

Aislamiento de *Escherichia coli* productor de toxina Shiga durante un brote de gastroenteritis en un Jardín Maternal de la Ciudad de Mar del Plata

D. GOMEZ¹, E. MILIWEBSKY^{2*}, A. SILVA¹, N. DEZA², C. ZOTTA¹, O. COTELLA¹,
E. MARTÍNEZ ESPINOSA², I. CHINEN², C. FERNÁNDEZ PASCUA¹, M. RIVAS²

¹Laboratorio de Bacteriología, Instituto Nacional de Epidemiología "Dr. Juan H. Jara" - ANLIS "Dr. Carlos G. Malbrán". Ituzaingó 3520, (7600) Mar del Plata, Argentina, ²Servicio Fisiopatogenia, Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas - ANLIS "Dr. C. G. Malbrán".

Av. Vélez Sarsfield 563, (1281) Buenos Aires, Argentina.

*Correspondencia. E-mail: emiliwebsky@anlis.gov.ar

RESUMEN

Entre el 15 de octubre y el 8 de noviembre de 2003 ocurrió un brote de gastroenteritis en un Jardín Maternal de un Hospital de la ciudad de Mar del Plata. Catorce de un total de 80 niños (17,5%), edad promedio 23,6 ± 13,9 meses, presentaron diarrea, y un caso evolucionó a síndrome urémico hemolítico. La madre de uno de los afectados presentó diarrea simultáneamente. No se pudo establecer el origen del brote, pero probablemente la transmisión haya sido fundamentalmente persona a persona. Las prácticas habituales en el lactario del jardín maternal, y las condiciones inadecuadas de infraestructura y hábitos de higiene de la cocina del Hospital fueron señalados como factores de riesgo. En un caso se detectó *Escherichia coli* productor de toxina Shiga (STEC) O103:H2, y STEC O26:H11 en otro. En el niño infectado por STEC O26:H11, la excreción se extendió por un período de 37 días. La no detección de STEC en aquellos casos en los cuales el intervalo entre el inicio de los síntomas y la toma de muestra fue mayor a 6 días, enfatiza la necesidad de la recolección temprana de especímenes. Las principales conclusiones de este estudio fueron la necesidad de establecer normas óptimas de higiene, informar rápidamente la ocurrencia de casos de gastroenteritis y confirmar la negativización de la excreción del patógeno.

Palabras clave: brote de gastroenteritis, STEC O103:H2 y O26:H11, excreción prolongada

SUMMARY

Isolation of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* strains during a gastrointestinal outbreak at a day care center in Mar del Plata City. From October 15 to November 8, 2003, a gastrointestinal outbreak occurred at a day care center in a Hospital in Mar del Plata City. Fourteen out of 80 (17.5%) children, mean age 23.6 ± 13.9 months, and the mother of one of them had diarrhea. One case developed hemolytic uremic syndrome. No conclusive evidence of the origin of the outbreak was found, but the epidemic curve suggested person-to-person spread. The usual practices at the place where infant milk formula was prepared at the day care center, together with the inadequate infrastructure conditions and hygiene practices at the kitchen of the hospital, were considered risk factors. One case had Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) O103:H2 infection and other STEC O26:H11. The duration of shedding for the child with O26:H11 infection was 37 days. In the other symptomatic children, the pathogen was not recovered from fecal samples collected 6 or more days after the onset of the illness. This emphasizes that the collection of early samples is necessary to recover STEC strains. In order to prevent and control enteric diseases in day care facilities the following measures are necessary: optimal hygiene standards, early case reporting, and exclusion of those who remain culture-positive.

Key words: gastrointestinal outbreak, STEC O103:H2 and O26:H11, long-term shedding

INTRODUCCIÓN

Escherichia coli productor de toxina Shiga (STEC) es un patógeno emergente transmitido por alimentos, asociado a casos esporádicos y a brotes de diarrea con o sin sangre, colitis hemorrágica y síndrome urémico hemolítico (SUH) (18). En los últimos años el número de brotes notificados ha aumentado debido a cambios en la producción, procesamiento y distribución de alimentos, en los

hábitos de consumo, y en la utilización de métodos más sensibles de detección. Si bien en numerosos países STEC O157:H7 es el serotipo más frecuentemente identificado (13), otros serotipos como O26:H11, O103:H2, O111:NM, O113:H21 y O145:NM, también han sido implicados como causantes de enfermedad humana severa (3, 24, 30). A diferencia de lo que ocurre con *E. coli* O157, el resto de los serotipos no tienen una característica bioquímica distintiva que facilite su detección y caracterización.

El consumo de alimentos contaminados, principalmente los de origen bovino, el contacto directo e indirecto con animales y la transmisión persona a persona han sido señalados como las vías más importantes de transmisión de STEC (7). Esta última vía de infección ha sido documentada en jardines maternales y de infantes, y en centros de asistencia a enfermos mentales, entre otros (15,19). Los niños y adultos que asisten a estos establecimientos constituyen los principales grupos de riesgo, fundamentalmente debido a posibles fallas en los hábitos de higiene que pueden producirse en estas instituciones cerradas de cuidado diario. El riesgo se incrementa debido a la baja dosis infectiva del patógeno (2).

En la Argentina, el SUH es la primera causa de insuficiencia renal aguda en la edad pediátrica. Según datos notificados por los principales centros y jurisdicciones del país al Servicio Fisiopatogenia y al Comité de Nefrología de la Sociedad Argentina de Pediatría, la incidencia estimada para el año 2003 fue del 11,5 por 100.000 niños menores de 5 años (datos no publicados). Desde 1965 hasta el presente se han acumulado más de 7.000 casos (22). Si bien en nuestro país se ha confirmado la asociación entre casos esporádicos de SUH y de diarreas con la infección por STEC (14), no existen datos bien documentados de la ocurrencia de brotes relacionados con esta categoría de *E. coli*.

En este trabajo se describe un brote de gastroenteritis ocurrido entre el 15 octubre y el 8 de noviembre de 2003, en un Jardín Maternal de un Hospital de la ciudad de Mar del Plata.

MATERIALES Y MÉTODOS

El día 5 de noviembre de 2003, profesionales de un Hospital comunicaron al Instituto Nacional de Epidemiología "Dr. Juan H. Jara" (INE) la ocurrencia de 13 casos de diarrea y un caso de SUH, en el Jardín Maternal al que asistían 80 niños de 3 meses a 5 años de edad. Ese día, el INE comenzó el estudio epidemiológico y microbiológico del evento.

De acuerdo a la metodología de investigación de brote (8) se definió como "caso" a todo concurrente al Jardín Maternal del hospital que presentó diarrea aguda o SUH en el período comprendido entre octubre y noviembre de 2003. Diarrea aguda fue definida como un aumento del número de deposiciones de menor consistencia y de mayor volumen; y SUH como enfermedad aguda caracterizada por anemia hemolítica microangiopática, trombocitopenia e insuficiencia renal aguda.

Durante la investigación epidemiológica se realizó: 1- la denuncia de los casos en la Región Sanitaria VIII de la ciudad de Mar del Plata; 2- el registro de los casos en las fichas clínico-epidemiológicas del SI.NA.VE (Sistema Nacional de Vigilancia epidemiológica); 3- la caracterización de la población expuesta; 4- los estudios a contactos familiares de los casos; 5- la visita al Jardín Maternal para observar su estado general, los hábitos de higiene y el registro de enfermedades infecciosas ocurridas con anterioridad al brote; 6- el relevamiento y toma de muestras del área de recepción y de elaboración de alimentos en la cocina del hospital y en la empresa de catering; 7- el seguimiento de los casos con aislamiento positivo para determinar el tiempo de excreción del microorganismo.

Entre los días 5 y 17 de noviembre de 2003, el Servicio de Bacteriología del INE recibió 6 muestras de materia fecal y 9 hisopados rectales pertenecientes a 13 niños y un adulto, que habían comenzado con síntomas de diarrea durante el período comprendido entre el 5 de octubre y el 8 de noviembre del mismo año. Los hisopados rectales mantenidos en el medio de transporte Cary Blair (Difco, Laboratorios, Detroit, MI) y la materia fecal recogida por evacuación espontánea en recipientes estériles, fueron conservados a 4 °C y procesados según protocolo estandarizado para la detección de enteropatógenos (4) dentro de las 24 hs. de recibidas en el laboratorio. También se remitió a ese laboratorio un aislamiento de *E. coli* perteneciente a una niña que había comenzado con síntomas de diarrea el día 17 de octubre y que luego fue internada en una clínica privada con diagnóstico clínico de SUH. Para la identificación de cepas STEC los especímenes de materia fecal, hisopado rectal y el aislamiento de *E. coli* se sembraron en placas de agar MacConkey con sorbitol (Difco, Laboratorios, Detroit, MI) e incubadas a 37° durante 18 hs. (25). Se realizó la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR-múltiple) de la zona de crecimiento confluyente y de las colonias presuntivas utilizando los oligonucleótidos o "primers" específicos que amplifican los fragmentos de los genes de las toxinas Shiga 1 y 2 (Stx1, Stx2) (20). La caracterización genotípica de los marcadores de virulencia accesorios, *eae* y enterohemolisina EHEC-Hly, se efectuó también por PCR según lo descrito por Ganon y col. (6), y por Schmidt y col. (23) respectivamente.

Las muestras de materia fecal para la detección de toxina Shiga libre (StxMF), de suero para la detección de anticuerpos neutralizantes anti-toxina Shiga (a-Stx) y los aislamientos *stx*-positivos para completar la caracterización fenotípica, fueron enviadas al Servicio de Fisiopatogenia del Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas-ANLIS "Dr. C. G. Malbrán". La detección de StxMF se realizó por la técnica de neutralización del efecto citotóxico en células Vero, empleando los anticuerpos monoclonales Stx1 (MAb 13C4) y Stx2 (MAb BC5BB12), cedidos gentilmente por la Dra. NA Strockbine, Center for Infectious Diseases, Atlanta, GA, EE.UU. (11). La determinación de anticuerpos a-Stx en los sueros de los pacientes, se realizó por ensayos de neutralización del efecto citotóxico en células Vero, utilizando 4 DC50 de toxinas de cepas de referencia [981 (Stx1); 1271 (Stx2)] (11). La subtipificación de los aislamientos de STEC se cumplimentó con la aplicación de la técnica de macrorrestricción con la enzima *Xba*I y separación por electroforesis de campos pulsados (*Xba*I-PFGE), según el protocolo estandarizado por el Center for Diseases Control, Atlanta, GA, EE.UU., con algunas modificaciones (5).

A los niños con aislamiento STEC-positivo se les realizaron coprocultivos cada 10 días para establecer el tiempo de excreción.

Se tomaron muestras de materia fecal de los convivientes de los casos con aislamiento STEC-positivo, para la búsqueda de STEC y StxMF.

Al no disponer de muestras de alimentos consumidos durante el brote, los profesionales de Fiscalización Sanitaria de la Región Sanitaria VIII procedieron a tomar muestras de alimentos (milanesas, bifés y puré de zapallo y zanahoria) en otra institución atendida por la misma empresa de catering. Dada la imposibilidad de realizar el análisis de las muestras en dependencias de Bromatología de la Municipalidad del Partido de General Pueyrredón, las mismas se remitieron al Laboratorio Central de Salud Pública de la Provincia de Buenos Aires. Las muestras se procesaron para la identificación de patógenos comunes según normas estipuladas en el Código Alimentario Argentino. En particular, para el aislamiento e identificación de *E. coli* O157 se utilizó el protocolo de análisis recomendado por el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (31) y recientemente incorporado al Código Alimentario Argentino (Ley 18284, Artículos 255 y 302).

RESULTADOS

Caracterización de los casos

Durante el período anteriormente citado se presentaron 14 casos de gastroenteritis en niños asistentes al Jardín y un caso en un adulto, madre de uno de los niños (Tabla 1). El caso N° 2 correspondió a una niña de 12 meses, que presentó diarrea sanguinolenta durante 6 días. A los 9 días de finalizada la diarrea, la niña evolucionó a SUH. El caso N° 10 correspondió a un adulto de 35 años, madre de uno de los niños (caso N° 5), y maestra jardinera de un Jardín de Infantes lindero al Jardín Maternal, quien comenzó con diarrea a los 5 días del inicio de los síntomas en su hijo. Ninguno de los afectados recibió tratamiento con antimicrobianos. La edad media de los niños afectados fue de $23,6 \pm 13,9$ meses [rango 9- 60 meses]. El 71,4% era de sexo masculino. La tasa de ataque fue de 17,5% (14/80). En la figura 1 se presenta la curva epidémica de los casos de gastroenteritis del Jardín Maternal y de la madre de uno de los niños afectados. La duración del brote fue de 25 días. Ninguno de los contactos familiares consultados presentó síntomas de diarrea durante el período del brote de gastroenteritis.

Características del Jardín Maternal y de la cocina del Hospital

El Jardín Maternal no poseía un registro de enfermedades infecciosas, por lo cual no pudo efectuarse un análisis retrospectivo sobre la frecuencia de aparición de este tipo de eventos en dicha población.

La comida era elaborada por una empresa de catering que proveía al hospital 400 raciones diarias. Cincuenta de los 80 niños almorzaban y sólo 6 cenaban en el Jardín. Los niños de 3 a 18 meses, recibían un menú que consistía en puré de zapallo, de papa o mixto, polenta con queso, fideos con queso, acelga con salsa blanca, arroz con bife, pollo o huevo. Para los niños de 18 meses a 5 años, el menú consistía en milanesas, albóndigas, hamburguesas, pan de carne, pollo o bife acompañado por puré de papas, arroz amarillo, arroz blanco, ensalada de papa con huevo, fideos con salsa a la bolognesa. A este menú se agregaba raviolos de origen comercial los cuales eran cocinados en el Jardín Maternal. En el mismo también se elaboraban las fórmulas lácteas y la merienda.

En el relevamiento de las instalaciones del lactario del Jardín Maternal se constató que el cambio de pañales de los niños se efectuaba a sólo dos metros de dis-

Tabla 1. Caracterización de los casos de gastroenteritis ocurridos en el Jardín Maternal de la Ciudad de Mar del Plata desde el 15 de octubre al 8 de noviembre de 2003

Caso N°	Edad (meses)	Tipo de diarrea	IS ¹	TM ²	Días IS-TM	Espécimen	Aislamiento de STEC	StxMF
1	22	Acuosa	15/10/03	06/11/03	22	HR ³	Neg ⁴	Neg
2	12	Blanda sanguinolenta	17/10/03	Sin dato	Sin dato	Aislamiento	Neg	Neg
3	23	Mucosa	21/10/03	05/11/03	15	HR	Neg	Neg
4	36	Líquida	24/10/03	05/11/03	12	HR	Neg	Neg
5	60	Acuosa oscura	25/10/03	05/11/03	11	MF ⁵	Neg	Neg
6	16	Líquida	26/10/03	05/11/03	10	HR	Neg	Neg
7	24	Acuosa	27/10/03	05/11/03	9	HR	Neg	Neg
8	8	Acuosa con sangre	27/10/03	06/11/03	10	MF e HR	Neg	Neg
9	16	Acuosa	28/10/03	05/11/03	8	MF	Neg	Neg
10	420	Semi-sólida	30/10/03	05/11/03	6	HR	Neg	Neg
11	9	Mucosa	02/11/03	05/11/03	3	MF	O26:H11, Stx1	Stx1MF
12	11	Semi-sólida	03/11/03	05/11/03	2	HR	O103:H2, Stx1	Neg
13	30	Sin dato	05/11/03	17/11/03	12	MF	Neg	Neg
14	32	Sin dato	05/11/03	17/11/03	12	MF	Neg	Neg
15	32	Sin dato	08/11/03	11/11/03	3	HR	Neg	Neg

¹IS: fecha inicio de síntomas; ²TM fecha toma de muestra; ³HR: hisopado rectal; ⁴Neg: negativo; ⁵MF: materia fecal

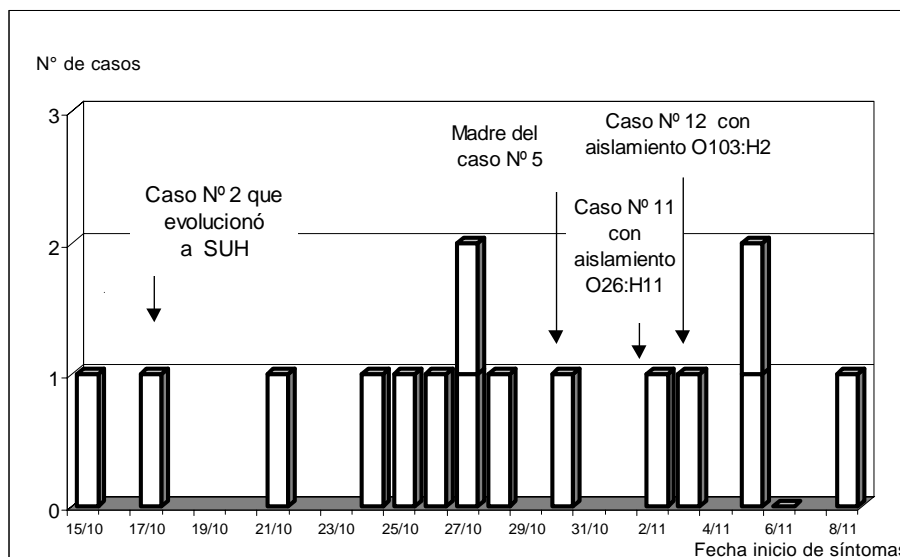


Figura 1. Curva epidémica de casos de gastroenteritis ocurridos en el Jardín Maternal de la Ciudad de Mar del Plata desde el 15 de octubre al 8 de noviembre de 2003.

tancia de la zona donde se preparaban las fórmulas lácteas.

Durante la visita a la cocina del hospital se observó deterioro de azulejos que cubrían las paredes y del cielo raso, ausencia de mosquiteros, falta de higiene y mantenimiento de la campana de extracción, ausencia de piletas habilitadas para el lavado de manos y falta de delimitación de las áreas limpia y sucia. Los baños estaban clausurados y el personal debía concurrir para su higiene a instalaciones que se encontraban fuera del área de la cocina.

Estudios Microbiológicos

En dos de los 15 casos estudiados se detectó STEC no-O157. En un niño de 9 meses (caso Nº 11), que tuvo diarrea a 18 días de iniciado el brote, se identificó STEC O26:H11. En otro niño de 11 meses (caso Nº 12) que tuvo diarrea a 19 días de iniciado el brote, se identificó STEC O103:H2. En los casos 11 y 12, el período entre el inicio de los síntomas y la toma de muestra fue de 3 y 2 días, respectivamente (Tabla 1). Ambos aislamientos se caracterizaron como *stx1* / *eae* / EHEC-*hlyA*.

El primer y segundo control efectuado en el niño con infección por STEC O103:H2, a los 15 y 29 días posteriores al inicio de los síntomas, fueron negativos. En cambio, en el niño con infección por STEC O26:H11, la excreción fue positiva por un período de 37 días a partir del inicio de los síntomas (Tabla 2). Por *Xba*I-PFGE, los aislamientos positivos de los diferentes controles de excreción realizados a los 17, 30 y 37 días desde el inicio de los síntomas, presentaron el mismo patrón de restricción (Figura 2).

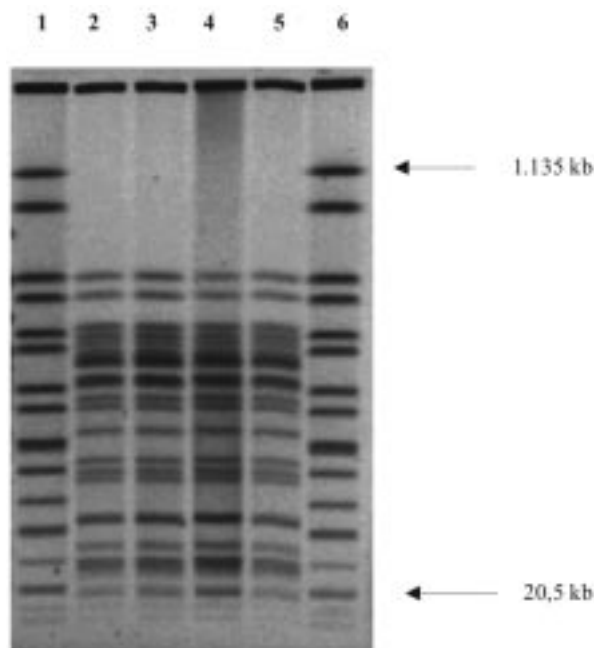


Figura 2. Patrones de restricción obtenidos por *Xba*I-PFGE correspondientes al aislamiento inicial y de los diferentes controles de excreción de STEC O26:H11. Calles: 1y 6 *Salmonella* Braenderup; 2, aislamiento inicial; 3, aislamiento 1º control; 4, aislamiento 2º control; 5, aislamiento 3º control.

La detección de Stx1MF fue positiva en el niño con infección por STEC O26:H11 por un período de 17 días a partir del inicio de los síntomas (Tabla 2).

No se detectaron anticuerpos a-Stx en los sueros estudiados. Tanto el coprocultivo como la detección de

Tabla 2. Control de la excreción en los niños con aislamiento positivo de STEC no-O157

Caso N°	Muestra N°	Días IS ¹ -TM ²	STEC	Stx1MF
11	Inicial	3	O26:H11/Stx1/eaε/EHEC-Hly	Stx1MF
	1° Control	17	O26:H11/Stx1/eaε/EHEC-Hly	Stx1MF
	2° Control	30	O26:H11/Stx1/eaε/EHEC-Hly	Neg
	3° Control	37	O26:H11/Stx1/eaε/EHEC-Hly	Neg
	4° Control	57	Neg ³	Neg
	5° Control	74	Neg	Neg
12	Inicial	2	O103:H2/Stx1/eaε/EHEC-Hly	Neg
	1° Control	15	Neg	Neg
	2° Control	29	Neg	Neg

¹IS: inicio de síntomas; ²TM: toma de muestra; ³Neg: negativo

StxMF de los contactos familiares fueron negativos. Las muestras de alimentos analizadas resultaron negativas para la búsqueda de patógenos comunes.

DISCUSIÓN

Luego de los análisis realizados, no se pudo establecer el origen del brote de gastroenteritis. Ningún alimento pudo ser señalado como fuente de infección. Los casos 2 y 3 se presentaron dentro del período mínimo (2 días) y el período máximo (8 días) de incubación para STEC respecto al caso índice, por lo que se podría atribuir una fuente común de infección. Por otro lado, de acuerdo a los resultados de laboratorio, sólo se puede inferir que al menos dos cepas estuvieron implicadas en el brote y que por la extensión del mismo (25 días) probablemente la transmisión haya sido persona a persona. Esta vía de transmisión ha sido relacionada con brotes por STEC en diferentes Instituciones de cuidado diario (1, 9, 15). En la descripción del presente brote las prácticas habituales en el lactario del Jardín Maternal, las condiciones inadecuadas de infraestructura de la cocina del Hospital y los hábitos de higiene fueron señalados como factores de riesgo. Con el fin de minimizar este tipo de eventos, se instauraron las siguientes medidas: a- Se estableció un nuevo menú considerado de bajo riesgo para los niños, evitando la carne picada, pastas rellenas, huevos insuficientemente cocidos, helados a base de crema, etc. b- Se separaron, en ambientes diferentes del Jardín Maternal, las áreas de cambio de pañales y la de preparación de fórmulas lácteas. c- Se abrió en el Jardín Maternal un registro de enfermedades infecciosas supervisado periódicamente por un médico pediatra.

En dos casos de diarrea se detectó *E. coli* O103:H2 y O26:H11 con capacidad patogénica para producir enfermedad severa en el hombre. Estos dos serotipos han sido asociados a brotes y casos esporádicos de colitis hemorrágica y SUH en distintas partes del mundo (12, 33). En la Argentina, la frecuencia de aislamiento de

STEC O26:H11 en casos esporádicos de diarrea y SUH se ubica en tercer lugar luego de *E. coli* O157:H7 y *E. coli* O145:NM (22).

La detección de STEC O103:H2 y O26:H11 se realizó en aquellos casos en los cuales el intervalo entre el inicio de los síntomas y la toma de muestra fue menor (Tabla 1). Durante la investigación de los dos primeros brotes asociados a *E. coli* O157:H7, ocurridos en 1982, el patógeno no fue recuperado de ninguna de las 7 muestras de materia fecal recolectadas a los 7 o más días después del inicio de los síntomas, mientras que sí fue recuperado de 9 de 12 muestras recolectadas dentro de los 4 días posteriores al inicio de los síntomas (32). Tarr y col. (29) recuperaron STEC O157 de niños con SUH en el 33% de las muestras de materia fecal recolectadas después de 7 o más días y en el 96% de las muestras obtenidas antes de los 7 días de iniciada la diarrea. Ante la presentación de un caso clínico compatible con la infección por STEC, es necesario aplicar en forma temprana los protocolos de detección utilizando técnicas sensibles que permitan identificar el patógeno, y de esta manera implementar rápidamente medidas de control. En general, las cepas STEC no-O157 no poseen una característica bioquímica distintiva que facilite su aislamiento del resto de las *E. coli* no patógenas. Por lo tanto, es necesaria la aplicación de técnicas que permitan detectar las toxinas Stx o los genes que las codifican. En este trabajo, la técnica de PCR para la detección de los genes *stx1* y *stx2* facilitó la identificación de dos cepas STEC no-O157. Es importante destacar que la detección de las toxinas sin el aislamiento del microorganismo provee escasa información para posteriores estudios epidemiológicos.

Un brote de SUH o de diarrea con o sin sangre, asociado con la infección por esta categoría de *E. coli*, no necesariamente está relacionado con un solo serotipo de STEC. Paton y col. (17) describió un brote ocurrido en Australia en 1995, asociado con el consumo de embutidos semi-secos fermentados. Una variedad de

serogrupos de STEC relacionados con el brote fueron aislados de casos de SUH (O111, O160 y O157) y de casos de diarrea con o sin sangre (O26, O91, O123 y O128). En el embutido no sólo se pudo aislar las cepas O111 y O91 indistinguibles de las aisladas en los casos humanos, sino también otras pertenecientes a otros serogrupos no aislados en los pacientes.

El aislamiento del agente etiológico es considerado el criterio de diagnóstico definitivo. Sin embargo, la detección de StxMF y anticuerpos anti-Stx son otros criterios que lo confirmarían. En este estudio se obtuvieron resultados serológicos negativos utilizando el ensayo de sero-neutralización en células Vero, tanto en los casos con aislamiento positivo como negativo. Raymond y col. (21) destacaron que las técnicas para la determinación de anticuerpos anti-Stx1, como los ensayos de neutralización en células Vero, ELISA y Western Blot (WB), serían de utilidad para estudios sero-epidemiológicos y de escaso valor para el diagnóstico de la infección en etapa aguda. La insuficiente respuesta inmune que dispararía la primera infección por STEC, podría explicar los resultados negativos obtenidos en aquellos casos con aislamiento positivo. Además, Reymon y col. (21) propusieron al WB como la "técnica de oro" para la detección de anticuerpos anti-Stx dado que presenta mayor sensibilidad y especificidad que los ensayos de sero-neutralización y ELISA. Por lo tanto, un resultado positivo para anticuerpos anti-Stx, confirmaría que el individuo estuvo en contacto con el microorganismo. Sin embargo, la obtención de un resultado negativo no descartaría la probable infección, dado que dicho resultado podría ser la consecuencia de una débil respuesta inmune o de la utilización de un ensayo de baja sensibilidad.

En el presente trabajo se observó que la excreción de STEC O103:H2 fue negativa a los 15 días posteriores del inicio de los síntomas, mientras que la excreción de O26:H11 fue continua y por un periodo de 37 días. Diversos trabajos han descrito que la excreción de STEC O157 en humanos es prolongada e intermitente (27). En cambio para STEC no-O157 la información disponible es escasa. Shah y col. (26) han descrito que la duración media de la excreción de STEC O157 (intervalo desde el inicio de la diarrea hasta el primero de dos coprocultivos sucesivos negativos) fue de 29 días (rango 11-57) en 12 niños que formaron parte de un brote en una institución de cuidado diario; en 11 de estos niños la excreción fue mayor a 3 semanas. Además se ha observado que la duración de la excreción es inversamente proporcional a la edad del infectado. En niños pequeños, a diferencia de lo que ocurre en niños mayores y adultos, el tiempo de excreción de O157 supera ampliamente el tiempo de resolución de los síntomas. En un estudio realizado en Canadá, en el 53% de niños menores de 4 años, la excreción de STEC O157 se extendió por más de 3 semanas de iniciado los síntomas, mientras que solo en el 8% de niños mayores y adultos (16).

Por lo tanto, teniendo en cuenta que la excreción de STEC puede ser prolongada y que puede continuar aun en ausencia de síntomas, es importante determinar en cada caso la negativización de la excreción.

En el presente estudio STEC O26:H11 mantuvo su potencial infectante-patogénico y no se observaron modificaciones en el patrón de macrorrestricción obtenido por Xbal-PFGE. Contrariamente, Karch y col. (10) describieron cambios en los patrones de restricción entre los primeros y últimos aislamientos de *E. coli* O157, en tres de siete casos con excreción prolongada.

Dada la severidad de las enfermedades asociadas a la infección por STEC, la baja dosis infectiva del patógeno y las características de la excreción, es necesario difundir e implementar medidas de control para evitar su transmisión. El personal y los niños con diarrea, que asisten a las instituciones de cuidado diario, no deben reincorporarse a esos centros hasta la resolución de los síntomas, tengan o no identificado el patógeno. Además, dado que la excreción de STEC puede ser intermitente, no debe permitirse el reingreso a la Institución de todo niño o adulto con infección por STEC, sintomático o asintomático, hasta no tener dos o tres coprocultivos negativos sucesivos con intervalos de 48 hs. (27).

Debemos tener en cuenta que el funcionamiento de un Sistema de Vigilancia Epidemiológica de las Enfermedades Transmitidas por Alimentos (ETA) siempre está relacionado con el grado de desarrollo de los servicios disponibles a nivel local y regional. El SUH y las infecciones por STEC son eventos trazadores de ETA. Por lo tanto, consideramos que para poder realizar acciones de prevención y control en el momento oportuno, es necesario contar con el apoyo de laboratorios de Bromatología integrados a una red de vigilancia de las enfermedades asociadas a STEC que permita identificar el agente etiológico, y así contribuir convenientemente a reconocer la fuente y el modo de transmisión de manera de controlar la dispersión del brote.

Agradecimientos: Los autores agradecen a la Dra. Mariana Hualde por su inestimable ayuda en la obtención de especímenes clínicos durante la investigación del brote.

Este trabajo fue parcialmente financiado por la Fundación Alberto J. Roemmers.

BIBLIOGRAFÍA

1. Belongia EA, Osterholm MT, Soler JT, Ammend DA, Braun JE, MacDonald KL (1993) Transmission of *Escherichia coli* O157:H7 infection in Minnesota child day-care facilities. *JAMA*. 269: 883-888.
2. Dorn CR (1993) Review of foodborne outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infection in the western United States. *JAMA*. 203: 1583-1587.
3. Dorn CR, Scotland SM, Smith HR, Willshaw GA, Rowe B (1989) Properties of Verocytotoxin-producing *Escherichia coli* of human and animal origin belonging to serogroups other than O157:H7. *Epidemiol. Infect.* 103: 83-95.

4. Edwards & Ewing (1986) Identification of Enterobacteriaceae. En: Ewing WH (Ed). 4th Edition. Elsevier, New York, NY, EE.UU.
5. Foodborne and Diarrheal Diseases Branch, Division of Bacterial and Mycotic Diseases, National Center for Infectious Diseases, Centers for Disease Control and Prevention, (1998) Standardized Molecular Subtyping of Foodborne Bacterial Pathogens by Pulsed-Field Gel Electrophoresis. A Training manual, Atlanta, GA, Estados Unidos de América.
6. Gannon VP, Rashed M, Kin RK, Thomas EJ (1993) Detection and characterization of the *eae* gene of Shiga like toxin-producing *Escherichia coli* using polymerase chain reaction. J. Clin. Microbiol. 31: 1268-1274.
7. Griffin PM, Tauxe RV (1991) The epidemiology of infections caused by *Escherichia coli* O157:H7, other enterohemorrhagic *E. coli*, and the associated hemolytic uremic syndrome. Epidemiol. Rev. 13: 60-98.
8. Instituto Nacional de Epidemiología "Dr. Juan H. Jara" – Administración Nacional de Laboratorios e Institutos de Salud "Dr. Carlos G. Malbrán" (2001) Investigación de Brote. En: Enfermedades Transmitidas por Alimentos, módulo 4.
9. Jader LA, Salmon RL, Walker AM, Williams HM, Willshaw GA, Cheasty T. Outbreak of *Escherichia coli* O157 in a nursery: lessons for prevention. Arch. Dis. Child 1999; 1999; 81: 60-63.
10. Karch H, Russman H, Schmidt H (1995) Long-term shedding and clonal turnover of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157 in diarrheal diseases. J. Clin. Microbiol. 33: 1602-1605.
11. Karmali MA, Petric M, Lim C, Fleming PC, Arbus GS, Lior H (1985) The association between idiopathic hemolytic uremic syndrome and infection by verotoxin-producing *Escherichia coli*. J. Infect. Dis. 151: 775-782.
12. Kurkdjian PM, Denamur E, Milon A, Picard B, Cave H, Lambert-Zechovsky N, et al (1993) Identification of clone of *Escherichia coli* O103:H2 as a potential agent of hemolytic-uremic syndrome in France. J. Clin. Microbiol. 31: 296-301.
13. Mead PS, Griffin PM (1998) *Escherichia coli* O157:H7. Lancet. 352: 1207-1212.
14. Miliwebsky E, Balbi L, Gomez DN, Wainsztein R, Cueto Rúa M, Roldán C, Calletti M, Leardini N, Baschkier A, Chillemi G, Rivas M (1999) Síndrome Urémico Hemolítico en niños de Argentina: asociación con la infección por *Escherichia coli* productor de toxina Shiga. Bioquímica y Patología Clínica. 63: 113-121.
15. O'Donnell JM, Thornton L, McNamara EB, Prendergast T, Igoe D, Cosgrove C (2002) Outbreak of Vero cytotoxin-producing *Escherichia coli* O157 in a child day care facility. Commun. Dis. Public. Health. 5: 54-58.
16. Oai CH, Ahmed N, Lior H, Johnson WM, Sims HV, Wood DE (1988) Epidemiology of sporadic diarrhea due to verocytotoxin-producing *Escherichia coli*: a two-year prospective study. J. Infect. Dis. 157: 1054-1057.
17. Paton AW, Ratcliff RM, Doyle MR, Seymour-Murray J, Davos D, Lanser JA, et al. (1996) Molecular microbiological investigation of an outbreak of hemolytic-uremic syndrome caused by dry fermented sausage contaminated with Shiga-Like toxin-producing *Escherichia coli*. J. Clin. Microbiol. 34: 622-627
18. Paton, JC, Paton, AW (1998) Pathogenesis and diagnosis of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* infections. Clin. Microbiol. Rev. 11: 450-479.
19. Pavia AT, Nichols CR, Green DP, Tauxe RV, Mottice S, Greene KT, et al (1990) *Escherichia coli* O157:H7 infections in institutions for mentally retarded persons: clinical and epidemiologic observations. J. Pediatric. 116: 544-551.
20. Pollard DR, Jhonson WM; Lior H, Tyler SD, Pozze KR (1990) Rapid and specific detection of verotoxin genes in *Escherichia coli* by the polymerase chain reaction. J. Clin. Microbiol. 28: 540-545.
21. Reymond D, Karmali MA, Clarke I, Winkler M, Petric M. (1997) Comparison of the western blot assay with the neutralizing-antibody and enzyme-linked immunosorbent assays for measuring antibody to verocytotoxin 1. J. Clin. Microbiol. 35: 609-613.
22. Rivas M. (2004) Control and prevention of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* infections in humans and in the animal reservoir. II Simposio Internacional de Biotecnología. Conferencia C5, p. 5, Tucumán, Argentina.
23. Schmidt H, Beutin L, Karch H, (1995). Molecular analysis of the plasmid-encoded hemolysin of *Escherichia coli* O157:H7 strain EDL 933. Infect. Immunologic. 63:1055-1061.
24. Scotland SM, Rowe B, Smith HR, Willshaw GA, Gross RJ (1988) Verocytotoxin-producing strains of *Escherichia coli* from children with haemolytic uraemic syndrome and their detection by specific DNA probes. J. Med. Microbiol. 25: 237-243.
25. Servicio Fisiopatogenia, Departamento Bacteriología, INEIANLIS "Carlos G. Malbrán" (2003) Manual de Procedimientos: Diagnóstico y caracterización de *Escherichia coli* productor de toxina Shiga.
26. Shash S, Hoffman R, Shillam P, Wilson B (1996) Prolonged fecal shedding of *Escherichia coli* O157:H7 during an outbreak at day care center. Clin. Infect. Dis. 23: 835-836.
27. Swerdlow DL, Griffin PM (1997) Duration of faecal shedding of *Escherichia coli* O157:H7 among children in day-care centres. Lancet. 349: 745-746.
28. Tarr P (1995) *Escherichia coli* O157:H7: Clinical, diagnostic and epidemiological aspects of human infections. Clin. Infect. Dis. 20: 1-10.
29. Tarr PI, Neill MA, Clausen CR, Watkins SL, Christie DL, Hickman RO (1990) *Escherichia coli* O157:H7 and the haemolytic uraemic syndrome: importance of early cultures in establishing the etiology. J. Infect. Dis. 162: 553-556.
30. Tzipori S, Wachsmuth KI, Smithers J, Jackson C (1988) Studies in gnotobiotic piglets on non-O157:H7 *Escherichia coli* serotypes isolated from patients with hemorrhagic colitis. Gastroenterology. 94: 590-597.
31. United States Department of Agriculture/Food Safety and Inspection Service, Office of Public Health and Science. USDA/FSIS (2002) United States Department of Agriculture Food Safety and Inspection Service, Office of Public Health and Science. Detection, isolation and identification of *Escherichia coli* O157:H7 and O157:NM (nonmotile) from meat products. Revision 03. Effective 10/25/02. Washington DC, EE.UU.
32. Wells JG, Davis BR, Wachsmuth IK, Riley LW, Remis RS, Sokolow R, et al (1983) Laboratory investigation of hemorrhagic colitis outbreaks associated with a rare *Escherichia coli* serotype. J. Clin. Microbiol. 18: 512-520.
33. Werber D, Fruth A, Liesegang A, Littmann M, Buchholz U, Prager R, et al (2002) A multistate outbreak of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O26:H11 infections in Germany, detected by molecular subtyping surveillance. J. Infect. Dis. 186: 419-422.