

Primer aislamiento en Uruguay de *Escherichia coli* productora de toxina Shiga del serotipo O157:H7 en una niña con síndrome urémico hemolítico

Br. María del Pilar Gadea*¹, Dr. Gustavo Varela*², Dra. Mercedes Bernadá^{†3},
Lic. Alfredo Sirok*⁴, Br. María Inés Mota*⁵, Dra. Rosana Sabelli^{†6},
Lic. Germán Grotiuz*⁷, Dr. Felipe Schelotto*⁸, Dra. Isabel Chinen^{†9},
Lic. Germán Chillemi^{†10}, Dra. Marta Rivas^{†9}

Clínica Pediátrica B[†]. Departamento de Bacteriología y Virología*, Facultad de Medicina. Montevideo, Uruguay. Servicio Fisiopatogenia, Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas[†] - ANLIS "Dr. Carlos Malbrán", Buenos Aires, Argentina

Resumen

En mayo de 2002 se aisló por primera vez en Uruguay *Escherichia coli* O157:H7, productora de toxina Shiga a partir del coprocultivo de una niña de 16 meses procedente de Melo, con diagnóstico de síndrome urémico hemolítico. La cepa, productora de toxinas Shiga tipo 2 y tipo 2 variante humana a, era genéticamente distinta de las cepas circulantes en Argentina.

Palabras clave: SÍNDROME HEMOLÍTICO-URÉMICO.
INFECCIONES POR *ESCHERICHIA COLI*-complicaciones.
ESCHERICHIA COLI O157.
TOXINA SHIGA.

Introducción

El síndrome urémico hemolítico (SUH)⁽¹⁾ es una enfermedad relativamente frecuente en Uruguay, con una incidencia anual estimada de 4-5 casos por 100.000 niños menores de 5 años. Esta tasa es menor que en Argentina (12,2/100.000 en 2002). En Uruguay, los casos ocurren habitualmente en los meses cálidos (primavera, verano y otoño),

en niños eutróficos, de nivel socioeconómico aceptable, que viven muchas veces en pueblos del interior, pero no en el medio rural. Suelen estar precedidos por cuadros de diarrea con sangre, sin componente inflamatorio evidente. Hasta el momento no se han identificado brotes de la enfermedad.

El SUH se caracteriza por una tríada clásica de anemia hemolítica microangiopática, trombocitopenia e insuficien-

1. Ayudante del Departamento de Bacteriología y Virología. Facultad de Medicina.

2. Prof. Agdo. del Departamento de Bacteriología y Virología. Facultad de Medicina.

3. Prof. Adj. de la Clínica Pediátrica B. Centro Hospitalario Pereira Rossell, Facultad de Medicina.

4. Licenciado en Biología, ayudante del Departamento de Bacteriología y Virología. Facultad de Medicina.

5. Ayudante del Departamento de Bacteriología y Virología. Facultad de Medicina.

6. Residente de Pediatría en el Centro Asistencial del Sindicato Médico del Uruguay.

7. Licenciado en Biología y ex asistente del Departamento de Bacteriología y Virología. Facultad de Medicina.

8. Profesor de Bacteriología y Virología. Facultad de Medicina.

9. Doctoras en Bioquímica y técnicas del Servicio Fisiopatogenia.

10. Técnico del Servicio Fisiopatogenia.

Correspondencia: Dr. Felipe Schelotto.

Instituto de Higiene. Av. Dr. Alfredo Navarro 3051. CP 11600, Montevideo, Uruguay.

E-mail bacvir@hc.edu.uy

Recibido: 22/7/03.

Aceptado: 2/1/04.

cia renal aguda, y se vincula con la exposición a animales y sus excretas, bebidas o vegetales contaminados, o con el consumo de carne, principalmente bovina, insuficientemente cocida, ya que el intestino de los animales es el reservorio natural de cepas de *Escherichia coli* productoras de toxinas tipo Shiga (STEC).

La patogénesis del SUH es compleja, y la enfermedad se atribuye en especial al efecto citotóxico por inhibición de la síntesis proteica que producen las toxinas proteicas tipo Shiga (STXs), principales factores de virulencia de las cepas STEC. Estas bacterias proliferan en la luz del colon del huésped y no invaden la mucosa, pero producen las exotoxinas mencionadas, que ingresan al medio interno, se ligan a receptores en las células endoteliales, renales o neurales, son incorporadas a las mismas y ejercen su efecto patogénico a nivel del ribosoma eucariota.

Los niños enfermos son en general enviados a los centros de tratamiento intensivo pediátrico de Montevideo, donde se dispone de cuidados nefrológicos y apoyo dialítico. La mayor parte de ellos son tratados con antibióticos por su diarrea con sangre antes de realizar el diagnóstico microbiológico, lo que dificulta el aislamiento de las cepas STEC.

La letalidad en la etapa aguda es baja, pero pueden persistir en los niños secuelas hemodinámicas, neurológicas o renales que motivan en el mediano o largo plazo tratamiento dialítico crónico o trasplante renal.

El equipo del Departamento de Bacteriología y Virología (Instituto de Higiene, Facultad de Medicina) y de las clínicas pediátricas radicadas en el Hospital Pereira Rossell inició sus estudios de las infecciones por STEC en Uruguay en 1989, con apoyo del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICYT), verificando que los filtrados fecales de pacientes afectados de SUH mostraban citotoxicidad específica sobre cultivos de células vero. En 1994, con el apoyo de la Comisión Sectorial de Investigación Científica (CSIC) de la Universidad de la República se incorporaron técnicas de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y sondas de ADN como herramientas de investigación aplicadas a este tema.

Actualmente, el equipo de trabajo participa en el programa regional de vigilancia de las infecciones por STEC y SUH. Se implementaron protocolos actualizados y unificados para el monitoreo de casos de diarrea con sangre y para el estudio de todos los casos de SUH. Se estandarizaron los procedimientos y criterios de diagnóstico microbiológico. Desde noviembre de 2001, 15 casos de SUH y más de 90 casos de diarrea fueron incluidos en el estudio. Una cuidadosa organización de la red de vigilancia y de los protocolos de análisis de laboratorio han permitido procesar muestras tomadas precozmente, eludir la interferencia de los antibióticos y aislar por primera vez en el país cepas STEC como la asociada a este caso.

Caso clínico

Se presenta el caso de una niña de 16 meses de edad que fue referida desde la ciudad de Melo al centro de tratamiento intensivo pediátrico del Sanatorio Americano, en Montevideo, el día 4 de mayo de 2002. Tres días antes de su ingreso a este último servicio, su enfermedad se inició como una diarrea febril con sangre, que fue tratada con gentamicina y ampicilina. No mejoró, y desarrolló anemia y oliguria, por lo cual se decidió su traslado.

Ningún otro integrante de la familia informó síntomas o signos de enfermedad. La niña presentaba desnutrición crónica. Había recibido recientemente una alimentación apropiada para su edad, incluyendo carne adecuadamente cocida. Como detalle peculiar, los padres mencionan haber dado de comer a la niña carne cocida de mulita dos veces en los últimos 15 días. No fue posible identificar otra exposición a animales, más allá del dato mencionado.

Al ingreso, la paciente mostraba palidez cutáneo-mucosa, edemas, anuria, hipertensión arterial de 120/80 mmHg y hepatomegalia. Los hallazgos iniciales de laboratorio incluían un hematocrito de 20,9%; un nivel de hemoglobina de 7,6 g/dl; una leucocitosis de 11.300 elementos/mm³; recuento plaquetario de 69.000 elementos/mm³; azoemia de 150 mg/dl; 3,52 mg/dl de creatinina sérica; sodio 121 mEq/l; potasio 4,7 mEq/l; calcio 1,10 mmol/l; pH 7,29; exceso de base -15; bicarbonato 9 mmol/l; pCO₂ 19; pO₂ 106; porcentaje de saturación O₂ de hemoglobina de 97%.

La historia y el examen clínico, sumados a los resultados de laboratorio, revelaron la presencia de anemia, trombocitopenia e insuficiencia renal aguda, y orientaron al diagnóstico de síndrome urémico hemolítico.

La paciente recibió fluidos e iones intravenosos, concentrados de glóbulos rojos, furosemida, ranitidina y fármacos antihipertensivos. Permaneció anúrica por 22 días y requirió diálisis peritoneal durante 28 días. Al alta, 33 días tras su admisión, había recuperado su función renal aunque mantenía cifras tensionales elevadas.

Los estudios microbiológicos

En el estudio microscópico de la muestra fecal tomada el día 4 de mayo no se encontraron leucocitos polimorfonucleares ni bacterias espiraladas que sugirieran infección por *Campylobacter*, *Shigella* u otros gérmenes invasores. Los cultivos sobre agar *Salmonella-Shigella* (directos y tras enriquecimiento en caldo tetracionato), en agar MacConkey lactosa y en agar MacConkey sorbitol (SMAC, Oxoid Ltd., Basingstoke, Hampshire, England) no mostraron crecimiento, probablemente por efecto de la antibioticoterapia previa.

Sin embargo, luego del cultivo de enriquecimiento en caldo telurito de potasio-cefixime-tripticasa soya (CT-TSB,

bioMérieux y Difco) se recuperaron por reaislamiento colonias no fermentadoras del sorbitol sobre SMAC suplementado con telurito y cefixime (CT-SMAC).

Las colonias se identificaron con pruebas bioquímicas convencionales y con sistema API 20 E[®] (BioMérieux Marcy l'Étoile, France) y se caracterizaron mediante aglutinación con sueros de conejo preparados en nuestro laboratorio como *Escherichia coli* O157:H7, sorbitol y β -glucuronidasa negativas, biotipo C (rafinosa, dulcitol y ramnosa positivas). Eran susceptibles a todos los antibióticos ensayados.

Los ensayos de PCR mostraron que la cepa contenía los genes *stx2*, *eae* y EHEC-*hlyA* que codifican toxina de Shiga, la adhesina intimina y enterohemolisina. Fue enviada al centro de referencia regional de ANLIS "Dr. Carlos G. Malbrán", Buenos Aires, donde se realizaron los ensayos de subtipificación ya descritos⁽²⁾ y se confirmaron las características fenotípicas y genotípicas estudiadas. La cepa fue caracterizada como productora de *stx2* y *stx2vh-a* (variante humana a), y era de fagotipo 2. Los análisis de "fingerprinting" de DNA por electroforesis de campo pulso (PFGE) usando enzima de restricción *XbaI* mostraron un patrón de bandas diferente al de todas las cepas aisladas hasta el presente en Argentina.

Los coprocultivos de los familiares cercanos y el cultivo de control de la paciente 18 días después del inicial fueron negativos.

Comentarios

Los primeros cultivos STEC aislados de casos de SUH en Uruguay por este mismo grupo de trabajo eran de serogrupos O111, O26 y O145. Pese a la importancia de O157:H7 como serotipo STEC causante de enfermedad esporádica y de brotes en muchos países, las cepas STEC O157 no habían sido hasta el momento asociadas con casos de diarrea con sangre o SUH en Uruguay⁽³⁻⁵⁾.

Es el primer caso de SUH relacionado con *E. coli* O157:H7 que se informa en el país. A diferencia de todos los casos previos de SUH observados, éste se produjo en una paciente portadora de desnutrición crónica. Llamativamente, el cultivo de STEC O157 obtenido es diferente de las cepas argentinas y procede del noreste del país, por lo cual deberá ser comparado con aislamientos efectuados en Brasil. Este informe enfatiza la importancia de la vigilancia nacional y regional de las infecciones por STEC en el hombre.

Se requieren, además, estudios sobre la presencia de este tipo patogénico de *Escherichia coli* en el reservorio animal y en la cadena alimentaria, para identificar la ruta de transmisión de las infecciones y la posible fuente de contaminación humana^(2, 6-8).

Agradecimientos

Agradecemos al Center for Disease Control (CDC-USA), al Centro de Gestión Tecnológica (CEGETEC-Uruguay) y a la Fundación Alberto J. Roemmers (Argentina) por su apoyo económico.

Summary

Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157:H7 was isolated for the first time in Uruguay in May 2002 from fecal specimens cultures of a 16-month-old female child coming from Melo with hemolytic uremic syndrome. The strain, Shiga type 2 and human variant a type 2 toxin-producing, was genetically different from current Argentinian strains.

Résumé

En mai 2002 on a isolé pour la première fois en Uruguay *Escherichia coli* O157:H7, producteur de toxine Shiga à partir de la coproculture d'une fille de 16 mois provenant de Melo, avec un diagnostic de syndrome urémique hémolytique. La cèpe, productrice de toxines Shiga type 2 et type 2 variante humaine a, était génétiquement différente aux cèpes présentes en Argentine.

Bibliografía

1. Gianantonio CA, Vitacco M, Mendilaharsu F, Gallo GE, Sojo ET. The hemolytic-uremic syndrome. *Nephron* 1973; 11(2): 174-92.
2. Chinen I, Tanaro JD, Miliwebsky E, Lound LH, Chillemi G, Ledri S, et al. Isolation and characterization of *Escherichia coli* O157:H7 from retail meats in Argentina. *J Food Prot* 2001; 64(9): 1346-51.
3. Miliwebsky ES, Balbi L, Gómez D, Wainsztein R, Cueto Rúa M, Roldán C, et al. Síndrome urémico hemolítico en niños de Argentina: asociación con la infección por *Escherichia coli* productor de toxina Shiga. *Bioq Patol Clin* 1999; 63: 113-21.
4. Paton JC, Paton AW. Pathogenesis and diagnosis of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* infections. *Clin Microbiol Rev* 1998; 11(3): 450-79.
5. Elliott EJ, Robins-Browne RM, O'Loughlin EV, Bennett-Wood V, Bourke J, Henning P, et al. Nationwide study of haemolytic uremic syndrome: clinical, microbiological, and epidemiological features. *Arch Dis Child* 2001; 85(2): 125-31.
6. Elder RO, Keen JE, Siragusa GR, Barkocy-Gallagher GA, Koohmaraie M, Laegreid WW. Correlation of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157 prevalence in feces, hides and carcasses of beef cattle during processing. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97(7): 2999-3003.
7. Olsen SJ, Miller G, Breuer T, Kennedy M, Higgins C, Walford J, et al. A waterborne outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infections and hemolytic uremic syndrome: implications for rural water systems. *Emerg Infect Dis* 2002; 8(4): 370-5.
8. Crump JA, Sulka AC, Langer AJ, Schaben C, Crielly AS, Gage R, et al. An outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infections among visitors to a dairy farm. *N Engl J Med* 2002; 347(8): 555-60.