

***ESCHERICHIA COLI*: UN RETO DESPUES DE 111 AÑOS DE ESTUDIO**

**Dr. C Guillermo Barreto Argilagos**

Facultad de Ingeniería Química y Farmacia. Universidad de Camagüey. Camagüey, Cuba.

**RESUMEN**

Durante casi dos décadas no se efectúa en el país el diagnóstico de *E. coli* dentro del esquema para el estudio de los enteropatógenos a evaluar en los casos de enfermedad diarreica aguda. La presente revisión resume el criterio de especialistas de países desarrollados y del tercer mundo y brinda una panorámica sobre la repercusión que en la salud humana tienen cuatro de las categorías enteropatógenas que conforman dicha especie bacteriana: sus caracteres de virulencia; incidencia y métodos de diagnóstico propuestos. Este trabajo pone de manifiesto la necesidad imperiosa de establecer en el país técnicas para el diagnóstico, al menos, de las variedades enterotoxigénica y enterohemorrágica y sugiere, a tal fin, las técnicas de hemoaglutinación manosa-resistente y determinación de enterohemolisina, respectivamente.

**DeCS:** ESCHERICHIA COLI.

**ABSTRACT**

During almost two decades, the diagnosis of *E. Coli* is not performed in the country within the schedule for the study of enteropathogens to be evaluated in cases of acute diarrheic disease. This review summarizes the criteria of specialists of underdeveloped countries and of the Third World and gives a view about the repercussion that four enteropathogenic

categories which comprise such bacterial specie have in the human health; its virulence characteristics; incidence and proposed diagnosis methods are also presented. This work shows the need of establishing in the country technics for the diagnosis, mainly of the enterotoxigenic and - enterohemorrhagic varieties and suggests, for such purpose, the mannose -resistent hemoagglutination technics and determination of the enterohemolysin, respectively.

**DeCS:** ESCHERICHIA COLI.

## **INTRODUCCIÓN**

A finales de los años 70 se eliminó el estudio de la especie E. coli en las investigaciones de rutina que se realizan a los pacientes afectados de enfermedad diarreica aguda (EDA). La presente revisión en modo alguno pretende cuestionar las causas que motivaron esta decisión, que hasta el presente permanece vigente, al menos en los centros de diagnóstico del interior del país; su único objetivo es dar una panorámica sobre las diversas variedades o categorías que integran esta especie, su repercusión en la salud humana y las consideraciones que sobre estas han mantenido especialistas de países desarrollados y en vías de desarrollo durante los últimos tres decenios.

### **¿E. coli ?**

La primera descripción de la especie bacteriana E. coli la realizó el Dr. Theodor Escherich en 1895, quien la denominó Bacterium coli (1). Más adelante Kauffmann (2) y luego Orskov y Orskov (3,4) detallarían su composición antigénica, en tanto que Edwards y Ewing definirían su comportamiento metabólico (5).

Si se erigiera un monumento al microorganismo más utilizado por el hombre en sus estudios en la esfera de la Microbiología, la Genética y la Biología Molecular, no hay dudas que le correspondería a este destacado miembro de la familia Enterobacteriaceae.

### **¿Enteropatógeno o flora normal?**

Podría asegurarse que desde el preciso instante de su descubrimiento surgió esa duda. Hasta la fecha se le ha considerado siempre flora del tracto intestinal del hombre y demás

animales de sangre caliente y constituye la especie predominante entre los anaerobios facultativos que la integran (6). A pesar de ello, algunas cepas de E. coli poseen cualidades que les permiten infecciones entéricas (diarrea, disentería, colitis hemorrágica, uremia hemolítica, edema del cerdo) o extraintestinales (infecciones del tracto urinario, septicemias, meningitis, peritonitis, infecciones pulmonares y de heridas) tanto en el hombre como en los animales (4,7). Aunque resultan innumerables los estudios realizados en torno a los factores que determinan esta patogenicidad, la diferenciación entre cepas patógenas continúa siendo un problema, sobre todo en las cepas de origen fecal (4).

### **Infecciones gastrointestinales y E. coli**

Las infecciones gastrointestinales constituyen un problema de salud. Anualmente se producen 1 647 millones de casos de diarreas en el planeta, con un saldo de 5 millones de muertes. En los países en vías de desarrollo las muertes en menores de cinco años ascienden a 3,2 millones de vidas (8). El Instituto de Medicina de la Academia Nacional de Ciencias de Estados Unidos estima que E. coli provoca 630 millones de casos de diarreas en el mundo y aproximadamente 775 mil muertes al año, afectando fundamentalmente a la población infantil del tercer mundo que tiene quince veces más riesgo de morir por esta causa que los pacientes adultos (8). La diarrea aguda líquida se presenta en el 80% de los casos y es la predominante en todas las latitudes; la diarrea con sangre y la crónica, cada una aparece en un 10%. Las causas más frecuentes de diarrea aguda son E. coli enterotoxigénico y rotavirus, en tanto que Shigella, E. coli (enterohemorrágico y enteropatógeno), Campylobacter jejuni y Entamoeba histolytica prevalecen en los casos de diarreas sanguinolentas (7).

En un estudio multicéntrico realizado en cinco países en desarrollo, en el que se estudiaron niños de 0 a 36 meses de edad se puso de manifiesto que los tres agentes más frecuentes de diarrea aguda fueron rotavirus, Shigella y E. coli enterotoxigénico (9).

### **E. coli enteropatógenos que afectan al hombre**

Las cepas capaces de provocar diarrea en seres humanos se han agrupado en cuatro categorías atendiendo a sus caracteres de virulencia, sintomatología clínica, comportamiento epidemiológico y serotipos según sus antígenos somáticos (O) y flagelares (H). Estas categorías son: E. coli enteropatógenas (ECEP); enteroinvasivas (ECEI); enterotoxigénicas (ECET) y enterohemorrágicas (ECEH) (4,10).

### **E. coli enteropatógenas**

(ECEP) Las cepas pertenecientes a esta categoría se asocian en su mayoría, a diarreas neonatales e infantiles. Los adultos pueden actuar como portadores y muy raras veces manifiestan los síntomas de la enfermedad, comportamiento que se atribuye a una inmunidad adquirida en estos (11). Actualmente este grupo se clasifica en dos categorías atendiendo a su adherencia localizada (I) o difusa, o sin capacidad de adhesión (II) a células Hep-2 (células de carcinoma de laringe) (1).

Pese a ser posiblemente la variedad más estudiada hasta la primera mitad de este siglo, sus mecanismos de patogenicidad no están totalmente definidos. Así en algunos serotipos se ha reportado producción de verotoxinas (2) pero, posteriormente, debido a su capacidad de provocar colitis hemorrágica y uremia hemolítica, se han reagrupado como ECEH. También en algunas cepas de ECEP se ha constatado la capacidad de invadir células epiteliales (3). En la actualidad se estudian dos factores de virulencia no presentes en las otras categorías. El primero consiste en una proteína (94 KDa) presente en una membrana externa y que se asocia al fenómeno de adhesión a receptores al nivel de enterocitos (4). El segundo es una toxina citoletal que provoca la dilatación de células CHO (línea celular de ovario de hamster chino) y que se ha designado CLDT (cytoletal distending toxin) (15). ECEP constituye una de las principales causas de diarrea en los países en vías de desarrollo y se presentan con frecuencia en casos esporádicos en los países desarrollados (7,8,9). La detección de ECEP se realiza convencionalmente por serotipado. Algunos especialistas orientan la búsqueda de un limitado número de antígenos somáticos, en tanto que otros solo dan valor diagnóstico a determinadas combinaciones O:H (4,10). Los ECEP de clase I se pueden determinar por la presencia de su factor de adherencia (EAF) a células Hep 2 (16).

### **E. coli enteroinvasivas (ECEI)**

Las cepas que conforman este grupo provocan un cuadro de disentería similar al ocasionado por Shigella y comprende un limitado número de serotipos (028a,c; 011a,c; 0124; 0136; 0143; 0144; 0152; 0164 y 0167) (5,7). La capacidad invasiva de ECEI y Shigella va asociada a un plásmido no conjugativo, el cual codifica varias proteínas de la membrana externa bacteriana. Estas proteínas interactúan con receptores específicos de las células intestinales, posibilitando la endocitosis de la bacteria (18). Los estudios epidemiológicos en torno a esta variedad de E. Coli son escasos. En algunos se considera que su frecuencia de presentación es baja (7,10), no obstante, en América del Sur, Extremo Oriente y numerosos

países de la denominada Europea Oriental se ha aislado con relativa frecuencia (19). En México, se ha reportado en el 4% y 5% de niños afectados de diarrea (20,21). La prueba de referencia para el diagnóstico de ECEI sigue siendo el ensayo de Sereny (22). Su complejidad ha dado lugar a que muchos centros de diagnóstico prefieran el empleo de técnicas que evalúan los caracteres fenotípicos propios de esta variedad de E. coli, especialmente la no descarboxilación de la lisina (23), pese a no ser tan confiable como la prueba de Serény. En centros con mayores recursos se evalúa por métodos inmunoenzimáticos (24) la presencia de proteínas de la membrana externa, presentes solo en las cepas invasivas.

### **E. coli enterotoxigénicos (ECET)**

Esta variedad causa diarrea acuosa. Está demostrada su participación en la diarrea infantil (25), diarrea del viajero (26) y diarrea colérica (27). Constituye la principal causa de diarrea infantil en países del tercer mundo (7,8,9,10). Se encuentra entre el 20% y el 60% de los pacientes con diarrea, tanto niños como adultos, en Africa (28), Asia (27) e Iberoamérica (7,10,29). Se trata de una variedad no invasiva. Su patogenicidad es función de dos factores de virulencia: su capacidad de adhesión dada por la presencia de factores de colonización que les permite colonizar el intestino delgado y burlar la acción de arrastre del peristaltismo intestinal (4,10) y la capacidad de producir una o más enterotoxinas termolábiles (LT-1, LT-2) o termoestables (STa, STb). Algunos serotipos solo producen LT (06:K15:H16; 08:K40:H9 y 08:K25); otros LT como ST (011:H27; 015:H22; 020:H11; 025:K7:H42; 027:H7; 063:H12; 080; 085 Y 0139) y en algunos solo esta presente el tipo ST (078:H4; 078:H12; 0115:H40; 0128:H7; 0148:H28; 0149:H10; 0153; 0159:H20; 0166 Y 0167) (7).

Esta relación enterotoxina-serotipo ha conllevado a que algunos investigadores la consideren como un tercer factor de virulencia (4). El diagnóstico de ECET se realiza mediante la demostración de los tres factores de virulencia mencionados. Los más precisos son los que evalúan la producción de enterotoxinas (10). Lamentablemente, en su mayoría no son factibles de realizar en la generalidad de los laboratorios de diagnóstico microbiológico, fundamentalmente en aquellos de modestos recursos. Por ello, en muchos centros de diagnóstico, la identificación de ECET se establece mediante demostración de determinados factores de colonización (10) y el serotipo de las cepas aisladas (4). Ante la carencia de inmunosueros específicos para identificar los factores de colonización prevalentes en ECET, algunos laboratorios utilizan métodos de hemoaglutinación manosa resistente (HAMR) como opción alternativa (1).

## **E. coli enterohemorrágica (ECEH)**

Esta categoría tal vez la de más reciente estudio, forma parte de un grupo denominado E. coli verotoxigénico (ECVT) que produce una toxina diferente a las enterotoxinas y que por provocar efecto citotóxico en líneas celulares Vero (células de riñón de mono verde africano) se les denomina verotoxinas (30). La subclase ECEH la integran aquellos serotipos de ECVT capaces de provocar los síndromes colitis hemorrágica, uremia hemolítica y púrpura trombocitopénica trombótica. Su prototipo es E. coli 0157:H7 (31). Se ha demostrado que: 1) ECEH constituye flora normal intestinal de diferentes especies animales, fundamentalmente rumiantes (10,32); 2) la mayor parte de las infecciones ocurridas en EU y Canadá se debieron al consumo de carnes molidas con deficiente cocción y leches no pasteurizadas de origen bovino (30,31). Por ello, las etiologías debidas a ECEH se registran como enfermedades zoonóticas está priorizado en los sistema de vigilancia y control de numerosos países desarrollados (33). Se han reportado otras formas de transmisión que incluyen el agua y el contacto persona-persona (31). Los mecanismos que condicionan la patogenicidad de ECEH no están totalmente definidos. La mayoría de los estudios realizados al respecto han utilizado el serotipo 0157:H7 como modelo (31). En general, su patogenicidad se vincula a la capacidad de producir verotoxinas (VT1 y/o VT2). La similitud de estas con la toxina Shiga (SH), elaborada por *S. dysenteriae* tipo 1 (casi total en el caso de VT1) ha conllevado a que en ocasiones se les mencione como SHL-1 y SHL-2 (del inglés Shiga-Like Toxins). Se ha demostrado la acción de ambos tipos sobre el endotelio vascular renal y el consecuente fallo en el síndrome urémico hemolítico (34,35). Otro posible factor de virulencia lo constituye la producción de enterohemolisinas, una toxina estructural de la pared de ECEH que se sintetiza durante la fase de crecimiento estacionario y que al parecer desempeña un papel importante en la colitis hemorrágica (36). La participación de factores de colonización, diferentes a los reconocidos en ECET, que posibilitan la adhesión de ECEH ha sido un aspecto muy controvertido del cual aún no hay resultados concluyentes (10,31). ECEH, la más reciente variedad de nuestro tiempo, puede ocasionar enfermedades en un rango que va desde diarreas (escasas, acuosas, sanguinolentas) hasta manifestaciones como la uremia hemolítica y la púrpura trombocitopénica en las que el desenlace fatal no resulta un fenómeno extraordinario (31,34,35). El diagnóstico de ECEH se realiza mediante el empleo de líneas celulares Vero y Hela (células de carcinoma de cérvix humano); por ensayos de hibridación de DNA; por ELISA con anticuerpos monoclonales entre otros (31). La correspondencia existente entre presencia de enterohemolisina y producción de

verotoxinas, ha dado pie a un método de fácil realización (37), una de cuyas modificaciones se contempla dentro del plan de generalización del Sector de la Salud del año 1995 en Camaguey (38).

### **Consideraciones Generales**

La transmisión de las infecciones gastrointestinales, y su repercusión, está relacionado con el nivel de saneamiento y el desarrollo socioeconómico (8). Los logros de Cuba en lo referente a la disminución de la mortalidad infantil por este concepto, constituye un hecho incuestionable y una prueba de la efectividad de su sistema de salud pública.

¿Constituirá esta posición privilegiada dentro de los países del tercer mundo una prueba de la inoperatividad del diagnóstico de E. coli en nuestro país?

Por supuesto que no...

Este siglo ha demostrado que el diagnóstico ha de estar, como mínimo, a la altura de la terapia, pues siempre prevenir será mejor que curar. La alta frecuencia de presentación de ECET en toda Iberoamérica; las condiciones atípicas que afronta el país en esta etapa de período especial, con condiciones higiénico-sanitarias propicias a los enteropatógenos en general; el desconocimiento de gran parte del personal de la salud con respecto a ECEH, la gravedad de algunos de los cuadros ocasionados por esta última variedad de E. coli, constituyen razones suficientes de la necesidad de establecer, sin la menor dilación, técnicas de diagnóstico que posibiliten, al menos, la identificación de estas variedades. En tal sentido la hemoaglutinación manosa resistente (HAMR) y la determinación de enterohemolisina pueden constituir opciones al alcance de cualquier laboratorio de diagnóstico microbiológico.

### **REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS**

- 1- Escherich T. Die darmbakterium des neugeborenen und sauglängs. Fortschritte der Medizin 1885; 3: 515-22.
- 2- Kauffman F. The serology of coli group. J Immunol 1947; 572: 71-100.
- 3- Orskov F, Orskov I. Serotyping of E. coli. En Methods in microbiology. London: Editorial T Bergan. Academic Press 1984; 43-112.
- 4- Orskov F, Orskov I. E coli serotyping and disease in man and animals. Can J Microbiol 1992; 38:699-704.

- 5- Edwards PR, Ewing WH. The genus *Escherichia*. En : Edwards and Ewing`s identification of Enterobacteriaceae. 4ed. New York:Elsevier 1986: 93-104.
- 6- Drasar BS, Hill MJ. The distribution of bacterial flora in the intestine. En Human intestinal flora. London: Academic Press 1974; 36-43.
- 7- Valdespino JL, García ML, del Río A. Epidemiología y etiología de las diarreas infecciosas. El caso de México. Rev lat-amer Microbiol 1994; 36:307-324.
- 8- WHO. Global health situation. I Wer 1992; 45:337.
- 9- Hullan S, Guang ZL, Mathan R. Etiology of acute diarrhea among children in developing countries: A multicentre study in five countries. Bull WHO 1991; 89:542.
- 10-Blanco J, Blanco M. *E. coli* enterotoxigénicos, necrotoxigénicos y verotoxigénicos de origen humano y bovino. Patogénesis, epidemiología y diagnóstico microbiológico. Galicia, España: Ed Servicio de Publicaciones Diputación Provincial. 1993: 7-53.
- 11-Robins Browne RM. Traditional EPEC on infantile diarrhea. Rev Infect Dis 1987, 9:28-53.
- 12-Cleary TG, Mathewson JJ, Faris E. Cytotoxin producing *E. coli* and the hemolytic uremic syndrome. Pediatr Clin North Am 1988; 35:485-501.
- 13-Donnenberg MSA, Donohue Rolfe A, Keusch GT. Epitelial cell invasion: An over looked property of EPEC associated with the EPEC adherent factor. J Infect Dis 1989; 16:435-39.
- 14-Levine MM, Nataro JP, Kach H. The diarrheal response of human to some classic serotypes of EPEC is dependent on a plasmid encoding an enteroadhesiveness factor.
- 15-Johnson WH, Lior H. Response of Chinese hamster ovary cells to a cytolethal distending toxin (CDT) of *E. coli* an possible misinterpretation as heat-labile (LT) enterotoxine. FEMS. Microbiol Lett 1987; 43:19-23.
- 16-Gicquelais KG, Baldini MM, Martínez J. Practical and economical method for using biotinylated DNA probes with bacterial colony blots to identify diarrhea-causing *E. coli*. J Clin Microbiol 1990; 28 2485-90.
- 17-Dupont HL, Formal SB, Horhick RB. Pathogenesis of *E. coli* diarrhea. N. Engl J Med 1971; 285:1-9.
- 18-Levine MM. *E. coli* that cause diarrhea: ETEC, EPEC, EIEC, EHEC and EAEC. J Infect Dis 1987; 155:377-89.
- 19-Prats G, Llovet T, EIEC. Patogenia y epidemiología. Microbiología SEM 1995; 11:91-96.
- 20-Benítez O, Uribe F, Navarro A. Etiología de diarrea con sangre en niños de una comunidad rural. Bol Med Hosp Infant (Mex) 1991; 48:65-70.

- 21-Suárez GJ, Flores JS, Heredia M. Prevalencia de bacterias enteropatógenas en niños con diarrea aguda con sangre. *Bol Med Hosp Inf (Mex)* 1993; 50:151-56.
- 22-Serény B Experimental Shigella keratoconjunctivitis. A preliminary report. *Acta Microbiol Acad Sci Hung* 1955; 2:293-96.
- 23-Toledo MRF, Trabulsi LR. Correlation between biochemical and serological characteristics of E. coli and results of the Serény test. *J Clin Microbiol* 1983; 17:419-21.
- 24-Pál T, Pácsa AS, Emódy L. Modified ELISA for detecting EIEC and virulent Shigell strains. *Clin Microbiol* 1985; 21:415-18.
- 25-Echeverría P, Taylor DN, Seriwatana J. otencial sources of ETEC in homes of children with diarrroea in Tailand. *Bull WHO* 1987; 65:207-15.
- 26-Chapman PA, Mitchelmore DL. A two years survey of the incidence of heat labile enterotoxin-producing E. coli and other enteric pathogens in travellers returning to Sheffield area. *Epidem Inf* 1988; 101:239-477.
- 27-Black RE, Merson MH, Raham ASMM. Two years study of the bacterial, viral and parasitic agents associated with diarrhoea in rural Blangladesh. *J Infect Dis* 1980; 142: 660-64.
- 28-Stintzing G, Back E, Tutbesson B. Seasonal fluctuations in the ocurrence of enterotoxigenic bacteria and Rotavirus in pediatric diarrhea in Addis Abeba. *Bull WHO* 1981; 59:67-73.
- 29-Agüero ME, Reyes L, Prado V. ETEC in a population of infants with diarrhea in Chile. *J Clin Microbiol* 1985; 22:576-81.
- 30-Karmali MA. Infection by verocytotoxin-producing E. coli. *Clin Microbial Rev* 1989; 2:115-38.
- 31-Padhye NV, Doyle MP. E. coli 0157:H7: Epidemiology pathogenesis and methods for detection in food. *J Food Protect* 1992; 55:555-65.
- 32-Beutin L, Geier D, Steinruck A. Prevalence and some properties of verotoxin (Shiga-Like Toxins) producing E. coli in seven different species of healthy domestic animals. *J Clin Microbiol* 1993, 31:2483-88.
- 33-Will L. Controlling food-borne infection. En: Spanish Book of lectures of the International Ag-Tech Schools in Cuba. Camagüey Cuba. Junio 1995: 104-6.
- 34-Robson WL, Leung AK, Kaplan BS. Hemolytic-uremic syndrome. *Curr Probl Pediatr* 1993; 23:16-33.
- 35-Blanco JE, Blanco M, Blanco J. ETEC, VTEC y NCEC en alimentos y en muestras clínicas. Papel de los animales como reservorios de cepas patógenas para el hombre. *Microbiología SEM* 1995; 11:97-110.

36-Beutin L. The different hemolysins of E. coli. Mini review. Med Microbiol Inmunol 1991; 180:167-82.

37-Beutin L, Montenegro MA, Orskov I. Close association of verotoxin (Shiga-Like Toxin) production with enterohemolysin production in strains of E. coli. J Clin Microbiol 1989; 27:2559-64.

38-Barreto G, Técnica para el diagnóstico de E. coli verotoxigénico (VTEC). Rev Prod Anim 1996 (en impresión).

Recibido: 25 de enero de 1996

Aprobado: 8 de octubre de 1996