

AISLAMIENTO DE *Escherichia coli* PRODUCTOR DE TOXINA SHIGA EN UN BROTE DE GASTROENTERITIS EN UN JARDIN MATERNAL DE LA CIUDAD DE MAR DEL PLATA

D. Gomez¹, E. Miliwsky², A. Silva¹, N. Deza², C. Zotta¹, O. Cotella¹, E. Martinez², I. Chinen², C. Fernandez Pascua¹, M. Rivas².

¹Instituto Nacional de Epidemiología "Dr. Juan H. Jara" - ANLIS "Dr. Carlos G. Malbrán". Ituzaingó 3520, (7600) Mar del Plata, Argentina. ²Servicio Fisiopatología, Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas - ANLIS "Dr. C. G. Malbrán". Av. Vélez Sarsfield 563, (1281) Buenos Aires, Argentina. emiliwsky@anlis.gov.ar.

INTRODUCCION

Escherichia coli productor de toxina Shiga (STEC) es reconocido como patógeno emergente transmitido por alimentos, asociado a casos esporádicos y brotes de diarrea con o sin sangre, colitis hemorrágica, y síndrome urémico hemolítico (SUH), en diferentes regiones del mundo. En los últimos años, se ha incrementado la notificación de brotes asociados a STEC debido a cambios en la producción, procesamiento y distribución de alimentos, en los hábitos de consumo, y en los métodos de detección. Si bien STEC O157:H7 es el serotipo más frecuentemente identificado en numerosos países, otros serotipos como O26:H11, O103:H2, O111:NM, O113:H21 O145:NM, también han sido implicados como causantes de enfermedad humana. Los mecanismos más importantes de diseminación de STEC son: el consumo de alimentos contaminados, principalmente los de origen bovino, el contacto directo e indirecto con animales y la transmisión persona a persona (1). Esta última vía de infección ha sido documentada en jardines maternales y de infantes, y en centros de asistencia a enfermos mentales, entre otros. 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 (2). Además, el riesgo se ve incrementado debido a la baja dosis infectiva del patógeno. En la Argentina, el SUH es la primera causa de insuficiencia renal aguda en la edad pediátrica. En el año 2003, la incidencia de SUH fue del 11,5 casos por 100.000 niños menores de 5 años, habiéndose acumulado más de 7.000 casos desde 1965 hasta el presente. Si bien en nuestro país se ha confirmado la asociación entre casos esporádicos de SUH y de diarreas con la infección por STEC (3), no existen datos bien documentados de la ocurrencia de brotes relacionados con esta categoría de *E. coli*.

OBJETIVO

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

METODOS

El día 5 de noviembre de 2003, el Instituto Nacional de Epidemiología "Dr. Juan H. Jara" comenzó con el análisis epidemiológico y microbiológico del evento.

Definición de caso: Todo concurrente al Jardín Maternal que presentó diarrea aguda o SUH en el período octubre-noviembre de 2003.

Definición de diarrea aguda: Aumento del número de deposiciones, de menor consistencia y mayor volumen.

Definición de SUH: Enfermedad aguda caracterizada por anemia hemolítica microangiopática, trombocitopenia e insuficiencia renal aguda.

Número de casos: Catorce niños y la madre de uno de ellos presentaron diarrea. Un caso evolucionó a SUH.

Actividades realizadas durante la investigación epidemiológica:

- Denuncia de los casos en la Región Sanitaria VIII de la ciudad de Mar del Plata.
- Registro de los casos en las fichas clínica-epidemiológicas del Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica (SI.NA.VE).
- Caracterización de la población expuesta.
- Realización de estudios a contactos familiares de los casos.
- Visita al Jardín Maternal con el fin de observar su estado general y en especial el área de elaboración de fórmulas lácteas y merienda.
- Evaluación de los hábitos de higiene del establecimiento.
- Estudio del registro de enfermedades infecciosas ocurridas en el Jardín Maternal con anterioridad al brote.
- Relevamiento y toma de muestras del área de recepción y de elaboración de alimentos en la cocina y en la empresa de catering.
- Seguimiento de los casos con aislamiento positivo para determinar el tiempo de excreción del microorganismo.

Estudios de laboratorio

Coprocultivos: Se analizaron muestras de materia fecal (n=6) e hisopados rectales (9) pertenecientes a 13 niños y un adulto con diarrea (Tabla 1).

Aislamientos de *Escherichia coli*: La caracterización genotípica de los factores de virulencia de STEC se realizó mediante la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR). En el Laboratorio de Bacteriología del INE "Dr. Juan H. Jara" se utilizaron los oligonucleótidos o "primers" específicos que amplifican los fragmentos de los genes de las toxinas Stx1 y Stx2 (4). En el laboratorio del Servicio de Fisiopatología, del Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas-ANLIS "Dr. C. G. Malbrán" se utilizaron los "primers" específicos que amplifican los fragmentos de los genes de enterohemolisina EHEC-Hly (5) y factor eae (6). También se estudió un aislamiento de *E. coli* perteneciente a una niña que comenzó con síntomas de diarrea y que luego fue internada con diagnóstico clínico de SUH.

Toxina libre en materia fecal (StxMF) y anticuerpos neutralizantes anti-toxina Shiga (a-Stx): Fueron estudiados por ensayos de citotoxicidad en células Vero en el Servicio de Fisiopatología (7).

Tiempo de excreción de STEC: A los niños con aislamiento positivo se realizaron coprocultivos sucesivos cada 10 días.

Contactos familiares: Se tomaron muestras de materia fecal de los convivientes de los casos, para la búsqueda de STEC y StxMF.

Alimentos implicados: Al no poder recolectarse muestras de los alimentos posiblemente relacionados con el brote, Profesionales de Fiscalización Sanitaria de la Región Sanitaria VIII procedieron a tomar muestras de alimentos de otra institución atendida por la misma empresa de "catering". Las muestras fueron analizadas por el Laboratorio Central de Salud Pública de la Provincia de Buenos Aires.

Tabla 1

Nº de Caso	Edad (meses)	Tipo de diarrea	Fecha inicio de síntomas (IS)	Fecha toma de muestra (TM)	Días IS-TM	Especimen	Aislamiento de STEC	StxMF
1	22	Acuosa	15/10/03	06/11/03	22	Hisopado Rectal	Neg	Neg
2	12	Blanda sangüinolenta	17/10/03	Sin dato	Sin dato	Aislamiento	Neg	Neg
3	23	Mucosa	21/10/03	05/11/03	15	Hisopado Rectal	Neg	Neg
4	36	Líquida	24/10/03	05/11/03	12	Hisopado Rectal	Neg	Neg
5	60	Acuosa oscura	25/10/03	05/11/03	11	MF	Neg	Neg
6	16	Líquida	26/10/03	05/11/03	10	Hisopado Rectal	Neg	Neg
7	24	Acuosa	27/10/03	05/11/03	9	Hisopado Rectal	Neg	Neg
8	8	Acuosa con sangre	27/10/03	06/11/03	10	MF e Hisopado Rectal	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	Hisopado Rectal	Neg	Neg
11	9	Mucosa	02/11/03	05/11/03	3	MF	<i>E. coli</i> O26:H11 Stx1, eae, EHEC-Hly	Stx1MF
12	11	Semi-sólida	03/11/03	05/11/03	2	Hisopado Rectal	<i>E. coli</i> O103:H2 Stx1, eae, EHEC-Hly	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	Hisopado Rectal	Neg	Neg

RESULTADOS

Investigación epidemiológica:

- Al Jardín Maternal concurrían 80 niños entre 3 y 5 años.
- El 71,4% de los niños afectados eran de sexo masculino y la media para la edad fue de $23,6 \pm 13,9$ meses. La tasa de ataque fue de 17,5% (14/80).
- La duración del brote fue de 25 días. Figura 1
- Ninguno de los contactos familiares, excepto un adulto de 35 años, madre de uno de los niños afectados y maestra de un Jardín linderó, presentó síntomas de diarrea durante el período del brote.
- En el Jardín no existía registro de enfermedades infecciosas por lo cual no se pudo realizar un análisis retrospectivo de la frecuencia de aparición de este tipo de eventos.
- La comida era elaborada y provista al Jardín por una empresa de "catering".
- En el Jardín se elaboraban las fórmulas lácteas y las meriendas.
- El cambio de pañales de los niños se efectuaba a sólo dos metros de distancia de la preparación de las fórmulas lácteas.

Estudios de laboratorio:

- En dos de los 15 casos estudiados se detectó STEC no-O157.
- En un niño de 9 meses (caso N° 11) se detectó STEC O26:H11 luego de 3 días del inicio de los síntomas. La excreción fue positiva por un período de 37 días (Tabla 1 y 2).
- En un segundo niño de 11 meses (caso N° 12) se detectó STEC O103:H2 luego de 2 días de inicio de los síntomas (Tabla 1 y 2).
- Los niños (casos N° 11 y 12) comenzaron con síntomas de diarrea a 18 y 19 días del inicio del brote.
- Ambos aislamientos de STEC fueron Stx1/ eae/ EHEC-Hly positivos.
- Stx1MF se detectó solo en el niño con aislamiento positivo para O26:H11. La detección de Stx1MF fue positiva por un período de 17 días luego de iniciada la diarrea.
- La detección de STEC y de StxMF de los contactos familiares fue negativo.
- Las muestras de alimentos analizadas resultaron negativas para la búsqueda de patógenos comunes.

Figura 1. Curva epidémica de casos de diarrea en un Jardín Maternal de la ciudad de Mar del Plata. Octubre-Noviembre 2003 (n=15)

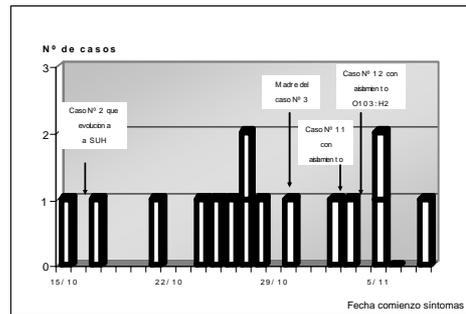


Tabla 2

Control de la excreción en los niños con aislamiento positivo de STEC no-O157				
Caso N°	Nº de muestra	Días IS-TM	STEC	Stx1MF
11	Inicial	3	O26:H11/Stx1/eae/EHEC-Hly	Stx1MF
	1º Control	17	O26:H11/Stx1/eae/EHEC-Hly	Stx1MF
	2º Control	30	O26:H11/Stx1/eae/EHEC-Hly	Neg
	3º Control	37	O26:H11/Stx1/eae/EHEC-Hly	Neg
	4º Control	57	Neg	Neg
12	Inicial	2	O103:H2/Stx1/eae/EHEC-Hly	Neg
	1º Control	15	Neg	Neg
	2º Control	29	Neg	Neg

CONCLUSIONES

- La curva epidémica del brote permite inferir que el mismo no estuvo asociado a una fuente única sino probablemente por transmisión persona a persona.
- Es importante destacar el aislamiento de STEC no-O157, de los serotipos O26:H11 y O103:H2, ya descriptos previamente en casos severos de enfermedad humana.
- Se destaca la necesidad de implementar los protocolos de detección de cepas STEC no-O157.
- Es fundamental la utilización de técnicas sensibles en la detección de STEC para tomar medidas rápidas de control y de seguimiento ante un resultado positivo, dado que para algunos serotipos de STEC la excreción es prolongada.
- Además, es necesario incluir en el reglamento de las Instituciones de cuidado diario, una norma que indique que todo niño con aislamiento de STEC, no puede reingresar al Jardín hasta no tener resultados negativos para STEC, en dos coprocultivos consecutivos.
- Es importante implementar en las Instituciones de cuidado diario, medidas de control en general y en los hábitos de higiene en particular.
- Es necesario contar con el apoyo de los laboratorios de Bromatología integrados a una red de vigilancia de las enfermedades asociadas a STEC a los efectos de implementar las medidas de intervención adecuadas.

REFERENCIAS

- Paton JC, Paton AW. Pathogenesis and diagnosis of Shiga-toxin-producing *Escherichia coli* infections. Clin. Microbiol. Rev. 1998; 11: 450-79.
- O'Donnell JM, Thomson L, McNamara EB, Prendergast T, Igoe D, Cosgrove C. Outbreak of Vero cytotoxin-producing *Escherichia coli* O157 in child day care facility. Commun. Dis. Public Health. 2002; 5(1): 54-8.
- Miliwsky E, Balbi L, Gomez DN, Wainsztein R, Cueto R, Roldán C, Calletti M, Leardini N, Baschicki A, Chileri G, Rivas M. Síndrome Urémico Hemolítico en niños de Argentina: asociación con la infección por *Escherichia coli* productor de toxina Shiga. Biología y Patología Clínica. 1999; 63: 113-21.
- Pottard DR, Johnson WM, Lior H, Tyler SD, Pozze KR. Rapid and specific detection of verotoxin genes in *Escherichia coli* by the polymerase chain reaction. Journal of Clinical Microbiology. 1990; 28:540-545.
- Schmidt H, Beutin L, Karch H. Molecular analysis of the plasmid-encoded hemolysin of *Escherichia coli* O157:H7 strain EDL 933. Infectology Immunology. 1995; 63:1065-61.
- Garmon VP, Rashid M, Kim RK, Thomas EJ. Detection and characterization of the eae gene of Shiga-like-toxin-producing *Escherichia coli* using polymerase chain reaction. Journal of Clinical Microbiology. 1993; 31: 1268-1274.
- Karmali MA. Infection by verotoxin-producing *Escherichia coli*. Clin. Microbiol. Rev. 1989; 2: 15-37.