

## Resumen del Brote de STEC O104:H4 de Alemania Características de la cepa y propuesta diagnóstica

Fuente:

Eurosurveillance, Volume 16, Issue 24, 16 June 2011

- M J Struelens, D Palm, J Takkinen. Article 1.

- F Scheutz, E Møller Nielsen, J Frimodt-Møller, N Boisen, S Morabito, R Tozzoli, J P Nataro, A Caprioli. E-alert.

Entre el 2 de mayo y el 14 de junio de 2011, el brote de síndrome urémico hemolítico (SUH) y diarrea sanguinolenta asociado a la infección por *Escherichia coli* O104:H4, ocurrido en Alemania y que se extendió a 13 estados miembros de la Unión Europea, EE.UU. y Canadá, ha causado 3.332 casos de infección por STEC, incluyendo 818 casos de SUH y 36 muertes. Del total de casos, 95% fueron reportados por Alemania y la mayoría con residencia en ese país o vínculo epidemiológico de viaje al mismo. A partir del 10 de junio, el número de casos notificados ha ido disminuyendo, lo que indica que se está llegando al final de la curva epidemiológica del brote. Ciertas características se destacan en este brote: 1) el alto número de casos de SUH; 2) que afecta fundamentalmente a adultos, a diferencia de lo que ocurre habitualmente con los casos de SUH post-entérico, en el cual la población más afectada son los niños; 3) que dos tercios de los casos son mujeres.

Las investigaciones iniciales realizadas por el Centro de Referencia Nacional para *Salmonella* y otras Bacterias Entéricas, del Instituto Robert Koch (RKI) de Alemania, caracterizaron a la bacteria causante del brote como STEC del serotipo O104:H4 productor de toxina Shiga del tipo 2 (Stx2). Sin embargo, la cepa carecía de los factores de virulencia accesorios que caracterizan a las cepas virulentas de STEC: 1) la isla de patogenicidad LEE (del inglés, locus for enterocyte attaching/effacing) que codifica distintos factores implicados en la patogenia, entre ellos la proteína intimina (gen *eae*); 2) la enterohemolisina codificada en un megaplásmido (gen *ehxA*). Todos los aislamientos clínicos fueron multiresistentes y presentaron patrones de macrorestricción indistinguibles por *Xba*I-PFGE.

El Centro Colaborador de OMS para Referencia e Investigación de *Escherichia* y *Klebsiella*, de Copenhague, Dinamarca, reportó interesantes hallazgos sobre la naturaleza y posible origen de la cepa implicada en el brote. Utilizando métodos genotípicos validados, los investigadores demostraron que: 1) la cepa no es una típica STEC virulenta sino un patotipo híbrido raro que porta la codificación mediada por fagos para la Stx2 pero con una base genética de *E. coli* enteroagregativo (EA<sub>g</sub>gEC), al cual se lo denominó *E. coli* enteroagregativo productor de toxina Shiga/Verotoxina (EA<sub>g</sub>gEC STEC/VTEC); 2) porta la codificación de un receptor para la aerobactina quelante de hierro (iron-chelating aerobactin), factor de virulencia descrito en cepas de *E. coli* extraintestinales; 3) tiene relación con cepas EA<sub>g</sub>gEC STEC/VTEC descritas previamente, como por ejemplo las asociadas al brote ocurrido en Francia en 1998.

Estos hallazgos podrían explicar el inesperado alto grado de virulencia de las cepas STEC/VTEC que no codifican para la isla de patogenicidad LEE. En realidad, el fenotipo de adherencia enteroagregativo podría conferirle a estas cepas de *E. coli* O104, la capacidad de colonizar la mucosa intestinal de las personas infectadas tan eficientemente como las cepas típicas STEC/VTEC *eae*- positivas. La diferencia en el mecanismo de adherencia explicaría porqué estas cepas causan enfermedad severa en adultos más que en niños, como sería usual de esperar de una cepa STEC/VTEC asociada a SUH post-

entérico: adultos y niños podrían diferir en su susceptibilidad a la adherencia y/o propiedades de colonización por este tipo de cepas EAEC. Obviamente dilucidar este aspecto requiere de más estudios y no se puede excluir que la diferencia de frecuencia de SUH entre niños y adultos, observados en el brote, pueden solo reflejar una diferencia en la exposición.

Para los ensayos de tamizaje de la cepa de *E. coli* O104, los Laboratorios de la Red Europea recomiendan realizar el aislamiento del espécimen clínico en placas de beta-lactamasa de espectro extendido (ESBL) como el Medio Triptona Bilis X-glucuronido, el cual permite el crecimiento de las cepas del brote e inhibe la mayoría de otras cepas de *E. coli*. También se puede utilizar Agar MacConkey Sorbitol suplementado con cefixima-telurito de potasio (CT-SMAC) a 37°C, 41,5°C y 44°C. Es posible realizar un tamizaje rápido de las muestras clínicas con el antisuero a-K9 por aglutinación en lámina en los laboratorios de nivel I y II, a partir de zona de confluencia de los cultivos en placa o de pools de 5-10 colonias aisladas. Luego, la cepa debe ser confirmada por ensayo de aglutinación para O104, presencia del gen que codifica para *stx2*, y ausencia del gen *eae*. La detección inicial también puede realizarse por métodos moleculares dirigidos a la detección del gen *stx2/vtx2* como PCR, PCR Real Time o kits comerciales. Posteriormente debe confirmarse el serogrupo O104 por aglutinación y ausencia del gen *eae*.

La metodología recomendada para el aislamiento de STEC a partir de alimentos, descrita en el procedimiento ISO/WD TS 13136, 2009, consiste en realizar un enriquecimiento en agua peptonada (25g en 225ml; 18-24 h a 37°C) y un primer tamizaje mediante la detección de gen *stx/vtx* por PCR Real Time, a partir del extracto de ADN obtenido del caldo enriquecido. Aquellas muestras positivas para *stx/vtx* deben ser procesadas para la detección del gen asociado a O104 (*wzxO104*). Para su aislamiento, las muestras positivas para este gen se deben sembrar en placas de medio MAC o TBX, o algún otro medio adecuado, y en otro medio más selectivo conteniendo un suplemento antibiótico. Se continúa luego con la serotipificación y caracterización genotípica del aislamiento positivo. En paralelo, a partir de este brote, el Laboratorio de Referencia para STEC/VTEC de la Unión Europea, ha desarrollado los protocolos de PCR-RT para detectar el antígeno somático O104 y el flagelar H4 en alimentos.

Con el fin de orientar al diagnóstico se presentan las tablas con resultados comparativos de las pruebas genotípicas y fenotípicas de *Escherichia coli* O104 y O157.

### COMPARACIÓN DE PRUEBAS GENOTÍPICAS DE *Escherichia coli* O104 y O157

GEN	PATOTIPO	<i>E. coli</i> O104	<i>E. coli</i> O157
<b>aggR</b>	<b>EAggEC</b>	+	-
<i>east 1</i>	Múltiple	-	-
<i>st-b</i>	ETEC	-	-
<i>lt-A</i>	ETEC	-	-
<i>α-hlyA</i>	Múltiple	-	-
<i>ipaH</i>	EIEC	-	-
<i>E-hlyA</i>	STEC/EHEC	-	+
<i>eae</i>	STEC/EHEC	-	+
<i>stx1</i>	EHEC	-	+/-
<b><i>stx2</i></b>	<b>EHEC</b>	+	+/-
<i>stx2f</i>	STEC	-	-
<i>st-h</i>	ETEC-humana	-	-
<i>st-p</i>	ETEC-animal	-	-

**COMPARACIÓN DE PRUEBAS FENOTÍPICAS DE *Escherichia coli* no-O157, O104, O157 y *E. hermannii***

Pruebas Bioquímicas	Bacteria				Medio de cultivo
	<i>E. coli</i> no-O157	<i>E. coli</i> O104:H4	<i>E. coli</i> O157:H7	<i>E. hermannii</i>	
Fermentación de glucosa	+	+	+	+	Agar triple azúcar y hierro (TSI)
Fermentación de lactosa	+	+	+	+	TSI
Formación de Ac. Sulfídrico	-	-	-	-	TSI
Producción de gas	+	+	+	+	TSI
Utilización del Citrato	-	-	-	-	Citrato de Simmons
Producción de indol	+	+	+	+	Sulfuro, indol, movilidad (SIM)
Movilidad	Móvil / no móvil	Móvil	Móvil	Móvil	SIM
Fermentación de sorbitol	+/-	+	-	-	Fermentación de hidratos de carbono
Resistencia al Telurito	+/-	+	-	-	Agar MacConkey sorbitol con cefixima (0,05 mg/l) y telurito de potasio (2,5 mg/l)
Actividad $\beta$ -glucuronidasa	+/-	+	-	-	Disco con glucurónido
Fermentación de ❖ Celobiosa	-	-	-	+	Fermentación de hidratos de carbono
Producción de ❖ pigmento amarillo	-	-	-	+	Tripticasa de soja

Servicio Fisiopatogenia, INEI-ANLIS "Dr. Carlos G. Malbrán", 21 de junio de 2011.

Contacto: Dra. Marta Rivas [mrivas@anlis.gov.ar](mailto:mrivas@anlis.gov.ar); Bqca. Isabel Chinen [ichinen@anlis.gov.ar](mailto:ichinen@anlis.gov.ar); Bqca.

Elizabeth Miliwebsky [emiliwebsky@anlis.gov.ar](mailto:emiliwebsky@anlis.gov.ar)