

## ARTÍCULOS ORIGINALES

Diagnóstico de *Escherichia coli enterohemorrágica* en niños con diarreas

Diagnosis of enterohemorrhagic *Escherichia coli* in children with diarrhea

**Dr. C. Guillermo Barreto Argilagos; Dra. Alexis Sanchén Casas; Lic. Raquel I. Hernández Cisneros**

Centro Provincial de Higiene, Epidemiología y Microbiología. Camagüey, Cuba.

### RESUMEN

Se realizó un estudio acerca de *E. coli enterohemorrágica* como causa de cuadros diarreicos en niños menores de cinco años. El mismo se efectuó en el Centro Provincial de Higiene, Epidemiología y Microbiología (CPHEM) de Camagüey desde julio a diciembre de 2004, con el objetivo de establecer la frecuencia de presentación de este enteropatógeno en los infantes. Se estudiaron 174 muestras de heces fecales. Se presentó la categoría enterohemorrágica en el 10,4 % de los pacientes con *E coli*. Predominó el grupo de los menores de seis meses y el sexo femenino (60 %). El enteropatógeno asociado más frecuente fue la *Aeromonas spp.* No se observó la presencia de leucocitos fecales en el 86,7 % de los pacientes positivos. Más del 80 % de los enfermos se diagnosticaron a través de la técnica del sorbitol negativo aparejado a la descarboxilación de los aminoácidos lisina y ornitina.

**DeCS:** INFECCIONES POR ESCHERICHIA COLI; NIÑO; AEROMONAS; SORBITOL

## ABSTRACT

A study was conducted on *Escherichia coli* as a cause for diarrhea in children aged under 5 at the Provincial Center for Hygiene, Epidemiology and Microbiology of Camagüey from July 2004 to December 2004 to assess the frequency rate of such an enteropathogenic in infants 174 samples of feces were studied. *Enterohemorrhagic Escherichia coli*, which was present in 10,4 % of patients, prevailed in female children aged under 6 months (60 %). *Aeromonas* was the most frequent of associated enteropathogenicis. Fecla leucocytes were not present in 86,7 % patients who tested positive. More than 80 % of patients were diagnosed through negative sorbitol testing together with decarboxilation of amino acids lixine and attractive

**DeCS:** ESCHERICHIA COLI INFECTIONS; CHILD; AEROMONAS; SORBITOL

## INTRODUCCIÓN

Las infecciones gastrointestinales constituyen un problema de salud. Este cuadro resulta más dramático en los países en vías de desarrollo, en los cuales las muertes en menores de cinco años ascienden a 3,2 millones.<sup>1, 2</sup>

El Instituto de Medicina de la Academia Nacional de Ciencias de Estados Unidos responsabilizó muchas veces a la *E coli* por los 630 millones de pacientes con diarrea que tienen lugar anualmente a nivel mundial, y que en su mayoría son de la población infantil del tercer mundo.<sup>2,3</sup>

Desde su descubrimiento hasta la fecha la *E. coli* se considera parte de la flora normal del tracto intestinal humano, a pesar de ello algunas cepas poseen cualidades particulares que les permiten provocar infecciones entéricas (diarreas, disenterías, colitis hemorrágica, uremia hemolítica).<sup>1</sup>

En los últimos 30 años se ha desarrollado la existencia de cinco categorías de *E coli*, la enteropatógena, enterotoxigénica (ECET) (1956), enteroinvasiva (ECEI) (1960), enteropatógena clásica (ECEP) (1965), enterohemorrágica (ECEH) (1982), y la categoría enteroagregativa (ECEA) (1988).<sup>4-6</sup>

La categoría enterohemorrágica es la variedad que más se estudia en los últimos tiempos, realmente constituye parte de un grupo denominado como *E. coli* verotoxigénica (ECVT), se caracteriza por la producción de una toxina (similar a la Shiga) con acción citotóxica sobre líneas celulares Vero, motivo por el que se le indica como verotoxinas.<sup>1</sup>

La *E. coli* enterohemorrágica se distingue de los restantes miembros de este grupo porque además de producir verotoxinas (VT) provoca síndromes como la colitis hemorrágica,<sup>6</sup> la uremia hemolítica<sup>7</sup> y la púrpura trombocitopénica trombótica.<sup>8</sup> Su prototipo lo constituye el serotipo 0157:H7.<sup>9</sup>

*E.coli enterohemorrágica* (ECEH) la constituye la flora normal del intestino de los rumiantes. Esto los convierte en reservorios de este enteropatógeno. Otras investigaciones reportan diversas formas de transmisión que incluyen el agua y el contacto persona a persona.<sup>10</sup>

En Estados Unidos se estima que 10 000 personas son infectadas por *E. coli* 0157:H7 cada año, con cuadros diarreicos, colitis hemorrágicas y uremia hemolítica.<sup>6,7</sup>

La situación de los países en vías de desarrollo con respecto a esta nueva categoría de *E. coli* constituyen una incógnita debido a la carencia de recursos para enfrentar su diagnóstico.<sup>1, 2,11</sup>

La detección de *E. coli enterohemorrágica* se realiza a través de la producción de verotoxinas o por detección de los genes que lo codifican.<sup>1</sup>

El serotipo 0157:H7 presenta un carácter atípico con respecto a la especie *E. coli* y es su incapacidad de fermentar el sorbitol. Esta particularidad es base de creación del medio Agar *Mac Conkey* Sorbitol utilizado en el diagnóstico presuntivo.<sup>1, 12</sup>

En 1989 se encontró una correspondencia entre la producción de verotoxinas y la producción de una hemolisina no exclusiva del serotipo 0157:H7, lo que tiene más amplio espectro que la incapacidad de fermentar el sorbitol. Esta correspondencia sirvió de base a métodos de fácil realización para el diagnóstico presuntivo.<sup>12</sup>

El carácter potencialmente letal, comprobado en algunos de los cuadros ocasionados como el síndrome urémico hemolítico y la púrpura trombocitopénica trombótica,<sup>7</sup> son

razones más que suficientes para establecer sin dilación, técnicas de diagnóstico que posibiliten la identificación de la categoría enterohemorrágica y constituir una opción al alcance de cualquier laboratorio de diagnóstico microbiológico. Por todo lo antes expuesto y en atención a nuestro Comandante en Jefe durante la clausura del XI Forum de Ciencia y Técnica, cuando expresó la necesidad del estudio de este agente biológico, se realizó el presente trabajo con el objetivo de establecer la frecuencia de presentación de ECEH en niños con diarreas, donde se precisó el grupo de edad y el sexo más afectado, la presencia de otros enteropatógenos asociados, se relacionó la observación de leucocitos en heces fecales con ECEH y se determinó el porcentaje de pacientes que fueron diagnosticados por cada una de las técnicas utilizadas.

## MÉTODO

Se procesaron 174 muestras de heces fecales provenientes del corte de enfermedad diarreaica aguda (EDA) del Hospital Pediátrico Provincial Docente "Dr. Eduardo Agramonte Piña" de Camagüey, desde julio hasta diciembre de 2004.

Los aislamientos de enteropatógenos se efectuaron en el Centro Provincial de Higiene Epidemiología y Microbiología (CPHEM) según los esquemas de *Edwards y Ewing*<sup>13</sup> para diagnóstico de enfermedades entéricas. Los estudios parasitológicos y la detección de leucocitos fecales se realizaron en el departamento de Parasitología de dicha institución.

Para detectar el carácter enterohemorrágico se utilizaron dos técnicas:

- a). La producción de enterohemolisina (Ent-Hly).<sup>14, 15</sup>
- b). La no utilización del sorbitol aparejado a la descarboxilación de los aminoácidos lisina y ornitina.<sup>12</sup>

Los datos se procesaron en una microcomputadora según el programa SPSS para Windows, se hallaron la distribución de frecuencia y por cientos.

## RESULTADOS

De 144 pacientes con aislamientos de *E. coli*, se detectó que el 10.4 % poseía la categoría enterohemorrágica. El mayor número de pacientes correspondió a los menores de seis meses (Tabla 1).

**Tabla 1. Casos de *E. coli* enterohemorrágica y no según grupos de edades**

| Grupos de aislamiento de <i>E. coli</i> | Enterohemorrágica No |      |                      |      | Total |
|---|----------------------|------|----------------------|------|-------|
|   | Enterohemorrágica    |      | No Enterohemorrágica |      |       |
|   | No.                  | %    | No.                  | %    |       |
| Menos de 6 meses                        | 6                    | 12,0 | 44                   | 88,0 | 50    |
| Menos de 6 - 3<br>11meses               | 3                    | 6,5  | 43                   | 93,5 | 46    |
| De 1a 3 años                            | 3                    | 9,7  | 28                   | 90,3 | 31    |
| De 4 a 5 años                           | 3                    | 17,6 | 14                   | 82,4 | 17    |
| Total                                   | 15                   | 10,4 | 129                  | 89,6 | 144   |

**Fuente: Encuesta**

Al analizar a los pacientes positivos se encontró que el 60 % de los enfermos se correspondieron con el sexo femenino y la mayoría de los afectados tenían menos de seis meses de edad (Tabla 2).

**Tabla 2. Distribución por grupos de edades y sexo de los pacientes con *E. coli* enterohemorrágica**

| Grupo de edades           | Sexo |      |     |      | Total |
|---------------------------|------|------|-----|------|-------|
|                           | Mas  |      | Fem |      |       |
|                           | No   | %    | No  | %    |       |
| Menos de 6 meses          | 3    | 50   | 3   | 50   | 6     |
| Menos de 6 - -<br>11meses | -    | -    | 3   | 100  | 3     |
| De 1a 3 años              | 2    | 13,3 | 1   | 6,7  | 3     |
| De 4 a 5 años             | 1    | 6,7  | 2   | 13,3 | 3     |
| Total                     | 6    | 40   | 9   | 60   | 15    |

Se mostró que en nueve pacientes (60 %) no se encontraron enteropatógenos asociados. En los enfermos con asociación *Aeromona* frecuentó el aislado (13,3 %) (Tabla 3).

**Tabla 3. Distribución de otros Enteropatógenos asociados a los casos con *E. coli* enterohemorrágica**

| Otros enteropatógenos asociados | No        | %          |
|---------------------------------|-----------|------------|
| Shigella                        | 1         | 6,7        |
| Salmonella                      | 1         | 6,7        |
| Aeromona                        | 2         | 13,3       |
| Camylobacter                    | 1         | 6,7        |
| Rotavirus                       | 1         | 6,7        |
| Ningún otro enteropatógeno      | 9         | 60,0       |
| <b>Total</b>                    | <b>15</b> | <b>100</b> |

**Fuente: Encuesta**

Del total de pacientes positivos con ECEH, en el 86 % no se observaron leucocitos fecales y sólo en dos enfermos sí se detectaron y presentaron enteropatógenos asociados (Tabla 4).

**Tabla 4. Presencia de leucocitos en pacientes con *E. coli* enterohemorrágica asociada o no a otros enteropatógenos**

| Otros enteropatógenos asociados | Leucocitos |      | Fecales |      | Total |
|---------------------------------|------------|------|---------|------|-------|
|                                 | No.        | %    | No.     | %    |       |
| Si                              | 2          | 33,3 | 4       | 66,7 | 6     |
| No                              | -          | -    | 9       | 100  | 9     |
|                                 | 2          | 33,3 | 13      | 86,7 | 15    |

El 86,7 % de los pacientes positivos se diagnosticaron con el uso de la técnica del sorbitol negativo aparejado a la descarboxilación de los aminoácidos lisina y ornitina (Tabla 5).

**Tabla 5. Pacientes diagnosticados por cada una de las técnicas utilizadas**

| Técnicas diagnosticadas   | Casos positivos |            |
|---|-----------------|------------|
|   | No.             | %          |
| Por técnica de sorbitol negativo aparejado a la descarboxilación de los aminoácidos lisina y ornitina | 13              | 86,7       |
| Por producción de enterohemolisina (Ent-HIy).   | 2               | 13,3       |
| <b>Total</b>  | <b>15</b>       | <b>100</b> |

## DISCUSIÓN

Se analizó la distribución por grupos de edades de los pacientes con *E. coli* y se detectó que la categoría enterohemorrágica afecta con mayor frecuencia a los menores de un año, comportamiento similar al resto de las categorías de la especie y lo que recoge la literatura revisada.<sup>6</sup>

Es importante señalar que el por ciento de ECEH aislado aparentemente es bajo (10,4 %), lo que puede deberse a que los períodos de mayor presentación son los meses de junio a septiembre,<sup>16</sup> además posee como característica su incremento explosivo,<sup>17</sup> esto concuerda con lo referido por *Riley*<sup>6</sup> en Inglaterra, así como *Boyce*<sup>18</sup> y *March*<sup>12</sup> en Canadá y Estados Unidos, respectivamente.

En la actualidad en Estados Unidos se calcula que ocurren 21000 infecciones anuales por ECEH O157:H7,<sup>12</sup> situación semejante reportan en Canadá, Reino Unido y España,<sup>12,18</sup> lo que coincide con nuestros resultados.

De acuerdo con la literatura, el sexo femenino es el más afectado, tanto por la colitis hemorrágica como con el síndrome hemolítico urémico. Autores como *Marques*<sup>19</sup> y *Ratnam*<sup>20</sup> en Estados Unidos coinciden en que las féminas tienen mayor riesgo de desarrollar estas enfermedades luego de infecciones por ECEH O157:H7. En Canadá *Boyce*<sup>18</sup> y *Robins*<sup>21</sup> en Australia plantean que los menores de dos años son los más dañados.

El comportamiento de ECEH respecto a la edad es el común de la especie. En cuanto al síndrome hemolítico urémico coincidimos con en el hecho de que los menores de cinco años son los más afectados.<sup>18, 20</sup>

Los pacientes donde se aísla ECEH sin ningún enteropatógeno asociado, explica que este germen por sí solo pudo haber sido la causa del cuadro diarreico al ser un microorganismo dotado de varios factores de virulencia.<sup>22</sup> *Aeromona* fue el género más frecuentemente asociado a ECEH. La literatura revisada refleja asociaciones como *Campylobacter*, *Aeromona* y *Rotavirus* en otras especies de *E. coli*, pero en la variedad enterohemorrágica existe poca información al respecto.<sup>23, 24</sup>

La no presencia de leucocitos fecales hace pensar en ECEH, pues este es un microorganismo que no invade el enterocito.

En los pacientes que se observaron leucocitos, se aislaron como enteropatógenos asociados a *Shigella* y *Salmonella*, lo que justifica la presencia de leucocitos por sus características invasivas.<sup>25</sup>

*Haldane et al*<sup>26</sup> describen marcadores bioquímicos como lisina y ornitina en unión con el sorbitol, los cuales incrementan la especificidad del método de un 11 a un 35 %.

La técnica de la detección de enterohemolisina aunque sólo permitió el diagnóstico de un 13,3 % no es insignificante, dada la letalidad de esta bacteria especialmente en niños.<sup>18, 21</sup>

*Karch*<sup>27</sup> en 1992 reportó una alta frecuencia en la pérdida de los genes codificadores de verotoxinas, esto explica el bajo por ciento de pacientes diagnosticados por la técnica antes mencionada, si tenemos en cuenta que el éxito del diagnóstico está limitado a la fase inicial de la infección (los seis primeros días).



En muchos países se utiliza de forma convencional el medio agar Mac Conkey- Sorbitol para el diagnóstico de este microorganismo. Este método sólo permite el diagnóstico del serotipo O157:H7, dado a su comportamiento atípico (sorbitol negativo).<sup>7, 12</sup>

## CONCLUSIONES

1. La categoría enterohemorrágica se presentó en el 10,4 % de los pacientes con *E. coli*.
2. El grupo de los menores de seis meses y el sexo femenino fueron los más afectados en los pacientes positivos.
3. La *Aeromonas* spp fue el enteropatógeno asociado más frecuente a la ECEH.
4. En la mayoría de los pacientes positivos no se observó la presencia de leucocitos en heces fecales.
5. Más del 80 % de los pacientes se diagnosticaron con el uso de la técnica del sorbitol negativo aparejado a la descarboxilación de los aminoácidos lisina y ornitina.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Blanco J, Blanco M. ECET, ECNC y ECVT de origen humano y bovino. Patogénesis, epidemiología y diagnóstico microbiológico. Servicios de publicaciones, diputación Provincial San Marcos. Lugo Galicia. España, 2000 .p. 310-16.
2. Hullan S, Guang Z., Mathan R. Etiology of acute diarrhea among children In developing countries. A Multicentre Study In five Countries. Bull WHO. 2000; 89: 542.
3. Murase M, Kurokawa M, Nuking M, Nakaniski H, Haruta T. Surveillance of varios enteropathogenic bacteria from diarrhea. Kansenshogaku Zasshi. 2001;75(10): 883-893.
4. Riverón R. Etiología infecciosa de las enfermedades diarreicas agudas. Ciudad de La Habana: Editorial Ciencias Médicas; 2001.p. 14-16.
5. Valdespino J, García M, del Río. Epidemiología y Etiología de las diarreas Infecciosas. El caso de México Rev lat-amer. Microbiología. 2003; 36: 307-324.
6. Riley L, Remis R, Helgerson S, Mc Gee H, Well J, Davis R, et al. Hemorrhagic colitis associated with a rare E coli serotype. N Eng. J Med. 2002; 308: 681-88.

7. Blanco J, Blanco M. ECET, ECVT, ECNT, ECNC en alimentos y en muestras clínicas. Papel de los animales como reservorio de cepas patógenas para el hombre. *Microbiología SEN*. 1999; 11(1): 97-110.
8. Grandsen W, Damn M, Anderson J, Carter J, Lior H. Further evidence associating hemolytic syndrome with infection by verotoxin-producing E coli 0157:H7. *J Infect*. 2004; 154: 222-524.
9. Padhye N, Doyle M. E coli 0157:H7. Epidemiology, pathogenesis, and methods for detection in food. *J Food Protect*. 2001; 55: 555-65.
10. Taylor C, White R, Winterborn M, Rowe B. Hemolytic uremic syndrome. Clinical experience of an outbreak in the west midlands. *British Med*. 2000; 282: 1513-16.
11. Beutin L, Geiser 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*. 1999; 31: 2483-88.
12. March S, Ratman S. Sorbitol-Mac conkey medium for detection of E coli 0157: H7 associated with hernorrhagic colitis. *J clin Microbiol*. 2002; 23: 869-72.
13. Edwards P, Ewing W. The genes Escherichia in Edwards and Ewing identification of enterobacteriaceae. 10ed. New York: Elsevier; 2001.p. 93-134.
14. Brooks G, Butel J, Morse S. *Microbiología Médica de Jawetz, Melnick y Adelberg*. 6ed. México: El Manual Moderno; 2000.
15. Beutin L, Montenegro M, Orskov I. Close association of verotoxin (shiga-like oxins) production with enterohemolysin production in strains of E coli. *Jclin Microbiol*. 2000; 27: 2259-64.
16. Pai C, Ahhmed N, Lior H, Johnson W, Sines H, Woods D. Epidemiology of sporadic diarrhea due to verocy toxin-producing Escherichia coli: A two year prospective study. *J infect*. 1999; 157: 1054-57.
17. Blanco J, Blanco M, Blanco J, Alonso M. E coli toxigénico en alimentos y muestras clínicas de origen humano y animal. *Patogénesis y epidemiología. Med Vet*. 2002; 13: 207-21.
18. Boyce T, Swerdlow D, Griffin P. E coli 0157:H7 and the HUS. *The new Journal of Medicine*. 1999; 333(5): 364-88.
19. Marques L, Maure M, Wells J, Wasctmuth K, O Brien. Production of Shiga-like toxin by E coli. *J infection*. 2003; 154: 338-31.
20. Ratnam S, March S. Stool survey for E coli 0157:H7. *J infect*. 2004; 153: 1176.
21. Robins R. EHEC an emerging foodborne pathogen with serious consequences. *The Medical Journal of Australia*. 1999; 162(6): 511-12.

22. Wilson D, Cleary T. Escherichia coli, Aeromona y Plesiomona en: Behrman R, Kliegman R, Jeenson H: Tratado de pediatría. 15ed .La Habana: Ciencias Médicas; 1998.p. 95-9.
23. Drasar B, Hill M. The distribution of bacterial flora in the intestine. In human intestine flora. London: Academic press; 2003. p. 36-43.
24. Ramos M, Andrade E, Navarro P. Aislamientos bacteriológicos en coprocultivos procesados en un Hospital Universitario. Rev. Fac. Med 2002; 14(1): 9
25. Wyngaarden J, Smith LI, Bennett J, et al. Tratado de Medicina interna. Cecil Vol 2. 20ed México: Nueva Editorial Interamericana; 2000. p. 1968-73; 1990 -9
26. Haldane D, Dawm M, Anderson J. Improved biochemical screening procedure for small clinical laboratories for Vero (shiga-like) toxins-producing strains of E coli 0157:H7. J clin Microbiol 2001; 24: 652-853.
27. Karch H, Meyer T, Russmann H, Husemann J. Frequent loss of shiga-like toxin genes in clinical isolated of E coli upon subcultivation. Infect inmun 1999; 60: 3464-67

Recibido: 29 de enero de 2006.

Aprobado: 29 de marzo de 2006.

*Dra. Magaly Cordero Rodríguez.* Especialista de I Grado en Microbiología. Profesora Instructora del ISCM-C. Centro Provincial de Higiene, Epidemiología y Microbiología. Camagüey.