

## REVISIONES BIBLIOGRÁFICAS

**Esquema para el diagnóstico de *Escherichia Coli Enterohemorrágica* y otras categorías enteropatógenas en pacientes con enfermedad diarreica aguda**

**Scheme for the diagnosis of *Enterohemorrhagic Escherischa Coli* and other enteropathogenic categories of patients with EDA**

**Dr. Sc. Guillermo Barreto Argilagos ; Lic. Raquel I, Hernández Cisneros; Lic. Angel Ortiz López ; Lic. Yipsy Santiago García**

Universidad de Camagüey. Departamento de Química y Farmacia. Camagüey, Cuba.

### RESUMEN

Se propone un esquema para el diagnóstico de cuatro categorías enteropatógenas de *E. coli* en el que las muestras de heces fecales o hisopajes rectales se siembran en paralelo en los medios agarizados Mac Conkey y Mac Cokey Sorbitol. De los mismos se seleccionan de 3 a 5 colonias (rojas del primero; blancas del segundo). A partir de allí, el esquema propuesto incorpora armónicamente las técnicas propuestas por March, Ratnam y Blanco para *E. coli* enterohemorrágica O157: H7 con la variante de Barreto para *E Coli enterohemorrágicas* en general y, aprovechando las particularidades hemolíticas de las categorías enteropatógenas que afectan al humano, utiliza esta variante como punto de partida para su diferenciación y para descartar aquellas cepas carentes de valor enteropatógenos, caracterizadas por una hemólisis total. El tipo enteroinvasivo se diagnostica acorde a lo sugerido por Prats y Llovet, en tanto que las enterotoxigénicas y enteropatógenas clásicas se hacen según Blanco y Blanco. La aplicación de este esquema diagnóstico ha posibilitado el establecimiento de estas categorías enteropatógenas en pacientes con EDA menores de cinco años en investigaciones realizadas en el Centro Provincial de Higiene, Epidemiología y Microbiología de Camagüey.

**DeCS:**ESCHERICHIA COLI; DIARREA.

### **ABSTRACT**

A scheme is proposed for the diagnosis of 4 enteropathogenic categories of *E. Coli* in which feces samples were cultivated parallel in the agar solution, Mac Conkey and Mac Cokey Sorbitol; 3 to 5 colonies were selected (red of the first one; white of the second one). The proposed scheme uses harmonically the proposed techniques by March and Katman, and Blanco et al for *E. Coli* O157: H7 with the variant of Barreto for enterohemorrhagic *E. Coli* and taking into account the hemolytic peculiarities of enteropathogenic categories that affect the human being, it uses this variant as departing point for its differentiation and for discarding those smears lacking of enteropathogenic value, characterized by a total hemolysis. The enteroinvasive type is diagnosed according to what Prats and Llovet suggest, the classic enterotoxigenic and enteropathogenic are done as to Blanco and Blanco. The application of this diagnostic scheme has made possible the establishment of these enteropathogenic categories in patients with acute diarrhea younger than 5 years in researches performed in the Provincial Centre of Higiene, Epidemiology and Microbiology of Camagüey.

**DeCS:** ESCHERICHIA Coli; DIARRHEA.

### **INTRODUCCIÓN**

Actualmente se reconocen cinco categorías de *E. coli* con valor enteropatógeno: enterotoxigénicas (ECET), enteroinvasivas (ECEI), enteropatógenas clásicas (ECEP), enterohemorrágicas (ECEH) y enteroagregativas (ECEAgg) (1). De ellas, el tipo ECEH resulta el que más atención acapara en los dos últimos decenios, por su alta letalidad y por haber ocasionado brotes de colitis hemorrágica en países del primer mundo (2-7). Al igual que en las restantes categorías, su principal vía de transmisión al humano la constituyen los alimentos. El serotipo O157:H7, prototipo de ECEH se ha reportado en carnes de res molidas (hamburguesas) con deficiente cocción. Así, en Estados Unidos anualmente 20 000 ciudadanos son afectados por este enteropatógeno (6). *E. coli* O157:H7 representa a un microorganismo emergente que viene produciendo enfermedades en humanos a un ritmo creciente en los últimos 20 años, con perspectivas de aumentos explosivos en el futuro próximo (8). Sin embargo, en otros países se han reportado otras vías de

transmisión que abarcan aguas contaminadas, yogures, embutidos fermentados, el contagio persona-persona (7), legumbres, carnes de pavo, frutas, ensaladas de vegetales (9), mayonesas y salsas a base de mayonesa, en las que pesa al bajo pH (entre 3.6 y 3.9) ECEH O157:H7 puede mantenerse viable por espacio de 35 días si son conservadas en refrigeración (10). La transmisión zoonótica de ECEH puede ocurrir ya que los bovinos le sirven de reservorio principal. Otras especies, como es el caso de porcinos, ovinos y algunas aves también pueden cumplir esta función (11). El comportamiento de esta categoría en los países en vías de desarrollo constituye una verdadera incógnita, por desconocimiento sobre su existencia, y por carencia de técnicas confiables para su detección (7, 11).

*E. coli* O157:H7 no es capaz de fermentar el sorbitol, o lo hace lentamente y no crece a las temperaturas utilizadas para diferenciar a *E. coli* de los demás coliformes (44.5° C - 45.5° C), aspecto este último que propicia su no aislamiento en los estudios de rutina (2, 3, 7, 12).

El tipo ECEH, además de la producción de verotoxinas, responsables en gran medida de las etiologías ocasionadas, produce un tipo de hemolisina característico al que se ha denominado enterohemolisina (Ent-Hly) y que sólo hemoliza hematíes previamente tratados y no los presentes en el agar sangre convencional (4). Por otra parte, las restantes categorías enteropatógenas en humano se caracterizan por ser no hemolíticas (13).

Todo lo antes expuesto motivó el presente trabajo, en el que se propone una metodología para el diagnóstico de las categorías enteropatógenas de *E. coli* a partir de la técnica propuesta con anterioridad para el diagnóstico de ECEH (4).

## **DESARROLLO**

### **METODOLOGÍA**

El esquema parte de la siembra en paralelo de muestras de heces fecales o hisopajes rectales en los medios agar Mac Conkey Sorbitol (AMCS) (12) y agar Mac Conkey (AMC), y su incubación a 37°C durante 24 horas. Se seleccionan de 3 a 5 colonias de AMCS y se siembran en paralelo en tubos de caldo nutriente para su incubación a 37°C y 44.5°C durante 24 horas. ECEH O157:H7 no crece (o lo hace muy pobremente) a 44.5°C a diferencia de los restantes serotipos de *E. coli* (2, 3).

Se seleccionan de 3 a 5 colonias rojas del medio ACM y un número similar a partir de AMCS, que deben ser las mismas utilizadas para el ensayo ya descrito. Estas colonias se siembran en paralelo en los medios agar-sangre (AS) y agar -Eritrocitos Lavados (AEL) y se incuban durante 24 horas a 37°C, con lecturas a las 4 y 24 horas. Las cepas con hemólisis total en ambos medios se descartan por carecer de

valor enteropatógeno (13); las cepas con hemólisis turbia solo en AEL se catalogan como presuntivas ECEH (4); las que no brindan hemólisis en ninguno de los dos medios resultan posibles ECEI, ECET o ECEP (13). Para su diferenciación se siguen los siguientes criterios:

-. ECEI: se establece en base a su comportamiento bioquímico atípico caracterizado por la no descarboxilación de la lisina; no fermentación de la lactosa (o fermentación tardía) y la motilidad negativa propia de las cepas de esta categoría (14).

-. ECET: Se diagnostica en base a la presencia de fimbrias del tipo CFA (I o II), mediante hemoaglutinación manosa-resistente o por seroaglutinación frente a inmunosueros específicos (5).

-. ECEP: Se identifica mediante el establecimiento por seroaglutinación de antígenos (O:H) propios de los serotipos más frecuentes de esta categoría (5).

En países como Estados Unidos y Canadá, en los que los brotes de colitis hemorrágica y síndrome urémico hemolítico han estado, hasta la fecha, vinculados al serotipo O157:H7, el uso del medio AMCS ha constituido una opción ampliamente utilizada, dada la característica bioquímica atípica de este serotipo de no fermentar el sorbitol (12). Sin embargo, resulta un ensayo que excluye a los restantes serotipos de ECEH, incluso, la variante inmóvil O157:H-, todos reportados en brotes de colitis hemorrágica fuera de estos dos países (4, 7, 15, 16).

El esquema propuesto integra elementos, tanto teóricos como prácticos, de la experiencia investigativa sobre *E. coli* enteropatógenos en los últimos 20 años. Con ello se logra un sistema sencillo, realizable en cualquier laboratorio de diagnóstico microbiológico, con una sensibilidad comparable a la de otras técnicas establecidas para ese fin, pero además, con la ventaja por su integralidad, de dar una visión de conjunto en el estudio de *E. coli* enteropatógena al humano.

La aplicación de este esquema diagnóstico en el Centro Provincial de Higiene, Epidemiología y Microbiología ha puesto de manifiesto la presencia de estas cuatro categorías enteropatógenas en pacientes de EDA menores de 5 años. Estos resultados demandan la urgente necesidad de aplicar esquemas al menos para el diagnóstico de ECEH, como el propuesto, o cualquier otro, en los controles microbiológicos realizados a pacientes con EDA, fundamentalmente, a los menores de cinco años y a los ancianos, por ser las categorías con mayor alto riesgo de complicación de síndrome urémico hemolítico (17).

## CONCLUSIONES

La aplicación del esquema diagnóstico propuesto se caracteriza por:

Posibilitar el diagnóstico presuntivo de cuatro categorías enteropatógenas de *E. coli* que incluyen el tipo enterohemorrágico, priorizado internacionalmente por su potencial letalidad.

Brindar una visión de conjunto al estudiar estas categorías de *E. coli* y, posibilitar el ahorro de tiempo y de medios de cultivo al permitir descartar aquellas cepas carentes de valor enteropatógeno.

Ser un esquema de fácil realización en cualquier laboratorio de control microbiológico

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Rosa AC, Mariano AT, Pereira AM, Tibana A, Gómez TA., Andrade JR. Enteropathogenicity markers in *E. coli* isolated from infants with acute diarrhoea and healthy controls in Rio de Janeiro, Brazil. J. Med. Microbiol. 1998; 47: 781-90.
2. Blanco JE, Blanco M, Blanco J, Alonso MP. *E. coli* toxigénicos en alimentos y muestras clínicas de origen humano y animal. Patogénesis y epidemiología. Med. Vet. 1996; 13: 207-21.
3. Blanco J, Blanco JE, Mora A, Río M, Prado C, Alonso MP, Rodríguez A. ECVT, un importante patógeno emergente responsable de intoxicaciones alimentarias. Alimentaria. Sep. 1996; 93-6.
4. Barreto G. Técnica para el diagnóstico de *E. coli* verotoxigénico (VTEC). Rev. Prod. Anim.. 1995; 9: 71-4.
5. Blanco J, Blanco M, Blanco J. ETEC, VTEC y NCEC de origen humano y bovino. Patogénesis, epidemiología y diagnóstico microbiológico. Servicio de publicaciones Diputación Provincial San Marcos. Lugo (Galicia) España. 1993. p.35-48, 71-7, 104-7.
6. Boyce TG, Swerdlow DL, Griffin PM. *E. coli* O157:H7 and the hemolytic uremic syndrome. N. Engl. J. Med 1995; 10: 364-8.
7. Barreto G, Omitza Jiménez y Silvia Díaz. *E coli* verotoxigénico (VTEC): una nueva variedad, un nuevo riesgo. Rev Prod Anim. Anuario 1997-98; 10: 5-26.
8. United States of America. Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention Addressing Emerging Infectious Diseases. Threats to Health. A Prevention Strategy for the United States (Draft). 1993.
9. Instituto Panamericano de Protección de Alimentos y Zoonosis (INPPAZ): Contaminación microbiana de los alimentos vendidos en la vía pública en ciudades

- de América Latina y características socio-económicas de sus vendedores y consumidores. ISBN 92 75 322002 3. INPPAZ; 1996; p.16-19; 27-28.
10. Weagant SD; Bryant JL, Bark DH. Survival *E.coli* O157:H7 in mayonnaise and mayonnaise-based at room and refrigerated temperatures. *J Food Prot* 1994; 57(7): 629-31.
  11. Cravioto A., Trujillo F, Lech L, Hernández J, Eslava C. Infecciones por *E. coli* enteropatógenas. *Gac Med Mex* 1996;132(6): 611-15.
  12. March SB, Ratnam S. Sorbitol-MacConkey medium for detection of *E. coli* O157:H7 associated with hemorrhagic colitis. *J Clin Microbiol* 1986;23: 869-72.
  13. Beutin L. The different hemolysins of *E. coli* (Mini-review). *Med, Microbiol. Immunol* 1991; 180: 167-82.
  14. Prats G, Llovet T. ECEI. Patogénesis y epidemiología. *Microbiología SEM*. 1995; 11: 91-96.
  15. Barreto G, Hernández R, Navarro M, Jiménez O, Prieto M, Hernández A. *E. coli* verotoxigénico (ECVT): Utilización de sorbitol y producción de enterohemolisina (Ent-Hly) para su diagnóstico. *Rev. Prod. Anim* 1995; 9: 74-8.
  16. Takeda Y. Enterohaemorrhagic *E.coli*. *World Health statistics Quarterly*. 1997; 50 (1/2): 74-82.
  17. Nataro RJ, Kaper JB. Diarrheagenic *E. coli*. *Clinical Microbiology Reviews*. 1998;11(1):142-201.

*Dr. Sc. Guillermo Barreto Argilagos*. C.D.E.P.A. Universidad de Camagüey. Universidad de Camagüey. Departamento de Química y Farmacia. Camagüey, Cuba.