Esta *E. coli* O104:H4, altamente infecciosa y tóxica, provocó el quinto brote más grave conocido por esta enterobacteria (en 1982 fue el primer brote de 47 personas en Estados Unidos, luego uno con 73 afectados en Canadá con 19 muertes, posteriormente uno en Japón en el año 1996 asociado al germen de rábano con 12 muertes, en el 2000 uno en Canadá con 7 muertes). El brote del 2011 se propagó rápidamente de norte a sur de Alemania, alcanzando a 12 países europeos y a Estados Unidos, llegando a 3.593 casos notificados con 849 casos de SHU, de ellos 40 fallecidos en Alemania y 1 en Suecia (22). La mayoría de los casos registrados fuera de Alemania tuvieron como vínculo epidemiológico el viaje a ese país. La mayoría de los pacientes fueron mayores de 20 años (88%) y de sexo femenino (71%). El estudio epidemiológico demostró que los pacientes afectados consumieron significativamente más tomates crudos, pepinos y lechuga que los controles pareados. En los inicios de este brote en Europa, no se incentivaba el uso de antibióticos por primeras experiencias en que su uso agravaba la enfermedad por liberación de

verotoxina. Frente a este dilema, la Sociedad Alemana de Enfermedades Infecciosas (DGI) organizó un panel de expertos, quienes revisaron la información disponible y establecieron su posición. El panel observó que en la mayoría de los casos observados se había empleado cotrimoxazol y fluoroquinolonas, que habían demostrado efecto adverso en animales pero en estudios muy heterogéneos y además se determinó que en los estudios previos, los pacientes habían recibido otros antibióticos previamente al tratamiento hospitalario, por lo que el panel recomendó usar carbapenem como primera elección. Si se precisaba usar antibiótico por otras razones (ej. erradicación de colonización faríngea por meningococo), se consideró seguro el uso de nuevos macrólidos y rifampicina sin considerar el riesgo de agravar el cuadro por STEC. En pacientes con colonización persistente por STEC, enfermedad severa con progresión clínica pero sin indicación de terapia parenteral, se recomendó rifaxime para erradicar el agente del tracto intestinal. Por otra parte, el uso de aminoglicósidos no absorbibles (paromomicina) no se recomendó por información conflictiva en estudios in vitro en relación a la liberación de Toxina Shiga (23).

Es de vital importancia que todas las personas con diarrea, cumplan con prácticas de higiene de manos, especialmente si están en contacto con niños o personas inmunocomprometidas, además de buenas prácticas de higiene en el manejo de alimentos (24). Al ver el **Mapa N°1**, llama la atención que la mayoría de los casos en Sudamérica se concentran en países del cono sur (Chile, Argentina, Uruguay). Ello podría corresponder a diferencias de distribución geográfica como consecuencia directa de la magnitud de los reservorios del agente causal y a la influencia de mecanismos de transmisión específicos presentes en el área que sería necesario investigar (a modo de ejemplo, se ha descrito que la prevalencia de animales engordados con cría intensiva, tienen una portación de STEC superior a los engordados con grano, debido a alteraciones en la flora intestinal normal, el pH y la concentración de ácidos grasos).

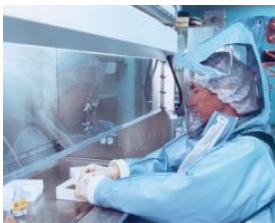
8. Referencias:

1. Raquel Fernández Ferrán, Carlos Rodríguez, Isis Rodríguez, Freddy Gómez. *Escherichia coli* como causa de diarrea infantil. Revista Cubana de Pediatría. V.75 n.3 Ciudad de La Habana jul-sep 2003.
2. Hechevarría P, Savarino ST, Yamamoto T. E coli diarrea. *Barthieri Clin Gastroent* 1993; 7(2): 243-62.
3. Müller D, Hagedorn P, Brast S, Heusipp G, Karch H, Fruth A, Tschäpe H. Identification of unconventional intestinal pathogenic *Escherichia coli* isolates expressing intermediate virulence factor profiles by using a novel single-step multiplex PCR. *Appl Environ Microb*, 2007 May;73(10): 3380-90.
4. Robins-Browne RM, Bordun AM, Tauschek M, Bennet-Wood VR, Russell J, Oppedisano F. *Escherichia coli* and community acquired gastroenteritis, Melbourne, Australia. *Emerg Infect Dis*. 2004 Oct;10(10): 1797-805.

5. Nataro JP, Kaper JB. Diarrheogenic *Escherichia coli*. Clin Microb. Rev. 1998 Jan;11(1):142-201.
6. Teng LJ, Hsueh PR, Liaw SJ, Ho SW, Tsai JC. Genetic detection of diarrheogenic *Escherichia coli* isolated from children with sporadic diarrhea. J Microbiol Immunol Infect. 2004 Dec;27(6): 327-34.
7. Vidal M, Kruger E, Duran C, Lagos R, Levine M, Prado V. Single multiplex PCR assay to identify simultaneously the six categories of diarrheogenic *Escherichia coli* associated with enteric infections. J Clin Microbiol. 2005 Oct;43(10): 5362-5.
8. Manual de Procedimientos. Detección de *Escherichia coli* productor de toxina Shiga O157 y no-O157 en alimentos por separación inmunogenética y PCR. OPS/Instituto Carlos Malbrán. Argentina. 2011.
9. Paton JC, Paton AW. Pathogenesis and diagnosis of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* infections. Clin. Microbiol. Rev. 11:450-479. 1998.
10. Karmali MA, Infection by verocytotoxin-producing *Escherichia coli*. Clinical Microbiological Reviews 2,15-38. 1989.
11. Padola NL, Sanz ME, Blanco JE, Blanco M, Blanco J, Etcheverría AI, Arroyo GH, Usera MA, Parma AE. Serotypes and virulence genes of bovine Shigatoxigenic *Escherichia coli* (STEC) isolated from feedlot in Argentina. Vet Microbiol. 100(1-2): 3-9. 2004.
12. Blanco M, Padola NL, Kruger A, Sanz ME. Virulence genes and intimin types of Shiga-toxin producing *Escherichia coli* isolated from cattle and beef products in Argentina. Int Microb. 7(4): 269-76. 2004.
13. Gómez D, Miliwebsky E, Fernández Pascua A, Baschkier A, Manfredi E. Aislamiento y caracterización de *Escherichia coli* productora de verotoxina de hamburguesas congeladas y quesos blandos. Rev Arg Microbiol 34(2):66-71. 2002.
14. Cicuta ME, Deza N, Ribón WR, Benítez MC. *Escherichia coli* productor de toxina Shiga en medias reses y carnes molidas bovinas. Comunicaciones Científicas y Tecnológicas 2006. Universidad Nacional del Nordeste. Argentina.
15. Brooks JT, Sowers EG, Wells JG, Greene KD, Griffin PM, Hoekstra RM, Strockbine NA. Non-O157 Shiga toxin producing *Escherichia coli* infection in the United States, 1983-2002. J Infect Dis. 192(8):1422-9. 2005.
16. Wen SX, Teel LD, Judge NA, O'Brien AD. A plant-based oral vaccine to protect against systemic intoxication by Shiga toxin type 2. Proc Natl Acad Sci USA. 103(18): 7082-7. 2006.
17. Karmali MA, Marcorenhas M, Shen S, Riebell K, Johnson S, Reid-Smith R, Isaac-Renton J, Clark C. Association of genomic Oisland 122 of *Escherichia coli* EDL933 with verocitotoxin producing *Escherichia coli* serotypes that are linked to epidemic and/or serious disease. J Clin Microbiol. 2003; 41:4930-40.
18. Watterworth L, Topp E, Schraft H, Leung KT. Multiplex PCR-DNA probe assay for detection of pathogenic *Escherichia coli* Journal of Microbiological Methods 60, Issue 1:93-105. 2005.

19. Leotta GA, Chinen I, Epszteyn S, Miliwebsky E, Melamed IC, Motter M, Ferrer M, Marey E, Rivas M. Validation of multiplex OPCR for detection of Shiga toxin-producing *Escherichia coli*. *Rev. Argent Microbiol.* 37(1):1-10. 2005.
20. Pollard DR, Johnson WN, Lior H, Tyler SD, Rozee KR. Rapid and specific detection of verotoxin genes in *Escherichia coli* by the polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol.* 28:540-545. 1990.
21. Informe de Vigilancia de *Escherichia coli* productora de toxina Shiga (STEC). Semana epidemiológica 1 a 52 de 2011. Departamento de Epidemiología, Ministerio de Salud.
22. Moises Morejón García. Brote de *Escherichia coli* O144:H4. Nueva alerta mundial. *Revista de la Escuela de Medicina Dr José Sierra Flores.* Vol 25, N° 2 julio-diciembre 2011.
23. Deutsche Gesellschaft für Infektiologie. 4.06.2011. EHEC infection and antibiotic therapy.
24. Eurosurveillance. Vol 16, N° 22, 2 de junio 2011.

Directora ISP: Dra. María Teresa Valenzuela Bravo



Departamento de Asuntos Científicos