

Infecciones por *Escherichia coli* productora de toxina Shiga O121:H19 en pacientes atendidos en Mar del Plata

- Claudio Marcelo Zotta*^{1a}, Silvina Lavayén^{2a}, Natalia Deza^{3b}, Marcela Cepeda^{4c}, Gisela Zolezzi^{3b}, Analía Rearte^{5c}, Laura Morvay^{3a}, Isabel Chinen^{3b}, Marta Rivas^{3b}

¹ Técnico Químico.

² Licenciada en Química.

³ Bioquímica.

⁴ Enfermera.

⁵ Médica. Magister en Efectividad Clínica.

^a Servicio Bacteriología. Instituto Nacional de Epidemiología "Dr. Juan H. Jara" (INE). Departamento Laboratorio de Diagnóstico. Administración Nacional de Laboratorios e Institutos de Salud "Dr. Carlos G. Malbrán" (ANLIS), Ituzaingó 3520, (7600) Mar del Plata, Argentina.

^b Servicio Fisiopatogenia. Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas (INEI). Administración Nacional de Laboratorios e Institutos de Salud "Dr. Carlos G. Malbrán" (ANLIS), Av. Vélez Sarsfield 563, (1281) Buenos Aires, Argentina.

^c Hospital Interzonal Especializado Materno Infantil (HIEMI) "Sr. Victorio Tetamanti", Castelli 2450 (7600) Mar del Plata, Argentina.

* Autor para correspondencia.

Resumen

Escherichia coli productora de toxina Shiga (STEC) O157:H7 es el serotipo más frecuentemente identificado como agente causal de colitis hemorrágica y síndrome urémico hemolítico (SUH), aunque se han descrito más de 100 serotipos con potencial patogénico similar. El objetivo del trabajo fue describir casos de enfermedad humana asociados a la infección por STEC O121:H19, atendidos en la ciudad de Mar del Plata y establecer la relación genética de los aislamientos mediante técnicas de epidemiología molecular. Se observó un amplio espectro en la severidad clínica de los ocho casos estudiados: dos fueron asintomáticos (contactos de SUH), un paciente tuvo diarrea sanguinolenta, y cinco presentaron SUH. Uno de los pacientes con SUH falleció. Las cepas O121:H19 portadoras del genotipo *stx_{2a}/eae/ehxA* fueron sensibles a los antibióticos ensayados y presentaron por electroforesis en gel de campo pulsado (*Xba*I-PFGE) distintos patrones de macrorestricción, con similitud del 84,25%. El patrón AREXX01.0072, detectado en un SUH y en su contacto, es nuevo en la Base de Datos Nacional de STEC no-O157 de la Argentina. La utilización de métodos estandarizados de detección y tipificación de STEC permite a los laboratorios de referencia monitorear la frecuencia temporal y la distribución geográfica de las cepas circulantes para la prevención y control de estos patógenos asociados a enfermedad humana.

Palabras clave: Síndrome urémico hemolítico; Epidemiología molecular; *Escherichia Coli* productora de toxina Shiga; Serotipo O121:H19; *Xba*I-PFGE

Shiga toxin-producing Escherichia coli O121:H19 infections in patients assisted in Mar del Plata City

Abstract

Shiga toxin-producing Escherichia coli (STEC) O157:H7 is the most frequent serotype identified as causative agent of sporadic cases and outbreaks of diarrhea with or without blood, hemorrhagic colitis and hemolytic uremic syndrome (HUS), although more than 100 serotypes have been described of similar pathogenic potential. The aim of the study was to describe cases of human disease associated with STEC O121:H19 infections, assisted in Mar del Plata City, and to establish the genetic rela-

Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana

Incorporada al Chemical Abstract Service.

Código bibliográfico: ABCLDL.

ISSN 0325-2957 (impresa)

ISSN 1851-6114 (en línea)

ISSN 1852-396X (CD-ROM)

tionship of the isolates by molecular epidemiology techniques. A wide spectrum was observed in the clinical severity of the eight cases studied: two were asymptomatic (contacts of HUS), one patient had bloody diarrhea, and five cases presented HUS. One HUS case died. All STEC O121:H19 strains carried the *stx_{2a}/eae/ehxA* genotype, were sensitive to all antibiotics tested and showed different macrorestriction patterns by pulsed-field gel electrophoresis (*Xba*I-PFGE), with 84.25% similarity. The pattern AREXXK01.0072, detected in a HUS case and in his contact, is new in the Argentine National Database of non-O157 STEC. The use of standardized methods for detection and typing of STEC allows reference laboratories to monitor the temporal frequency and geographical distribution of circulating strains for the prevention and control of these pathogens associated with human diseases.

Keywords: Hemolytic uremic syndrome; Molecular epidemiology; Shiga toxin-producing *Escherichia coli*; Serotype O121:H19; *Xba*I-PFGE.

Infecção por *Escherichia coli* produtora de toxina Shiga O121:H19 em pacientes servidos em Mar del Plata

Resumo

Escherichia coli produtora de toxina Shiga (STEC) O157:H7 é o sorotipo mais frequentemente identificado como o agente causador de colite hemorrágica e síndrome hemolítica urêmica (SHU), embora tenham sido descritas mais de 100 sorotipos com potencial patogênico semelhantes. O objectivo foi o de descrever os casos de doença humana associadas com a infecção por STEC O121:H19, assistido, na cidade de Mar del Plata e estabelecer relação genética de isolados utilizando epidemiologia molecular. Um amplo espectro foi observado na severidade clínica dos oito casos estudados, dois eram assintomáticos (contacto SHU), uma paciente teve diarréia com sangue, e cinco tiveram SHU. Um caso de SHU faleceu. As cepas O121:H19 portaram o genótipo *stx_{2a}/eae/ehxA*, foram sensíveis aos antibióticos testados e apresentaram, por eletroforese em gel de campo pulsado (*Xba*I-PFGE), diferentes padrões de macrorestrição, com similaridade de 84,25%. O padrão AREXXK01.0072 detectado em SHU e em seu contato, é novo para a Base de Dados Nacional de STEC não-O157 na Argentina. O uso de métodos padrão de detecção e tipagem de STEC permite os laboratórios de referência monitorar frequência temporal e distribuição geográfica de estirpes circulantes para a prevenção e controle destes agentes patogênicos associados com a doença humana.

Palavras-chave: Síndrome hemolítica urêmica; Epidemiologia molecular; *Escherichia coli* produtora de toxina Shiga; Sorotipo O121:H19; *Xba*I-PFGE

Introducción

Escherichia coli productora de toxina Shiga (STEC) O157:H7, reconocido patógeno transmitido por alimentos, es el serotipo más frecuentemente identificado como agente causal de casos esporádicos y brotes de diarrea con o sin sangre, colitis hemorrágica (CH) y síndrome urémico hemolítico (SUH) (1). Sin embargo, más de 100 serotipos poseen un potencial patogénico similar. A un subgrupo de serotipos de STEC (O26:H11; O103:H2; O111:NM; O121:H19; O145:NM; O157:H7, entre otros), asociado a enfermedad severa en el hombre, se lo denomina *Escherichia coli* enterohemorrágico (EHEC) (2).

Según datos de los CDC de los EE.UU. (*Centers for Diseases Control and Prevention*) se estima que cada año se producen en los Estados Unidos 265.000 infecciones asociadas a STEC. *E. coli* O157 es responsable de aproximadamente el 36% de estas infecciones, mientras que el resto está asociado a STEC no-O157. Los expertos

en Salud Pública consideran válidas estas estimaciones pues no todas las infecciones por STEC se diagnostican. Por distintas razones muchas personas infectadas no buscan atención médica, muchos de los que la buscan no proporcionan una muestra de materia fecal para las pruebas diagnósticas y muchos laboratorios no realizan ensayos para detectar STEC no-O157. Sin embargo, esta última situación está cambiando pues más laboratorios han comenzado a utilizar pruebas simples, rápidas y sensibles para detectar STEC no-O157 (3).

Entre los serotipos de STEC no-O157, O121:H19 ha estado asociado con la presentación de casos esporádicos y brotes de CH y SUH. Cepas de este serotipo estuvieron implicadas en un brote de CH asociado a aguas de recreación en Connecticut (EE.UU.), en 1999 (4).

En el período 2011–2015, un total de 802 cepas STEC aisladas de infecciones humanas fueron serotipificadas en el Servicio de Fisiopatología del INE-ANLIS “Dr. Carlos G. Malbrán”, Laboratorio Nacional de Refe-

rencia (LNR) para SUH e infecciones asociadas a *E. coli* de la Argentina, con la siguiente frecuencia: O157:H7 (71,1%), O145[H25;H28;NM;NT] (17,1%), O121:H19 (2,9%), O26[H11;NM;NT] (2,2%), y O103[H2;NM] (1,2%), entre otros. Entre las 396 cepas STEC aisladas de casos de SUH, la frecuencia fue: O157:H7 (70,5%), O145[H25;H28;NM;NT] (19,4%), O121:H19 (3,8%), O26[H11;NM;NT] (1,3%), y O103[H2;NM] (0,8%), entre otros (5).

En la subtipificación de STEC O157 y no-O157, la electroforesis en gel de campo pulsado (PFGE) es una de las técnicas más utilizada en investigaciones epidemiológicas de brotes o casos esporádicos para establecer la diversidad genética y la relación clonal entre aislamientos humanos, de alimentos sospechosos o animales (6)(7). La PFGE constituye la base de redes de laboratorio, nacionales e internacionales, para la vigilancia de las enfermedades transmitidas por los alimentos.

En la Argentina desde el año 2000, el SUH es una enfermedad de notificación obligatoria, inmediata e individualizada al Sistema Nacional de Vigilancia de la Salud (SNVS). En el año 2005, el SNVS estableció una estrategia de vigilancia intensificada del SUH, a través de Unidades Centinela (UCSUH), de las que existen 25 en 16 jurisdicciones del país. Esta modalidad permite monitorear tendencias, focalizar actividades de vigilancia y sugerir intervenciones preventivas. Aunque no se puede conocer con precisión la incidencia por no contar con base poblacional, esta estrategia tiene el mérito de alertar sobre situaciones de riesgo y cumple una función clave en la toma de decisiones, ya que la información obtenida permite caracterizar mejor el evento en estudio.

La Red de UCSUH constituye un Subsistema del Sistema Nacional de Vigilancia de la Salud.

La vigilancia molecular de las cepas STEC circulantes se realiza a través de la *PulseNet* de América Latina y El Caribe, como parte de la Red *PulseNet* Internacional (8).

El crecimiento continuo de las Bases de Datos Nacionales (BDN), mediante la utilización de PFGE, permite monitorear los patrones circulantes y su distribución y frecuencia en las diferentes regiones del país. Asimismo, resulta de gran utilidad para el estudio de brotes (9).

Desde el año 1996, el Instituto Nacional de Epidemiología "Dr. Juan H. Jara" (INE)- ANLIS "Dr. Carlos G. Malbrán" de la ciudad de Mar del Plata, comenzó la vigilancia microbiológica de STEC asociado a casos de SUH y diarrea sanguinolenta a nivel local. Continuando con esta línea de investigación, la cual ha incluido trabajos sobre caracterización y diversidad genética de cepas STEC O157:H7 (10)(11) y STEC O145:NM (12)(13), serotipos prevalentes a nivel nacional, y considerando que STEC O121:H19 es el tercer serotipo en orden de frecuencia en la Argentina (5), se realizó el presente estudio referido a aspectos de la infección por este microorganismo de gran impacto en la salud de la población.

El objetivo del presente trabajo fue describir casos de enfermedad humana, asociados a la infección por STEC O121:H19, atendidos en la ciudad de Mar del Plata y establecer la relación genética de los aislamientos mediante técnicas de epidemiología molecular.

Materiales y Métodos

En el marco de la vigilancia epidemiológica de casos de SUH por modalidad de unidades centinela (UC), y sus respectivos contactos convivientes, y en la vigilancia de las diarreas sanguinolentas asociadas a STEC, en el período comprendido entre los años 2005 y 2017, se estudiaron 179 casos de SUH, 245 contactos convivientes respectivos y 113 casos de diarreas sanguinolentas, atendidos en la ciudad de Mar del Plata. En el período mencionado se aislaron ocho cepas STEC O121:H19 de los casos estudiados, las cuales fueron tomadas en su totalidad para el desarrollo de este estudio de tipo observacional y de carácter retrospectivo.

Investigación y antecedentes de los casos estudiados

Los casos de SUH estuvieron internados en el Hospital Interzonal Especializado Materno Infantil (HIEMI) "Sr. Victorio Tetamanti" de la ciudad de Mar del Plata, el cual actúa como UCSUH. Los aislamientos provenientes de muestras de materia fecal obtenidos de estos pacientes fueron derivados al laboratorio del Servicio de Bacteriología del INE "Dr. Juan H. Jara"-ANLIS, para la confirmación de STEC. La información recogida mediante planillas específicas por los distintos componentes de la UCSUH, quedó registrada en un *software* disponible en *internet* que utiliza el SNVS para la notificación obligatoria. De allí se relevaron los datos para este estudio.

Asimismo, se pudo investigar a los contactos convivientes de dos casos de SUH, mediante el relevamiento que se llevó a cabo como acción de control en el marco de la vigilancia epidemiológica del grupo familiar. Las muestras de materia fecal de los contactos fueron recepcionadas en el INE "Dr. Juan H. Jara"-ANLIS para realizar el aislamiento y confirmación de STEC. La información obtenida de los contactos también fue registrada en el soporte informático para notificación del SNVS.

En la vigilancia de las diarreas sanguinolentas asociadas a STEC, el INE "Dr. Juan H. Jara"-ANLIS actúa como laboratorio de Referencia Zonal y recibe aislamientos de distintos centros asistenciales de la ciudad o localidades cercanas para la confirmación, mediante la utilización de técnicas moleculares. En ese marco se recibió el aislamiento de un paciente con diarrea sanguinolenta atendido en un centro asistencial de la ciudad de Mar del Plata, para su confirmación.

Detección y caracterización de STEC

Para la identificación de STEC, las muestras de materia fecal se sembraron en placas de agar MacConkey con sorbitol (Difco Laboratorios, Detroit, MI) que fueron incubadas a 37 °C durante 18 h (14). Se realizó la técnica de reacción en cadena de la polimerasa múltiple (mPCR) de la zona de crecimiento confluyente y de las colonias presuntivas, para detección de los genes *stx*₁, *stx*₂ y *rfb*_{O157} (15). La caracterización genotípica de los marcadores de virulencia accesorios, *eae* (intimina) y *ehxA* (enterohemolisina), se efectuó por PCR, según lo descrito por Ganon *et al.*, y Schmidt *et al.*, respectivamente (16)(17).

Los aislamientos de STEC fueron identificados por pruebas bioquímicas (18) y serotipificados con los antisueros de EHEC polivalentes somáticos, provistos por el Instituto Nacional de Producción de Biológicos-ANLIS “Dr. Carlos G. Malbrán”.

El perfil de sensibilidad de las cepas aisladas se realizó según el método de Kirby-Bauer de difusión en agar de acuerdo con las recomendaciones del CLSI (19). Se ensayaron los siguientes antimicrobianos: ampicilina (30 µg), ampicilina (10 µg), ciprofloxacina (5 µg), colistina (10 µg), cloranfenicol (30 µg), fosfomicina (200 µg), gentamicina (10 µg), nitrofurantoína (300 µg), ácido nalidixico (30 µg), tetraciclina (30 µg) y trimetoprima-sulfametoxazol (1,25/23,75 µg) (Oxoid Ltd., Basingstoke, Hampshire, Reino Unido),

Posteriormente, las cepas STEC aisladas fueron derivadas al Laboratorio Nacional de Referencia para ser subtipificadas por PFGE con la enzima de restricción *Xba*I, según el protocolo estandarizado por el CDC, Atlanta, GA, EE.UU., con algunas modificaciones (20). La relación clonal entre los aislamientos se estableció con el software BioNumerics versión 5.1 (*Applied Maths, Kortrijk, Belgium*).

Los datos del aislamiento de STEC de los contactos se relacionaron con los datos del caso de SUH correspondiente.

Consideraciones éticas

El presente trabajo se desarrolló teniendo en cuenta los aspectos éticos fundamentales para la protección de la salud de los seres humanos según lo establecido por la Declaración de Helsinki (21), y por los requisitos que figuran en la Resolución 1480/2011 “Guía para Investigaciones con Seres Humanos”. Dado el carácter retrospectivo de esta investigación se consideró impracticable la obtención de la totalidad de los consentimientos informados por parte de los progenitores de los niños en los cuales se detectó STEC O121:H19, por lo cual se solicitó al Comité de Ética en Investigación del INE “Dr. Juan H. Jara”-ANLIS al momento de presentar el protocolo a su consideración para el dictamen de su aprobación, la exención a la obtención del consentimiento informado

de las personas incluidas en el estudio. La solicitud se fundamentó en las excepciones aplicables a investigaciones observacionales establecidas en la Resolución 1480/2011 “Guía para Investigaciones con Seres Humanos”.

No obstante, se mantuvo la confidencialidad de la información obtenida, se codificaron las muestras y se preservaron los datos personales (sensibles y privados) de las personas seleccionadas en este estudio según la Ley N° 25.326 sobre Protección de Datos Personales. Asimismo, se consideró que el trabajo poseía valor científico que podría aportar conocimiento en beneficio de la comunidad. Se elaboró el mismo con fines de comunicación científica.

Resultados

Descripción de los casos estudiados

Del total de cepas STEC O121:H19 aisladas, cinco provenían de pacientes con SUH, dos cepas de contactos asintomáticos respectivos y otra cepa de un paciente con diarrea sanguinolenta.

Los casos de SUH considerados en este estudio y que estuvieron internados en el HIEMI de Mar del Plata fueron los siguientes: SUH#1, niña de 7 meses internada en mayo de 2005; SUH#2, niño de 7 meses internado en octubre de 2008; SUH#3, niño de 44 meses internado en julio de 2013; SUH#4, niña de 8 meses internada en noviembre de 2013; y SUH#5, niño de 20 meses internado en febrero de 2017. Los casos provenían de Mar del Plata, Valeria del Mar, Necochea, Azul y Maipú, ciudades ubicadas en el sudeste, centro y centro-este de la Provincia de Buenos Aires.

Como antecedentes previos a la internación, el 80,0% (4/5) de los pacientes con SUH presentó disminución de la diuresis, diarrea acuosa y dolor abdominal, el 60,0% (3/5) presentó vómitos, el 40,0% (2/5) presentó diarrea sanguinolenta, y el 20,0% (1/5) fiebre.

Los resultados de las pruebas del laboratorio clínico al momento de la internación de los pacientes con SUH, y los datos de diálisis peritoneal y transfusiones sanguíneas como tratamiento instaurado durante la internación de los mismos se presentan en la Tabla I.

Se registró un solo deceso durante la internación (SUH#3), mientras que el resto de los pacientes evolucionó favorablemente hasta alcanzar el alta médica con posteriores controles nefrológicos.

De acuerdo con los datos epidemiológicos que pudieron ser relevados, tres de los casos de SUH contaban con los servicios básicos de abastecimiento de agua corriente dentro del domicilio, recolección domiciliar de residuos sólidos y eliminación de residuos líquidos mediante red cloacal.

Se realizó el estudio de contactos convivientes mediante el relevamiento que se llevó a cabo como acción

Tabla I. Parámetros de laboratorio clínico y tratamiento instaurado al momento de la internación de los casos de SUH Mar del Plata, 2005-2017.

Caso N°					
Datos	SUH#1	SUH#2	SUH#3	SUH#4	SUH#5
Hematocrito (%)	17	24	23	23	35
Hemoglobina (g/dL)	-	7,3	13,4	7,8	13,5
CO ₃ H ⁻ en sangre	15	12,8	11,9	13	112
pH en sangre	7,28	7,35	7,17	7,35	7,27
Leucocitos (/mm ³)	8.100	16.560	21.600	16.600	39.300
Rto. plaquetas (/mm ³)	120.000	486.000	122.000	40.000	63.000
Urea (mg/dL)	2,0	131,0	17,0	0,56	58,0
Sodio (mEq/L)	125,0	139,0	123,0	136,0	134,0
Potasio (mEq/L)	4,1	4,8	6,5	3,7	3,5
Creatinina (mg/dL)	1,34	1,80	3,30	0,76	8,80
Días de diálisis	6	7	4	5	4
N° de transfusiones	2	1	2	2	3
Días de internación	8	8	4	12	20

de control en el marco de la vigilancia epidemiológica del grupo familiar en dos casos de SUH: SUH#2 (un total de siete contactos convivientes relevados - madre, padre, hermanas, primos y abuela), en octubre de 2008; y SUH#5 (un total de tres contactos convivientes relevados - madre, padre y hermana), en febrero de 2017. Todos los contactos estudiados fueron asintomáticos.

El caso de diarrea sanguinolenta correspondió a una paciente de sexo femenino, de 19 meses, residente de la ciudad de Mar del Plata y que había sido atendida en el mes de marzo de 2008 en un centro asistencial de dicha ciudad. No se registró la notificación de evolución a SUH de esta paciente.

Análisis de los aislados de *E. Coli* STEC O121:H19

Los aislados de *E. Coli* O121:H19 obtenidos de los casos de SUH estudiados, de sus contactos y del caso de diarrea sanguinolenta fueron portadores de los genes *stx_{2a}*, *eae* y *ehxA*, fermentadores de sorbitol y sensibles a todos los antimicrobianos ensayados.

En el relevamiento epidemiológico de los grupos familiares, se aisló *E. coli* O121:H19 en un contacto del caso SUH#2 identificado como CA#2 (primo de 36 meses de edad) y en un contacto del caso SUH#5 identificado como CA#5 (hermana de 48 meses de edad). Ambas cepas portaban el mismo perfil de virulencia que el caso índice.

No se aisló STEC en las muestras estudiadas del resto de los contactos.

Por *Xba*I-PFGE, en las ocho cepas estudiadas se establecieron 6 patrones de macrorrestricción diferentes con un 84,25% de similitud. Las cepas aisladas del caso

SUH#2 y su contacto CA#2 presentaron el mismo patrón de macrorrestricción, denominado AREXXKX01.0011. Asimismo, las cepas del caso SUH#5 y su contacto CA#5 presentaron el mismo patrón de macrorrestricción AREXXKX01.0072, con 100% de similitud, según criterio de Tenover *et al* (22) (Figura 1).

Discusión y Conclusiones

Se observó un amplio espectro en la severidad clínica de los casos estudiados con infección asociada a *E. coli* O121:H19, desde una portación asintomática (contactos convivientes), hasta un paciente que presentó sólo diarrea sanguinolenta y casos que evolucionaron a SUH [con parámetros de laboratorio clínico alterados compatibles con el diagnóstico clínico de la enfermedad (23)], y se registró el fallecimiento de un paciente entre estos últimos. Los pacientes con SUH requirieron transfusión sanguínea y diálisis peritoneal como parte del tratamiento de soporte durante su internación.

Todos los pacientes con infección asociada a STEC O121 fueron menores de 5 años de edad (promedio de edad=23,62 meses±16,88 meses), y si bien fueron atendidos en la ciudad de Mar del Plata, los mismos provenían no sólo de dicha ciudad, sino también de Valeria del Mar, Azul, Necochea y Maipú, lo cual indica la circulación de este serotipo de STEC en la región.

La información registrada en el SNVS (UCSUH) para los casos de SUH referida a la posible exposición a alimentos contaminados no aportó información con-

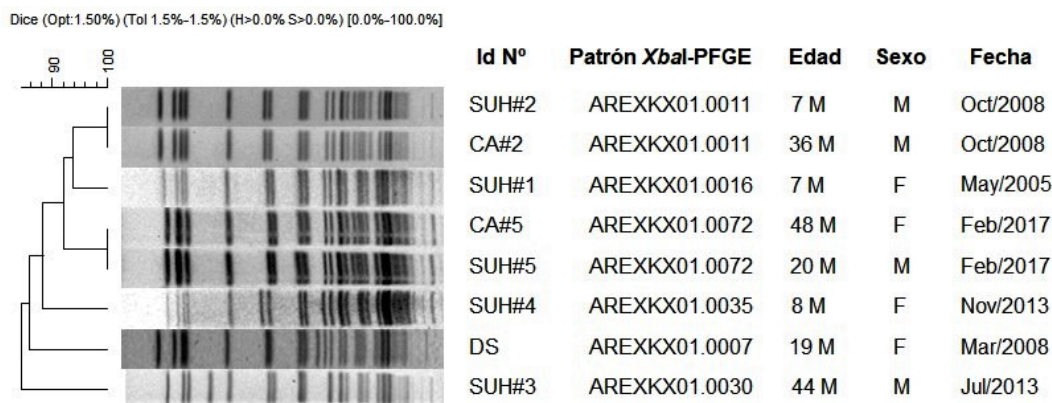


Figura 1. Dendrograma de cepas STEC O121:H19 *stx2a/ae/ehxA* aisladas de casos de SUH, sus contactos convivientes y diarrea sanguinolenta (DS), en Mar del Plata, 2005-2017.

cluyente para identificar a alguno de los mismos como fuente de infección.

En el presente trabajo, todos los aislamientos de *E. coli* O121:H19 eran portadores del gen *stx2a* que codifica para la producción de Stx2a. La capacidad patogénica de las cepas STEC se relaciona con el tipo de toxina Shiga que producen y con la presencia de otros factores de virulencia adicionales (24). Cabe destacar que de los dos tipos principales de toxina Shiga, Stx2 es más citotóxica que Stx1 en cultivos celulares y modelos animales (25-27), y las observaciones epidemiológicas han revelado que el riesgo de desarrollar SUH después de una infección por STEC aumenta si el aislamiento produce Stx2 (28). La diversidad en la expresión de Stx entre las cepas de STEC podría explicar las diferencias en virulencia. Neupane *et al* (29) informaron una sobreexpresión de Stx2 en cepas de *E. coli* O157:H7 asociadas con enfermedad humana grave. Aunque es importante para la virulencia, Stx2 no parece ser el único factor de virulencia que influya significativamente en la evolución a SUH (30). La comparación de varios brotes asociados a *E. coli* O157:H7 productora de Stx2, mostró que la tasa de SUH puede variar desde menos del 1% al 26% (31). Esto indica que otros factores de las cepas de *E. coli* O157:H7 que portan *stx2* están involucrados en la presentación clínica de las enfermedades asociadas.

Todas las cepas STEC estudiadas en el presente trabajo fueron positivas para secuencias relacionadas con los genes *ae* y *ehxA* por PCR. Numerosos estudios han demostrado la asociación entre *ae* y la capacidad de las cepas STEC para causar enfermedades graves (16) (27) (32) (33). La presencia del gen *ehxA* también se asocia fuertemente con la patogenia de STEC (17) (34) (35).

Los aislamientos estudiados presentaron el perfil genético *stx2a/ae/ehxA*, similar al descripto para otras cepas de *E. coli* O121:H19 aisladas de niños con diarrea sanguinolenta y SUH, atendidos en un hospital pediá-

trico de la ciudad de La Plata (Argentina) en el período 2006-2012 (36).

Por *XbaI*-PFGE, las cepas presentaron gran diversidad genética. En dos casos, SUH#2 y SUH#5, y sus contactos convivientes asintomáticos (CA#2, y CA#5) se pudo establecer que excretaban cepas STEC O121:H19, productoras de Stx2a con idénticos patrones de *XbaI*-PFGE (AREXKX01.0011 y AREXKX01.0072, respectivamente) con 100% de similitud. El patrón AREXKX01.0072 es nuevo en la Base de Datos de STEC no-O157 del LNR de la Argentina.

Estos resultados demuestran la importancia de la utilización de técnicas de epidemiología molecular en tiempo real para mejorar la vigilancia de cepas STEC O157 y no-O157. La aplicación de *XbaI*-PFGE resulta fundamental en la vigilancia de los clones circulantes, otorga especificidad, y consolida los resultados de laboratorio con los epidemiológicos para la implementación de estrategias de prevención y control adecuadas. Como ejemplo, en 2016, *PulseNet* Canadá identificó un grupo de aislamientos de *E. coli* no-O157 con patrones de macrorestricción nuevos en su Base de Datos. Iniciada la investigación para detectar el origen del brote de gastroenteritis e identificados los casos, los aislamientos clínicos se tipificaron como *E. coli* O121:H19 que portaban genes productores de Stx2, mediante pruebas de toxina *in silico* y que presentaron patrones de PFGE relacionados (37).

A partir de los resultados obtenidos en el presente trabajo, se recomienda intensificar la vigilancia epidemiológica a fin de estudiar la transmisión de *E. coli* O121:H19, *stx2a*, para constatar la potencial ocurrencia de otros casos de infección sintomáticos y asintomáticos a nivel nacional. Si bien este serotipo es el tercero en prevalencia en las infecciones por STEC en la Argentina (5), comparte un potencial patogénico similar con las cepas STEC O157:H7 detectadas con mayor frecuencia de circulación.

Distintos trabajos reportaron frecuencias de aislamiento de *E. coli* O121:H19 similares. En un estudio de vigilancia de cepas STEC en enfermedad diarreica realizado por Klein *et al* (38), O121:H19 fue el tercer serotipo STEC detectado con mayor frecuencia. Welinder-Olson *et al* (39) caracterizaron 67 cepas STEC de pacientes suecos aisladas entre 1997 y 1999. Los autores reportaron que alrededor de un tercio de las cepas eran no-O157, y que de éstas, el 17% eran O121:H19. Por su parte, Gould *et al* (40) informaron que los seis serogrupos de STEC no-O157 más frecuentes en enfermedad humana en EE.UU. fueron: O26 (26%), O103 (22%), O111 (19%), O121 (6%), O45 (5%) y O145 (4%). Oderiz *et al* (36) comunicaron que, de las 77 cepas STEC recuperadas de los casos estudiados, este serotipo resultó el tercero en términos de frecuencia de aislamiento (3,9%).

Como ya se ha establecido, resulta primordial también que los contactos que conviven con un caso reciente de SUH o de infección por STEC extremen las medidas de higiene personal, y en la preparación de alimentos, para prevenir la aparición de casos secundarios sobre todo en aquellos integrantes de la familia que se encuentran en el grupo de edad de riesgo (41).

Otro factor esencial para el control de la transmisión de STEC O157 y no-O157 lo constituye la vigilancia y fiscalización alimentaria para detectar la presencia de estos patógenos.

El Departamento de Agricultura de EE.UU. y el Servicio de Seguridad Alimentaria e Inspección (USDA/FSIS, *United States Department of Agriculture Food Safety and Inspection Service*) en el año 2012 declaró a los seis serogrupos de STEC no-O157 más frecuentes en enfermedad humana, conocidos como los “*Big Six*” (O26, O45, O103, O111, O121 y O145) como adulterantes en carnes no intactas (42).

En la Argentina, el Código Alimentario Argentino estableció en su artículo 255 – (Resolución Conjunta SPReI y SAV N° 4 - E/2017) que la carne picada fresca debía responder dentro de las especificaciones microbiológicas y como criterio obligatorio a la ausencia no sólo de *E. coli* O157:H7/NM sino también la de *E. coli* no-O157 de los serogrupos: O145, O121, O26, O111 y O103 positivos para los genes *stx* y *eae* (43).

Es por ello que dados los riesgos que presentan estos microorganismos para la salud de la población, y que aún no existe inmunización o tratamiento que impida el desarrollo de la patogénesis del SUH (44), se considera muy importante continuar alertando en forma sostenida a la comunidad a través de actividades de educación para la salud sobre sus vías y vehículos de transmisión y trabajar sobre las estrategias de prevención, fundamentalmente en los controles a lo largo de la cadena de producción de los alimentos, de manera de lograr una disminución de las infecciones por STEC.

FINANCIACIÓN

El presente estudio fue realizado con recursos propios de cada institución pública participante y que fueron incluidos en el presupuesto anual ordinario de las mismas.

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran que no existe ningún conflicto de interés.

CORRESPONDENCIA

Tco. Quím. CLAUDIO MARCELO ZOTTA
Instituto Nacional de Epidemiología “Dr. Juan H. Jara”
Administración Nacional de Laboratorios e Institutos de Salud
“Dr. Carlos G. Malbrán”. Ministerio de Salud de la Nación.
Correo electrónico: marcelozotta@hotmail.com / czotta@anlis.gov.ar

Referencias bibliográficas

1. Mead PS, Griffin PM. *Escherichia coli* O157:H7. Lancet 1998; 352: 1207-12.
2. Griffin PM, Tauxe RV. The epidemiology of infections caused by *Escherichia coli* O157:H7, other enterohemorrhagic *E. coli*, and the associated hemolytic uremic syndrome. Epidemiol Rev 1991; 13: 60-98.
3. Centers for Disease Control and Prevention. Shiga toxin-producing *E. coli* (STEC): How common are STEC infection? Disponible en: <https://www.cdc.gov/ecoli/general/index.html>. (Fecha de acceso: 24 de junio de 2018).
4. McCarthy TA, Barrett NL, Hadler JL, Salsbury B, Howard RT, Dingman DW, *et al*. Hemolytic-uremic syndrome and *Escherichia coli* O121 at a lake in Connecticut. Pediatrics 2001; 108: E59.
5. Rivas M. Epidemiología del Síndrome Urémico Hemolítico en Argentina. Situación actual e innovaciones diagnósticas. Jornada de Síndrome Urémico Hemolítico. Homenaje al Dr. Carlos A. Gianantonio. Buenos Aires, Argentina. 19 de agosto de 2016: Disponible en: http://www.sap.org.ar/uploads/archivos/files_dra-rivas-epidemiologia-del-sindrome-uremico-hemolitico-en-argentina-situacion-actual-e-innovaciones-diagnosticas_1494446234.pdf. (Fecha de acceso: 24 de junio de 2018).
6. Bell BP, Goldoft M, Griffin PM, Davis MA, Gordon DC, Tarr PI, *et al*. A multistate outbreak of *Escherichia coli* O157:H7-associated bloody diarrhea and haemolytic uremic syndrome from hamburgers. JAMA 1994; 272:1349-53.
7. Centers for Disease Control and Prevention. *Escherichia coli* O157:H7 infections associated with eating a nationally distributed commercial brand of frozen ground beef patties and burgers—Colorado, 1997. MMWR Morbid Mortal Wkly Rep 1997; 46: 777-8.
8. Rivas M, Miliwebsky E, Deza N. Manual de Procedi-

- mientos. Diagnóstico y caracterización de *Escherichia coli* O157 productora de toxina Shiga a partir de especímenes clínicos. Buenos Aires: INE-ANLIS "Dr. Carlos G. Malbrán"; 2007. Disponible en: <http://fos.panalimentos.org/LinkClick.aspx?fileticket=uqBcCSPORk4%3D&tabid=783&mid=1713&language=en-US>. (Fecha de acceso: 24 de junio de 2018).
9. Campos J, Brengi S, Viñas MR, Zolezzi G, Asato V, Carbonari C, *et al.* Aplicación de PFGE a la vigilancia de los patógenos de transmisión alimentaria. Argentina, 2010-2011. 9na Reunión *PulseNet* América Latina y Caribe. Chile. Octubre 2011. Disponible en: <http://fos.panalimentos.org/LinkClick.aspx?fileticket=doxS21ys8HM%3D&tabid=120&mid=1864&language=es-ES>. (Fecha de acceso: 24 de junio de 2018).
 10. Gomez D, Chinen I, Zotta CM, Carbonari C, Lavayen S, Miliwebsky E, *et al.* Genetic diversity of *Escherichia coli* O157:H7 strains isolated in different cities along the coast of Buenos Aires. 7th International Symposium on Shiga Toxin (Verocytotoxin)-Producing *Escherichia coli* Infections. Buenos Aires, Argentina. Mayo de 2009. Disponible en: <http://www.ine.gov.ar/documentos/publicaciones/004.pdf>. (Fecha de acceso: 24 de junio de 2018).
 11. Zotta CM, Carbonari C, Gómez D, Deza N, Lavayén S, Miliwebsky E, *et al.* Nuevo patrón genético de *Escherichia coli* O157:H7 biotipo B en Argentina. *Acta Bioquím Clín Latinoam* 2009; 43: 589-91.
 12. Gómez D, Chinen I, Zotta CM, Carbonari C, Lavayén S, Monzani V, *et al.* Aislamiento de *Escherichia coli* O145:NM en casos de síndrome urémico hemolítico. *Acta Bioquím Clín Latinoam* 2010; 44: 71-4.
 13. Zotta CM, Chinen I, Lavayén S, Carbonari C, Monzani V, Morvay L, *et al.* Diversidad genética de cepas de *Escherichia coli* O145:NM/H27 aisladas en la provincia de Buenos Aires. *Acta Bioquím Clín Latinoam* 2014; 48: 81-5.
 14. Leotta GA, Deza N, Origlia J, Toma C, Chinen I, Miliwebsky E, *et al.* Detection and characterization of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in captive wild mammals. *Vet Microbiol* 2006; 118: 151-7.
 15. World Health Organization. Consultation on prevention and control of enterohemorrhagic (EHEC) infections. In: World Health Organization. Proceedings of the Report of a WHO. Consultation, Geneva, Switzerland. 1997.
 16. Gannon VP, Rashed M, Kin RK, Thomas EJ. Detection and characterization of the *eae* gene of Shiga like toxin-producing *Escherichia coli* using polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol* 1993; 31: 1268-74.
 17. Schmidt H, Beutin L, Karch H. Molecular analysis of the plasmid-encoded hemolysin of *Escherichia coli* O157:H7 strain EDL 933. *Infect Immun* 1995; 63: 1055-61.
 18. Ewing WH. Differentiation of *Enterobacteriaceae* by biochemical reactions. In: Ewing WH Editor. *Edwards and Ewing's Identification of Enterobacteriaceae*, 4th edition. New York: Elsevier; 1986, Chapter 4, 47-72.
 19. Clinical and Laboratory Standards Institute/NCCLS document M100-S15 (ISBN 1-56238-556-9). Clinical and Laboratory Standards Institute, 940 West Valley Road. Suite 1400, Wayne, Pennsylvania, USA. 2005.
 20. Foodborne and Diarrheal Diseases Branch, Division of Bacterial and Mycotic Diseases, National Center for Infectious Diseases, Centers for Disease Control and Prevention, Standardized Molecular Subtyping of Foodborne Bacterial Pathogens by Pulsed-Field Gel Electrophoresis. A Training Manual, Atlanta, GA, U.S.A.; 1998.
 21. Declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial. Principios éticos para las investigaciones médicas en seres vivos. Asamblea Médica Mundial; Fortaleza, Brasil; 2013. Disponible en: <http://www.isciii.es/ISCIII/es/contenidos/fd-investigacion/fd-evaluacion/fd-evaluacion-etica-investigacion/Declaracion-Helsinki-2013-Esp.pdf>. (Fecha de acceso: 24 de junio de 2018).
 22. Tenover FC, Arbeit RD, Goering RV, Mickelsen PA, Murray BE, Persing DH. Interpreting chromosomal DNA restriction patterns produced by pulsed-field gel electrophoresis: criteria for bacterial strain typing. *J Clin Microbiol* 1995; 33: 2233-9.
 23. Monteverde ML. Síndrome urémico hemolítico. *Rev Nefrol Dial Transpl* 2014; 34: 27-41.
 24. Rivas M, Miliwebsky E, Chinen I, Deza N, Leotta GA. Epidemiología del síndrome urémico hemolítico en Argentina. Diagnóstico del agente etiológico, reservorios y vías de transmisión. *Medicina (Buenos Aires)* 2006; 66 (Supl. III): 27-32.
 25. Louise CB, Obrig TG. Specific interaction of *Escherichia coli* O157:H7-derived Shiga-like toxin II with human renal endothelial cells. *J Infect Dis* 1995; 172: 1397-401.
 26. Siegler RL, Obrig TG, Pysher TJ, Tesh VL, Denkers ND, Taylor FB. Response to Shiga toxin 1 and 2 in a baboon model of hemolytic uremic syndrome. *Pediatr Nephrol* 2003; 18: 92-6.
 27. Tesh VL, Burris JA, Owens JW, Gordon VM, Wadolkowski EA, O'Brien AD, *et al.* Comparison of the relative toxicities of Shiga-like toxins type I and type II for mice. *Infect Immun* 1993; 61: 3392-402.
 28. Boerlin P, McEwen SA, Boerlin-Petzold F, Wilson JB, Johnson RP, Gyles CL. Association between virulence factors of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* and disease in humans. *J Clin Microbiol* 1999; 37: 497-503.
 29. Neupane M, Abu-Ali GS, Mitra A, Lacher DW, Manning SD, Riordan JT. Shiga toxin 2 overexpression in *Escherichia coli* O157:H7 strains associated with severe human disease. *Microb Pathog* 2011; 51: 466-70.
 30. Kulasekara BR, Jacobs M, Zhou Y, Wu Z, Sims E, Saenphimmachak Ch *et al.* Analysis of the genome of the *Escherichia coli* O157:H7 2006 spinach-associated outbreak isolate indicates candidate genes that may enhance virulence. *Infect Immun* 2009; 77: 3713-21.
 31. Karch H, Bielaszewska M, Bitzan M, Schmidt H. Epidemiology and diagnosis of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* infections. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1999; 34: 229-43.
 32. Barrett TJ, Kaper JB, Jerse AB, Wachsmuth IK. Virulence factors in Shiga-like toxin-producing *Escherichia*

- coli* isolated from humans and animals. J Infect Dis 1992; 165: 979-80.
33. Piérard D, Stevens D, Moriau L, Lior H, Lauwers S. Isolation and virulence factors of verocytotoxin-producing *Escherichia coli* in human stool samples. Clin Microbiol Infect 1997; 3: 531-40.
 34. Varela G, Chinen I, Gadea P, Miliwebsky E, Mota MI, González S, *et al.* Detección y caracterización de *Escherichia coli* productora de toxina Shiga a partir de casos clínicos y de alimentos en Uruguay. Rev Argent Microbiol 2008; 40: 93-100.
 35. Beutin L, Montenegro MA, Ørskov I, Ørskov F, Prada J, Zimmermann S, *et al.* Close association of verotoxin (Shiga-like toxin) production with enterohemolysin production in strains of *Escherichia coli*. J Clin Microbiol 1989; 27: 2559-64.
 36. Oderiz S, Leotta G, Galli L. Detección y caracterización de *Escherichia coli* productora de toxina Shiga en niños atendidos en un hospital pediátrico interzonal de la ciudad de La Plata. Rev Argent Microbiol 2018. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2017.08.008>
 37. Morton V, Cheng JM, Sharma D, Kearney A. Notes from the field: an outbreak of Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* O121 infections associated with flour — Canadá, 2016–2017. MMWR Morbid Mortal Wkly Rep 2017; 66 : 705-6.
 38. Klein EJ, Stapp JR, Clausen CR, Boster DR, Wells JG, Qin X, *et al.* Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in children with diarrhea: a prospective point-of-care study. J Pediatr 2002; 141: 172-7.
 39. Welinder-Olsson C, Badenfors M, Cheasty T, Kjellin E, Kaiser B. Genetic profiling of enterohemorrhagic *Escherichia coli* strains in relation to clonality and clinical signs of infection. J Clin Microbiol 2002; 40: 959-64.
 40. Gould LH, Mody RK, Ong KL, Clogher P, Cronquist AB, Garman KN, *et al.* Emerging Infections Program Foodnet Working Group. Increased recognition of non-O157 Shiga toxin-producing *Escherichia coli* infections in the United States during 2000-2010: epidemiologic features and comparison with *E. coli* O157 infections. Foodborne Pathog Dis 2013; 10: 453 - 60.
 41. Zotta CM, Chinen I, Lavayén S, Cepeda M, Deza N, Morvay L, *et al.* Portación de *Escherichia coli* en convivientes de casos de síndrome urémico hemolítico. Salud (i) Ciencia 2015; 21: 136-41.
 42. US Department of Agriculture (USDA). 2012. "USDA targeting six additional strains of *E. coli* in raw beef trim starting monday." Food Safety and Inspection Service. Disponible en: <https://www.usda.gov/media/press-releases/2012/05/31/usda-targeting-six-additional-strains-ecoli-raw-beef-trim-starting>. (Fecha de acceso: 24 de junio de 2018).
 43. Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica. Código Alimentario Argentino. Disponible en: http://www.anmat.gov.ar/alimentos/codigoa/Capitulo_VI_2017.pdf. (Fecha de acceso: 24 de junio de 2018).
 44. Banatvala N, Griffin PM, Greene KD, Barrett TJ, Bibb WF, Green JH, *et al.* The United States national prospective hemolytic uremic syndrome study: microbiologic, serologic, clinical, and epidemiologic findings. J Infect Dis 2001; 183: 1063-70.

Recibido: 16 de noviembre de 2018

Aceptado: 29 de abril de 2019