

## Artículo de revisión

### *Escherichia coli* shigatoxigénica: Patogénesis, diagnóstico y tratamiento

Erika Josefina Hannaoui Rodríguez\*; Luz Bettina Villalobos; Rosa Elena Martínez Nazaret

Postgrado en Biología Aplicada, Universidad de Oriente, Núcleo de Sucre  
Cumaná - Venezuela

Recibido 11 de diciembre de 2008; aceptado 26 de mayo de 2009

**Resumen:** *Escherichia coli* shigatoxigénica (ECST) pertenece al grupo de las bacterias productoras de diarrea, patología que aún constituye una de las principales causas de morbilidad en niños a nivel mundial. ECST produce una o más toxinas shiga (Stx1, Stx2 y sus variantes), que es su principal factor de patogenicidad, responsable de las complicaciones intestinales y sistémicas. La transmisión puede ocurrir de persona a persona, o a través de agua o alimentos contaminados. Su capacidad de producir brotes epidémicos y la gravedad de las complicaciones de la enteritis, es lo que le confiere a este microorganismo gran importancia en salud pública. Este patógeno no se detecta habitualmente en los laboratorios clínicos por las similitudes bioquímicas y clínicas con otros patógenos entéricos, siendo necesario métodos serológicos y moleculares para su identificación y caracterización definitiva. En este trabajo, hemos revisado la información disponible acerca de la patogenicidad, diagnóstico y tratamiento de la infección producida ECST.

**Palabras clave:** *E. coli*, toxina shiga, enteropatógeno, enteritis, diagnóstico

### Shigatoxigenic *Escherichia coli*: pathogenesis, diagnostic and treatment

**Abstract:** Shigatoxigenic *Escherichia coli* (STES) belongs to the group of diarrhoea producing bacteria, pathology which still constitutes one of the main causes of morbidity in children at a world wide level. STES produces one or more shiga toxins (Stx1, Stx 2 and their variants) which is their main pathogenicity factor, responsible for the intestinal and systemic complications. Transmission can occur person-to-person, or through contaminated water or food. Its capacity for producing epidemic outbreaks and the seriousness of the enteritis complications are what confers this microorganism great public health importance. This pathogen is not usually detected at clinical laboratories due to its biochemical and clinical similarities with other enterical pathogens, and it necessary to use serological and molecular methods for its definitive identification and characterization. In this paper, we have revised available information regarding pathogenicity, diagnosis and treatment of STES produced infections.

**Keywords:** *E. coli*, shiga toxin, enteropathogen, enteritis, diagnosis

\* Correspondencia:  
E-mail: rikajhr@yahoo.com

#### Introducción

*Escherichia coli* diarreogénica ha sido clasificada con base en criterios clínicos, epidemiológicos y moleculares en 6 grupos bien definidos: *E. coli* enteropatógena (ECEP), *E. coli* enteroinvasiva (ECEI), *E. coli* enterotoxigénica (ECET), *E. coli* enteroagregativa o enteroadherente (E-CEAgg o ECEA), *E. coli* de adherencia difusa (ECAD) y *E. coli* shigatoxigénica (ECST), dentro de las que se encuentra *E. coli* enterohemorrágica (ECEH) [1,2]. Cada uno de estos grupos tiene factores de patogenicidad específicos que sirven para su identificación y clasificación, así como

diferentes serotipos y serogrupos basados en los antígenos O y H [3,4].

ECST ha recibido diversas designaciones, una de ellas es *E. coli* verotoxigénica (ECVT), nomenclatura que le fue dada, haciendo mención a que la bacteria produce una citotoxina con actividad sobre las células Vero [5], la otra denominación empleada es *E. coli* shigatoxigénica (ECST), o productor de toxina shiga Stx, estas diferentes denominaciones que le ha dado la literatura, han generado confusión, pero en ambos casos (ECVT y ECST), se está refiriendo al mismo "patotipo", es decir, productoras de una o más toxinas de la familia Stx, toxina con características similares a la que produce *Shigella dysenteriae* tipo 1 [3].

El término *E. coli* enterohemorrágica (ECEH), del cual está ampliamente estudiado el serotipo O157:H7, fue asignado a las cepas que ocasionan colitis hemorrágica (CH), y síndrome urémico hemolítico (SUH), y que a su vez sintetizan Stx, causando lesiones A/E (adherencia y esfacelación) sobre las células epiteliales, y poseen un plásmido de 90 Kb que codifica para una enterohemolisina [6,7]. Por lo tanto, ECEH pertenece a un subgrupo de ECST, e incluye una connotación clínica importante, ya que no todas las ECST son patógenas, mientras que todas las ECEH sí lo son [8].

El serotipo de ECEH O157:H7 se caracteriza porque no fermenta el sorbitol, ni la ramnosa y no produce  $\beta$ -glucuronidasa, siendo su principal reservorio el intestino del ganado bovino. Existen otros serotipos de *E. coli* no O157 productores de Stx, altamente virulentos, como: O91:H21/H<sup>-</sup>, O26:H11, O26:H<sup>-</sup>, O111:H<sup>-</sup>, O103:H2, O113:H21, O117:H7, O118:H16, O121:H19, O128:H2/H<sup>-</sup>, O145:H28/H<sup>-</sup> y O146:H2, que se han asociado con enfermedad en humanos [9,10]. Se debe tener presente que las cepas ECST no O157:H7, tienen una frecuencia de aislamientos 4 veces mayor, pueden ser sorbitol positivas y actualmente hay más de 200 serotipos [3,9].

ECST, es un patógeno emergente que ha alcanzado preponderancia en Norteamérica, Europa, Japón, y también se ha encontrado en países en vías de desarrollo como México, Chile, Argentina, Brasil, Colombia y Venezuela. En nuestro país por las limitaciones en el diagnóstico, no se cuenta con suficientes registros estadísticos y epidemiológicos, sin embargo, se conoce de su existencia, por algunas investigaciones realizadas, como las de Bravo y Villalobos [11], que determinaron la presencia de *Escherichia coli* enterohemorrágica, en carne molida y chorizos procedentes de diversos expendios del mercado municipal de Cumaná, estado Sucre, y confirmaron la presencia del serotipo O157:H7 en un 3,15%. Narváez *et al.* [12], reportaron este serotipo en muestras de heces de ganado bovino en el municipio Miranda, estado Zulia, donde aislaron 1,94% cepas de *E. coli* O157:H7.

El propósito de este trabajo fue realizar una revisión de la información de *E. coli* shigatoxigénica disponible en la literatura, en relación a sus factores y mecanismos de patogenicidad, diagnóstico y tratamiento, a fin de proporcionar datos de interés en el conocimiento de este patógeno emergente, cuyo diagnóstico de laboratorio clínico presenta serias deficiencias y/o complicaciones, y que es causante de enteritis que puede evolucionar hacia complicaciones intestinales y sistémicas graves, lo cual le confiere gran importancia en salud pública.

### Factores de patogenicidad

ECST y ECEH, no sólo expresan la toxina shiga Stx, sino que usualmente poseen otros factores significativos de patogenicidad, como la intimina, una proteína de superficie esencial para la formación de las lesiones de A/E en las células del epitelio gastrointestinal [13] y la enterohemolisina, que está comúnmente asociada a cepas ECEH [14].

**Toxina shiga:** Es el principal determinante de patogenicidad de ECST, y su síntesis está relacionada con la presencia de un bacteriófago Stx que está insertado en el genoma [13,15]. La familia de las toxinas Stx contiene dos grupos principales denominados Stx1 y Stx2, inmunológicamente diferentes; una misma cepa puede sintetizar una de ellas o ambas, e inclusive múltiples variantes de Stx2 [16-18].

La toxina Stx está integrada por dos subunidades: A y B. La subunidad A, puede ser escindida proteolíticamente, produciendo un fragmento A1 de 28 kDa, y otro A2 de 4 kDa, unidos a través de un puente disulfuro. El péptido A1 es el que posee la actividad enzimática, en tanto que el A2, es responsable de la unión de la subunidad A al pentámero que conforma la subunidad B. La subunidad B está constituida por cinco unidades idénticas, que se fijan al receptor de la célula blanco, el glucolípid Gb3 (globotriaosylceramide), presente en las células eucarióticas humanas [3]. La toxina shiga, daña células intestinales, vasculares y renales [19], es codificadas por genes *stx* que son llevados por bacteriófagos lisogénicos y pueden ser adquiridos por genes transferidos horizontalmente [20]. La Stx1 es idéntica a la toxina producida por *Shigella dysenteriae* tipo 1, excepto en algunos casos, en los que se aprecia un residuo de diferencia [3].

Estudios epidemiológicos han demostrado que Stx2 es el más importante factor patogenicidad asociado con enfermedad humana severa [19,21]. La Stx2 tiene diversas variantes que han recibido los nombres de Stx2c, Stx2v, Stx2e, etc, se conocen unas 22 variantes, de acuerdo a su variabilidad antigénica, diferencias en su toxicidad en tejidos celulares y animales, su capacidad para ser activadas por elastasa de ratón, y diferencias en las secuencias aminoácidas o nucleotídicas [18,22]).

**Enterohemolisina:** El plásmido de 60 MDa (pO157) encontrado en las cepas de *E. coli* O157:H7 y en otras ECST de origen humano, contiene los genes que codifican para la enterohemolisina Ent-Hly o EHEC-Hly [23,24]. La enterohemolisina se expresa en muchas de las cepas ECST, y es una proteína perteneciente a la familia de las citolisinas formadoras de poros (RTX)s, siendo el gen que codifica su síntesis, *ehxA*. Esta desempeña un papel, aún no bien explicado, en la lisis de los eritrocitos, a fin de que estos liberen los grupos hemo, moléculas necesarias para mejorar el crecimiento de este patógeno [25-279].

**Intimina:** Es una proteína de membrana externa de 97 kDa, la cual es codificada por el gen *eae* (27), produce extensas lesiones de adhesión y borrado en las células del colon, como resultado de la adherencia íntima del microorganismo a las células epiteliales. Su interacción con las microvellosidades da lugar a la lesión característica de adherencia íntima con formación de un cáliz, elongación y caída de las microvellosidades conocida como A/E "adherencia y esfacelación" [3,28].

Aunque el gen *eae* es el principal implicado en la lesión A/E, existen otros genes involucrados en este fenómeno (*esp*, *sep*, *tir*), todos estos se agrupan en una isla de patogenicidad cromosómica LEE "Locus Enterocyte Efface-

ment" (igual a la encontrada en ECEP), éste es un fragmento cromosomal que codifica varias funciones, entre ellas un sistema de secreción tipo III, y la secreción de varias proteínas que inician señales intracelulares [3]. ECST también produce los receptores Tir (translocated intimin receptor) a los que se unirá la intimina. Los receptores Tir son translocados por el sistema de secreción tipo III (complejo oligomérico a modo de anillo con un poro central de unos 20 nm), y en el enterocito son fosforilados y se insertan en la membrana para la unión de la intimina y la posterior formación de la lesión A/E [29,30].

### Mecanismo de patogenicidad

Esta bacteria se transmite por vía fecal-oral, y la forma de infección humana más frecuente, es a través de la carne de bovino mal cocida. La transmisión de persona a persona también ha sido demostrada [11]. Ocurrida la infección, cuya dosis infectante es mínima, su mecanismo de patogenicidad viene dado en gran parte por la toxina shiga. Una vez que la toxina Stx (subunidad B) se ha fijado a su receptor Gb3, es endocitada la subunidad A, transportada al aparato de Golgi y posteriormente hasta el retículo endoplásmico rugoso, para inhibir luego la síntesis proteica. La StxA, en ambas toxinas shiga, son N-glucosidasa altamente selectivas, que depurinan un residuo específico de adenina de la subunidad ribosomal 60S de la célula eucariótica, esto bloquea la síntesis de proteína y conduce a la muerte celular [31].

Es probable que el daño de la mucosa intestinal por la Stx, el lipopolisacárido (LPS), y otros mediadores de inflamación, promuevan la translocación de la toxina a la circulación. Ya en la circulación sanguínea la Stx va hacia la célula blanco que posee el receptor específico: en el intestino, el SNC y el riñón. En el humano se encuentran altos niveles de Gb3 en el riñón, específicamente en la región cortical [32].

La Stx citotóxica para las células endoteliales del riñón humano, causa una típica histopatología renal que incluye edema en las células del endotelio glomerular y deposición de plaquetas dentro del glomérulo, estas lesiones endoteliales conducen al estrechamiento de la luz de los capilares y a la oclusión de los vasos glomerulares, a través de la acumulación de plaquetas y fibrina [32]. Diversas investigaciones permiten establecer que Stx induce la expresión de citocinas proinflamatorias, tales como TNF $\alpha$  e IL-6, que pueden potenciar el efecto citotóxico de la Stx sobre las células endoteliales vasculares humanas [31].

La enteritis por ECST necesita una baja dosis infectiva (se estima entre 100 a 1000 bacterias), el periodo de incubación fluctúa entre 3 y 4 días, el síntoma inicial es diarrea no sanguinolenta que puede evolucionar hasta tornarse sanguinolenta, la cual puede ser precedida de dolores y calambres abdominales, fiebre de corta duración acompañada por vómitos. En cuanto al desarrollo de las alteraciones extraintestinales, los reportes incluyen trastornos cardíacos y neurológicos asociados al SUH y a púrpura trombocitopénica trombótica, cuyas consecuencias pueden resultar fatales [33].

### Diagnóstico

Han existido y aun se estudian y proponen varios métodos y/o estrategias para diagnosticar a ECST, estas difieren en complejidad, sensibilidad, especificidad y costo. El aislamiento de ECST permite su caracterización por una variedad de métodos, incluyendo serotipificación O:H, caracterización del fago, polimorfismo de los fragmento de restricción, electroforesis en gel de campo pulsado, amplificación y secuenciación del ADN, entre otros, algunos de los cuales, son de uso limitado en el laboratorio clínico, por su elevado costo y necesidad de personal especializado, pero son de gran importancia desde el punto de vista epidemiológico, sobre todo al aparecer un brote.

### Cultivo y métodos inmunológicos para ECST O157:

Por mucho tiempo, el medio de cultivo en agar MacConkey sorbitol (AMCS) fue el método más empelado para el aislamiento de ECST, debido a el predominio de O157:H7 y O157:H2, como agentes etiológicos de enfermedad en humanos en Norteamérica y Europa. La mayoría de estas cepas no pueden fermentar sorbitol (colonias incoloras en AMCS), que las distingue de las *E. coli* de origen fecal pertenecientes a otros serotipos [35,36].

Comercialmente se encuentran disponibles varios reactivos de aglutinación al látex, para detectar el antígeno O157 y H7, y así confirmar las colonias sospechosas [37]. También pueden usarse métodos de ELISA para la detección rápida del antígeno O157 en muestras fecales, los cuales tienen buena sensibilidad [38]; sin embargo, es necesario corroborar la producción de Stx, debido a que no todas las O157 son productoras de esta toxina, esto limita la sensibilidad del cultivo en AMCS, otra limitante es la incapacidad de reconocer la cepa O157 cuando su concentración es menor al 1% de la flora gastrointestinal. Sin embargo, se ha mejorado el índice del aislamiento de ECST O157 agregándole cefixima al medio, para inhibir a otros microorganismo como *Proteus* spp, y así han surgido varias modificaciones para hacer este medio de cultivo, más selectivo a cepas ECST pertenecientes al serogrupo O157 [39,40], incluyendo el shock ácido propuesto por Grant [41].

La enfermedad producida por ECST, está asociada a muchos otros serogrupos, y aunque algunas son sorbitol negativas, la mayoría son sorbitol positivas [42,43], debido a ello, la eficacia de este medio (AMCS) variará de acuerdo con el predominio local del serotipo de ECST, por lo que aislar solo las sorbitol negativas, produce un sesgo significativo en el diagnóstico de este patógeno [44].

**Métodos de cultivo para cepas ECST no O157:** No hay característica bioquímica definitiva para distinguir cepas de ECST pertenecientes a serogrupos diferentes del O157, lo que complica el aislamiento de tal microorganismo. Sin embargo, casi todos los O157 y una proporción significativa de cepas no O157 producen enterohemolisina Hly, y pertenecen al subgrupo de ECEH [3]. Estas cepas EHEC-Hly muestran zonas hemolíticas en agar sangre, después de 24 h de incubación. La producción de EHEC-Hly tiene un

alto valor predictivo positivo, pues se ha demostrado que las cepas de *E. coli* enterohemolíticas son a su vez productoras de Stx [45], mientras que, en las Hly negativas, no se puede predecir si producirá o no Sxt [45]. Recientemente Aldick *et al.* [46], identificaron 5 cepas raras de *E. coli* aisladas, de casos de SUH, que presentaban gen *hly* y no producían Stx.

**Análisis de citotoxicidad en cultivos de tejido:** La sensibilidad de células Vero (células de riñón de mono verde), a Stx fue observada por Konowalchuk *et al.* [47], y la citotoxicidad para esta línea celular sigue siendo el patrón de oro para la confirmación de aislamientos de *E. coli* productor de toxina shiga. Estas células tienen una alta concentración de Gb3 y de Gb4 (el receptor preferido para Stx2e, presente en cerdos) en sus membranas plasmáticas, y pueden ser utilizadas para detectar todas las variantes de Stx conocidas. Las células HeLa (células de carcinoma cérvicouterino) también se han utilizado, pero esta línea celular carece de Gb4 y por lo tanto es menos sensible a Stx2e. Este método tiene limitaciones porque no todos los laboratorios microbiológicos realizan cultivo de tejido de células Vero, además el diagnóstico rápido es importante, y los resultados de la prueba de citotoxicidad no están disponibles sino hasta después de 48 a 72 h, que sería el tiempo de desarrollo de esta línea celular [48,49].

**ELISA para la detección directa de Stx:** Los análisis mediante ELISA (del inglés enzyme linked immunosorbent assays) juegan un papel importante en el diagnóstico, porque pueden detectar la presencia de ECST (o de otra especie que produzca Stx), de cualquier sero-grupo. Actualmente se han creado muchas variantes de esta técnica diagnóstica, siendo afectada la sensibilidad de los métodos de ELISA por un número de variables como, los tipos de anticuerpos usados, y el tipo y cantidad de Stx producida por una cepa dada. ELISA es generalmente menos sensible que el análisis de verocitotoxicidad, pero más asequible de realizar en los laboratorios de análisis clínico [50,51].

**Hibridación con sondas de ADN:** La necesidad de determinar la presencia de los genes *stx1* y *stx2*, permitió el desarrollo de las sondas de ADN para la detección de ECST. Inicialmente, las sondas eran etiquetadas con P 32 o S 35 y fueron utilizadas para probar una gran cantidad de aislamientos de *E. coli* para la presencia de genes *stx* por hibridación de un fragmento de ADN de la colonia con la sonda marcada [52]. Estos procedimientos son altamente sensibles y específicos, y cuando son rigurosas las condiciones en las que se realiza, las cepas que poseen *stx1* y *stx2*, o ambas, pueden ser distinguidas. Actualmente las sondas *stx* son marcadas con material no radiactivo como digoxigenina y biotina, sin pérdida de sensibilidad o especificidad [52,53].

**Reacción en cadena de la polimerasa (PCR):** Este método permite la amplificación de los genes *stx*. Los extractos de DNA de las colonias aisladas de los cultivos pueden ser utilizados como moldes. Los productos específicos de

la PCR son revelados por electroforesis en gel del agarosa al 2%, teñido con bromuro de etidium [54]. Hasta la fecha, los análisis de PCR para la detección de *stx*, han combinado diversos pares de oligonucleótidos para *stx1* y *stx2*, y las variantes de *stx2*, en algunos casos [54-56]. La PCR también tiene utilidad para la detección de los genes que codifican otros factores de patogenicidad en cepas de ECST, tales como *eaeA* y *ehxA*. Esta información puede ser significativa porque hay relación entre la presencia de estos genes y la capacidad de ECST de causar enfermedad humana. Así, un caso de diarrea aguda producido por una cepa de ECST, también positiva para *eaeA* y *ehxA*, tendría aumentado el riesgo de desarrollar complicaciones tales como SUH [57].

**Diagnóstico serológico:** El diagnóstico serológico de la enfermedad provocada por ECST es conveniente cuando el número de ECST en heces es pequeño, y pueda ser imperceptible por el PCR. Los anticuerpos contra Stx o el LPS se han propuesto como marcadores de infección reciente, pero se debe considerar el periodo agudo y convaleciente de la enfermedad, probándose el incremento o descenso de los títulos de anticuerpos en el suero.

Se ha descrito el análisis de inmunoblot para los anticuerpos contra Stx1, el cual es más específico y sensible que ELISA y puede ser una herramienta útil para estudios seroepidemiológicos [58]. Otro estudio es el análisis de hemaglutinación para anti-LPS que implica el uso de eritrocitos de ovejas cubiertos con LPS de una gama de serogrupos, incluyendo el O157 [59].

Actualmente se emplean métodos diagnósticos basados en la detección del serotipo con el antisuero, y estos han incrementado su uso en el laboratorio clínico por su bajo costo y fácil realización, sin embargo, se debe tener presente que no todos los serotipos, son verdaderamente patogénicos [60], pues el marcador del serotipo no le confiere patogenicidad a la cepa; o la similitud de algunos antígenos, puede dar falsos positivos [2]). Para estos casos ha sido propuesto el uso de la PCR, la cual puede reducir el alto grado de falsos positivos obtenidos por serotipificación [61].

La selección del mejor método diagnóstico de ECST implicará lograr un equilibrio entre tiempo, especificidad, sensibilidad, y costo de los mismos. El laboratorio clínico de microbiología debe establecer el cultivo de las muestras fecales para constatar la presencia de ECST y poder realizar el diagnóstico microbiológico y molecular. El análisis de PCR de muestras aisladas de cultivos fecales, es probablemente el método más sensible y específico para la detección de ECST. Pero la mayoría de los laboratorios carecen de la capacidad de investigación por PCR o de análisis de verocitotoxicidad, que aunque es lenta, es una alternativa altamente satisfactoria, y emplean métodos tales como, ELISA para detección de Stx y enterohemolisina, análisis para detección del LPS, serología para la serotipificación, etc, que aunque son útiles en ciertas circunstancias, ellos son secundarios por razones de baja sensibilidad, o incapacidad de detectar todas las ECST.

## Tratamiento

La diarrea suele ser una afección autolimitada y la intervención terapéutica debe realizarse en función a los síntomas presentados. Los objetivos de una terapéutica eficaz serían: limitar la severidad y/o duración de síntomas gastrointestinales; prevenir las complicaciones sistémicas peligrosas para la vida tales como el SUH; y prevenir la expansión de la infección a otras personas. Para el tratamiento pueden usarse las siguientes estrategias:

**Uso de antibióticos:** Ciertos estudios sugieren asociación entre la administración de antibióticos con el aumento del riesgo a desarrollar SUH [62]. Sin embargo, en otra investigación realizada en Minnesota (EEUU), se le administró antibióticos a un grupo de pacientes que padecía de síndrome diarreico con evolución a SUH, y la enfermedad se tornó más leve [63]. Por otra parte, se ha demostrado que la proporción de los pacientes que progresaron de diarrea sanguinolenta a SUH es más baja, cuando los antibióticos son administrados en un plazo de 3 días del inicio de síntomas, comparados con los pacientes que no son tratados o a los que se les suministró antibióticos más adelante en el curso de la infección [64]). Además se ha reportado que la administración tardía del trimetoprim sulfametoxazol a los pacientes infectado con ECST O157, no previene la progresión a SUH [65].

Los antibióticos que dan lugar a lisis de la célula bacteriana, pueden aumentar la cantidad de Stx libre en el lumen del intestino, y quedar así disponible la toxina para la absorción sistémica. Este efecto es más pronunciado con antibióticos, tales como, trimetoprim sulfametoxazol y ciprofloxacina, que interfieren con síntesis de ADN bacteriano [66]. En segundo lugar, se ha observado un alto índice de resistencia a antibióticos de las cepas ECST, y el tratamiento inadecuado le puede conferir una ventaja selectiva a ésta, sobre otros miembros de la flora intestinal [67,68].

Existen estudios "*in vitro*" sobre la acción de ciertos antibióticos en la producción de las Stx1 y Stx2, donde se ha demostrado que la ampicilina, imipenem, cefaclor, ceftazidima, sulfatrimetoprim, son capaces de aumentar la liberación de ambas toxinas. La fosfomicina, si bien aumenta la liberación de ambas toxinas, sólo aumenta la incidencia de SUH cuando se usa después de los 7 días de comenzada la infección [69]. Los inhibidores de la síntesis proteica como la doxiciclina, tetraciclina y kanamicina, impiden que aumente la liberación de toxinas, pero tienen poca acción lítica sobre la bacteria [70].

**Estrategias terapéuticas dirigidas contra Stx:** Considerando la alta afinidad de Stx1 y Stx2 por el receptor Gb3, una estrategia podría ser la administración oral de análogos de Gb3 con capacidad para unir Stx y evitar su traslocación. Así se realizó un estudio multicéntrico controlado que evaluó los efectos de un compuesto formado por una matriz de silicona no absorbible que tenía ligado Gb3 (SYNSORB-Pk). Los pacientes que recibieron SYN-SORB-Pk tuvieron evolución similar del SUH que aque-

llos que no lo recibieron [71] lo que sugirió que una vez que comienza la diarrea sanguinolenta y la toxina ya llegó a la vasculatura sanguínea, impedir el pasaje de más Stx por la barrera intestinal, no presenta mayores beneficios.

La posibilidad de administrar absorbentes de toxina a nivel sistémico, así como anticuerpos monoclonales que neutralicen la citotoxicidad por bloqueo de los sitios de unión de la toxina Stx, puede ser otra estrategia a ser considerada [72]. En estudios previos se ha observado que mutantes no tóxicos de Stx2B, neutralizaron la acción de la toxina en mucosa colónica humana *in vitro*, y en células epiteliales tubulares renales humanas en cultivo [73]. Sin embargo, para que esta estrategia sea considerada válida deberá ser ensayada en un modelo animal de SUH que reproduzca la enfermedad humana. Recientemente se demostró en un modelo de ratón nulo para la síntesis del Gb3/CD77 (knock-out), que el daño tisular producido por Stx desaparece [73]. Esos resultados sugieren que la estrategia de neutralizar los receptores de Gb3 en los órganos blanco, puede ser un método efectivo para protegerlos contra los desórdenes relacionados con la patogénesis de ECST.

**Uso de vacunas:** Las vacunas basadas en Stx pueden ser eficaces en la prevención del SUH y la severidad de síntomas gastrointestinales. Se ha demostrado eficacia protectora de las vacunas para la protección contra Stx2e en cerdos; además se ha sugerido la inmunización transcutánea con la subunidad StxB como una práctica provechosa para la prevención o reducción de patología, aunque debe probarse su eficacia en humanos [74].

También pueden usarse vacunas para prevenir la colonización del intestino por ECST. Se espera que vacunas dirigidas contra los factores de colonización, por ejemplo, la intimina de ECST, puede ser un blanco apropiada para la vacunación, por lo menos para la mayoría de las cepas patógenas humanas de ECST, que la producen [75].

Las vacunas dirigidas contra LPS también pueden ser eficaces, puesto que la experiencia con otros patógenos entéricos sugiere que IgG específico presente en el suero contra LPS, puede dirigirse hacia el lumen del intestino en cantidades suficientes como para bloquear la colonización, sin embargo, debe acentuarse, que las vacunas basadas en LPS proporcionarán solamente protección serotipo específico [76].

## Conclusiones

En este trabajo se planteó la revisión de la biología de ECST, con particular énfasis en su patogénesis, diagnóstico y tratamiento. La patogénesis de este microorganismo involucra diversos niveles de interacción entre la bacteria y su hospedero, constituyendo cada una de las etapas de ese proceso, oportunidades para el desarrollo de terapias, y/o estrategias de prevención, a manera de controlar la aparición o dispersión de un brote. La infección por ECST parece ser de distribución universal, pero su prevalencia no se conoce en detalle en países en vías de desarrollo, detectándose siempre en forma de casos esporádicos. Sin em-

bargo, es posible que su frecuencia como causante de patología, esté infravalorada por las limitaciones que existen en torno a su diagnóstico. Diversos estudios han descrito la utilidad de la PCR como una técnica confiable, de alta sensibilidad y especificidad, en el diagnóstico de ECST. Su utilización en el ámbito de laboratorios clínicos no es de rutina en nuestro país, sin embargo, cada laboratorio debe elegir una técnica apropiada (serológica o molecular), a fin de poder detectarla de forma precoz y abordar eficientemente la patología causada por este patógeno emergente, causante de enfermedad gastrointestinal.

## Referencias

1. Tornieporth N, Jonh J, Salgado K, De Jesus P, Latham E, Melo M, *et al.* Differentiation of Pathogenic *Escherichia coli* strains in Brazilian Children by PCR. *J Clin Microbiol.* 1995; 33: 1371-4.
2. Tamaki Y, Narimatsu H, Miyazato T, Nakasone N, Higa N, Toma C, *et al.* The relation ship between O-antigen sand pathogenic genes of diarrhea-associated *Escherichia coli*. *Jpn J Infect Dis.* 2005; 58: 65-9.
3. Nataro J, Kaper J. Diarrheagenic *Escherichia coli*. *Clin Microbiol Rev.* 1998; 11:142-201.
4. Aranda R, Fagundes U, Scaletsky I. Evaluation of multiplex PCRs for diagnosis of infection with diarrheagenic *Escherichia coli* and *Shigella spp.* *J Clin Microbiol.* 2004; 42: 5849-53.
5. Konowalchuck J, Speirs JL, Stavric S. Vero response to a cytotoxin of *Escherichia coli*. *Infect Immun.* 1997; 18: 775-9.
6. O'Brien A, GD LaVeck, MR Thompson, Formal SB. Production of *Shigella dysenteriae* type I- like cytotoxin by *Escherichia coli*. *J Infect Dis.* 1977; 146: 763-9.
7. Levine M, Xu J, Kaper J, Lior H, Prado V, Tall B. A DNA probe to identify enterohemorrhagic *Escherichia coli* of O157:H7 and other serotypes that cause hemorrhagic colitis and hemolytic uremic syndrome. *J Infect Dis.* 1987; 156: 175-82.
8. Kaper J, Nataro J, Mobley H. Pathogenic *Escherichia coli*. *Nat Rev Microbiol.* 2004; 2: 123-40.
9. Blanco J, Blanco M, Alonso M, Mora A, Dahbi G, Coira MA, *et al.* Serotypes, Virulence Genes and Intimin Types of Shiga Toxin (Verotoxin)-Producing *Escherichia coli* Isolates from Human Patients: Prevalence in Lugo (Spain) from 1992 through 1999. *J Clin Microbiol.* 2004; 42: 311-9.
10. Beutin L, Krause G, Zimmermann S, Kaulfuss S, Gleier K. Characterization of shiga toxin-producing *Escherichia coli* strains isolated from human patients in Germany over a 3 year period. *J Clin Microbiol.* 2004; 42: 1099-8.
11. Bravo V, Villalobos L. *Escherichia coli* enterohemorrágica en productos cárnicos comercializados en el mercado municipal de Cumaná, Venezuela. *Rev Soc Ven Microbiol.* 2002; 22: 119-21.
12. Narváez C, Carruyo G, Moreno M, Rodas A, Hoet A, Witum T. Aislamiento de *Escherichia coli* O157:H7 en muestras de heces de ganado bovino doble propósito del municipio Miranda, estado Zulia, Venezuela. *Rev Cient.* 2007; 17: 239-45.
13. Frankel G, Phillips A, Novakova M, Batchelor M, Hicks S, Dougan G. Generation of *Escherichia coli* derivatives with differing biological activities using site-directed mutagenesis of the intimin C-terminus domain. *Mol Microbiol.* 1998; 29: 559-70.
14. Welinder-Olsson, C, Badenfors M, Cheasty T, Kjellin E, Kaijser B. Genetic profiling of enterohemorrhagic *Escherichia coli* strain in relation to clonality and clinical signs of infection. *J Clin Microbiol.* 2002; 40: 959-64.
15. Galli L, Leotta G, Gugliada M, Rivas M. In silico analysis of the capability of two polimerase chain reaction techniques for *stx* gene detection. *Rev Argent Microbiol.* 2008; 40(1): 9-12.
16. O'Brien AD, Holecms EK. Shiga and shiga-likes toxins. *Microbiol Revs.* 1987; 57: 206-20.
17. Cravioto A, Vázquez V, Soria A, Navaro A, Ortiz M. Producción de citotoxina tipo Shiga (SLT)1 en cepas de *Escherichia coli* aisladas de niños con diarrea en una comunidad rural. *Bol Med Hosp Infant Mex.* 1988; 45: 206-10.
18. Bettelheim K, Beutin L. Rapid laboratory identification and characterization of verocytotoxigenic (Shiga toxin-producing) *Escherichia coli* (VETC/STEC). *J Appl Microbiol.* 2003; 95: 205-17.
19. Law, D. The history and evolution of *Escherichia coli* O157 and other Shiga toxin producing E. coli. *W J of Microbiol Biotech.* 2000; 16: 701-9.
20. Muniesa M, Jofre J. Abundance in sewage of bacteriophages infecting *Escherichia coli* O157:H7. *Methods Mol Biol.* 2004; 268: 79-88.
21. Boerlin P, McEwen S, Boerlin-Petzold F, Wilson J, Johnson R, Gyles C. Associations between virulence factors of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* and disease in humans. *J. Clin. Microbiol.* 1999; 37: 497-503.
22. Loukiadis E, Kerouredan M, Beutin L, Oswald E, Brugere H. Characterization of ShigaToxin Gene (stx) Positive and Intimin Gene (eae)-Positive *Escherichia coli* Isolates from Wastewater of Slaughterhouses in France. *Appl Environ Microbiol.* 2006; 72(5): 3245-51.
23. Beutin L, Aleksic S, Zimmermann S, Gleier K. Virulence factors and phenotypic traits of verotoxigenic strains of *Escherichia coli* isolated from human patients in Germany. *Med Microbiol Immunol.* 1994; 183: 13-21.
24. Schmidt H, Beutin L, Karch H. Molecular analysis of the plasmid-encoded hemolysin of *Escherichia coli* O157:H7 strain 933. *Infect Immun.* 1995; 63: 1055-63.
25. Karch H, Heesemann J, Laufs R, O'Brien A, Tacked C, Levin M. A plasmid of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 is required for expression of a new fimbrial antigen and for adhesion to epithelial cells. *Infect Immun.* 1987; 55: 455-69.
26. Goldwater P, Bettelheim K. New perspectives on the role of *Escherichia coli* O157:H7 and other enterohaemorrhagic E. coli serotypes in human disease. *J Med Microbiol.* 1998; 47: 1039-45.
27. Donnenberg M, Tzipori S, McKee M, OBrien A, Alroy J, Kaper B. The role of the eae gene of enterohemorrhagic *Escherichia coli* in ntimate attachment in vitro and in a porcine model. *J Clin Invest.* 1993; 92: 1418-24.
28. Sherman P, Soni R, Karmali M. Attaching and Effacing adherence of Vero cytotoxin-producing *Escherichia coli* to rabbit intestinal epithelium *in vivo*. *Infect Immun.* 1988; 56: 756-61.
29. Perna N, George F, Mayhew G, Pósfai G, Elliott S, Donnenberg M, *et al.* Molecular evolution of a pathogenicity island from Entero-hemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7. *Infect Immun.* 1998; 66: 3810-7.
30. Hartland E, Daniell S, Delahay R, Neves B, Wallis T, Shaw R, *et al.* The type III protein translocation system of enteropathogenic *Escherichia coli* involves EspA-EspB protein interactions. *Mol Microbiol.* 2000; 35: 1483-92.

31. Tesh V, O'Brien A. The pathogenic mechanisms of shiga toxin and the shiga-like toxins. *Mol Microbiol.* 1991; 5:1817-22.
32. Paton J, Paton A. Pathogenesis and diagnosis of shigatoxin producing *Escherichia coli* infections. *Clin Microbiol Rev.* 1998; 11:450-79.
33. Robinson C, Sinclair J, Smith M, O'Brien A. Shiga toxin of enterohemorrhagic *Escherichia coli* type O157:H7 promotes intestinal colonization. *Proc Natl Acad Sci.* 2006; 103:9667-72.
34. Tarr P. *Escherichia coli* O157:H7: Clinical, diagnostic and epidemiological aspects of human infections. *Clin Infect Dis.* 1995; 20:1-10.
35. March S, Ratnam S. Sorbitol-MacConkey medium for detection of *Escherichia coli* O157:H7 associated with hemorrhagic colitis. *J Clin Microbiol.* 1986; 23:869-72.
36. Krishnan C, Fitzgerald V, Dakin S, Behme R. Laboratory investigation of outbreak of hemorrhagic colitis caused by *Escherichia coli* O157:H7. *J Clin Microbiol.* 1987; 25:1043-7.
37. Sowers E, Wells J, Strockbine N. Evaluation of commercial latex reagents for identification of O157 and H7 antigens of *Escherichia coli*. *J Clin Microbiol.* 1996; 34:1286-9.
38. Park, C, Vandel N, Hixon D. Rapid immunoassay for detection of *Escherichia coli* O157 directly from stool specimens. *J Clin Microbiol.* 1996; 34:988-90.
39. Chapman P, Siddons C, Zadik P, Jewes L. An improved selective medium for the isolation of *Escherichia coli* O157. *J Med Microbiol.* 1991; 35:107-10.
40. Fagan P, Hornitzky M, Bettelheim K, Djordjevic S. Detection of shiga-like toxin (stx1 and stx2), intimin (eaeA), and enterohemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC) hemolysin (EHEC hlyA) genes in animal feces by multiplex PCR. *Appl Environ Microbiol.* 1999; 65:768-82.
41. Grant M. Comparison of *Escherichia coli* O157:H7 enrichment in spiked produce samples. *J Food Prot.* 2008; 71:139-45.
42. Ojeda A, Prado V, Martinez J, Arellano C, Borczyk A, Johnson W, Lior H, Levine M. Sorbitol-negative phenotype among enterohemorrhagic *Escherichia coli* strains of different serotypes and from different sources. *J Clin Microbiol.* 1995; 33:2199-201.
43. Ammon A, Petersen LR, Karch H. A large outbreak of hemolytic uremic syndrome caused by an unusual sorbitol-fermenting strain of *Escherichia coli* O157:H. *J Infect Dis.* 1999; 179:1274-7.
44. Sue K. Role of the Laboratory in the Diagnosis of Enterohemorrhagic *Escherichia coli* Infections. *J Microbiol.* 2002; 40:2711-5.
45. Beutin L, Montenegro M, Orskov I, Orskov F, Prada J, Zimmermann S, et al. Close association of verotoxin (Shiga-like toxin) production with enterohemolysin production in strains of *Escherichia coli*. *J Clin Microbiol.* 1989; 27:2559-64.
46. Aldick T, Bielaszewska M, Zhang W, Brockmeyer J, Schmidt H, Friedrich A, et al. Hemolysin from Shiga toxin-negative *Escherichia coli* O26 strains injures microvascular endothelium. *Microb Infec.* 2007; 9:282-90.
47. Konowalchuck J, Speirs JL, Stavric S. Vero response to a cytotoxin of *Escherichia coli*. *Infect Immun.* 1997; 18:775-9.
48. Hammermueller J, Gyles C. The development of a rapid bioluminescent Vero cell assay. In M. A. Karmali and A. G. Goglio editors, *Recent advances in verocytotoxin-producing Escherichia coli* infections. Amsterdam. Elsevier Science BV. 1994. p. 113-6.
49. Marzocca M, Marucci P, Sica M, Alvarez E. Detección de *Escherichia coli* O157: H7 en carne picada fresca y hamburguesas congeladas. *Rev Argent Microbiol.* 2006; 38:38-40.
50. Downes F, Green J, Greene K, Strockbine N, Wells J, Wachsmuth I. Development and evaluation of enzyme-linked immunosorbent assays for detection of Shiga-like toxin I and Shiga-like toxin II. *J Clin Microbiol.* 1989; 27:1292-7.
51. Bennett A, MacPhee S, Betts R. Evaluation of methods for the isolation and detection of *Escherichia coli* O157 in minced beef. *Let App Microbiol.* 2008; 20:375-9.
52. Thomas A, Smith H, Willshaw G, Rowe B. Non-radioactively labelled polynucleotide and oligonucleotide DNA probes, for selectively detecting *Escherichia coli* strains producing Vero cytotoxins VT1, VT2, and VT2 variant. *Mol Cell Probes.* 1991; 5:129-35.
53. Jablonski E, Moomaw E, Tullis R, Ruth J. Preparation of oligodeoxynucleotide-alkaline phosphatase conjugates and their use as hybridization probes. *Nucleic Acids.* 1986; 14:6115-28.
54. Toma C, Lu Y, Higa N, Nakasone N, Chinen I, Baschkier A, Rivas M, Iwanaga M. Multiplex PCR Assay for Identification of Human Diarrheagenic *Escherichia coli*. *J Clin Microbiol.* 2003; 41:2669-71.
55. Pollard D, Johnson W, Lior H, Tyler S, Rozee K. Rapid and specific detection of verotoxin genes in *Escherichia coli* by the polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol.* 1990; 28:540-5.
56. Vidal M, Carreño M, Vidal R, Arellano C, Solari V, Prado V. Evaluación de técnicas moleculares e inmunoenzimáticas para la detección de *E coli* enterohemorrágico en brotes de toxi-infecciones alimentarias. *Rev Med Chile.* 2002; 130:603-9.
57. Karch H and Meyer T. Single primer pair for amplifying segments of distinct Shiga-like toxin genes by polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol.* 1989; 27:2751-7.
58. Reymond D, Karmali M, Clarke I, Winkler M, Petric M. Comparison of the Western blot assay with the neutralizing-antibody and enzyme-linked immunosorbent assays for measuring antibody to verocytotoxin 1. *J Clin Microbiol.* 1997; 35:609-13.
59. Bitzan M, Karch H. Indirect hemagglutination assay for diagnosis of *Escherichia coli* O157 infection in patients with hemolytic-uremic syndrome. *J Clin Microbiol.* 1992; 30:1174-8.
60. Paciorek, J. Virulence properties of *Escherichia coli* fecal strains isolated in Poland from healthy children and strains belonging to serogroups O18, O26, O44, O86, O126 and O127 isolated from children with diarrhea. *J Med Microbiol.* 2002; 51:548-56.
61. Ji-Rong Y, Fang-Tzy W, Jin-Lai T, Jung-Jung M, Ling-Fen L, Kuang-Lo Ch, et al. Comparison between O Serotyping Method and Multiplex Real-Time PCR To Identify Diarrheagenic *Escherichia coli* in Taiwan. *J Clin Microbiol.* 2007; 45:3620-5.
62. Riley L, Remis R, Helgerson S, McGee H, Wells J, Davis B, et al. Hemorrhagic colitis associated with a rare *Escherichia coli* serotype. *N Engl J Med* 1983; 308:681-85.
63. Martin D, MacDonald K, White K, Soler J, Osterholm M. The epidemiology and clinical aspects of the hemolytic uremic syndrome in Minnesota. *N Engl J Med.* 1990; 323:1161-7.
64. Shiomi M, Togawa M, Fujita K, Murata R. Effect of early oral fluoroquinolones in hemorrhagic colitis due to *Escherichia coli* O157 : H7. *Pediatr Int.* 1999; 41:228-32.

65. Proulx F, Turgeon J, Delage G, Lafleur L, Chicoine L. Randomized controlled trial of antibiotic therapy for *Escherichia coli* O157:H7 enteritis. *J Pediatr*. 1992; 121:299-303.
66. Walterspiel J, Ashkenazi S, Morrow A, Cleary T. Effect of subinhibitory concentrations of antibiotics on extracellular Shiga-like toxin I. *Infection*. 1992; 20:25-9.
67. Cordovez A, Prado V, Maggi L, Cordero J, Martinez J, Misraji A, et al. Enterohemorrhagic *Escherichia coli* associated with hemolytic-uremic syndrome in Chilean children. *J Clin Microbiol*. 1992; 30:2153-7.
68. Prado V, Basualdo W, Arellano C, Martinez J, Levine M: Susceptibilidad in vitro de *Escherichia coli* enterohemorrágicas frente a 11 antimicrobianos. *Rev Med Chile*. 1995; 123:1085-90.
69. Yoh M, Aoki T, Akao M, Sakaue Y, Tsubura E, Honda T. Report of a questionnaire about enterohemorrhagic *Escherichia coli* cases caused in the area including Sakai City in 1996. *Kansenshogaku Zasshi*. 1997; 71:1144-54.
70. Ito T, Akino E, Hiramatzu K. Evaluation of antibiotics used for enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157 enteritis-effect of various antibiotics on extracellular release of verotoxin. *Kansenshogaku Zasshi*. 1997; 71:130-5.
71. Trachtman H, Cnaan A, Christen E, Gibbs K, Zhao S, Acheson D, et al. Effect of an oral Shiga toxin-binding agent on diarrhea-associated hemolytic uremic syndrome in children: a randomized controlled trial. *JAMA*. 2003; 290:1337-44.
72. Thorpe C. Shiga toxin-producing *Escherichia coli* infection. *Clin Infect Dis*. 2004; 38:1299-303.
73. Castro-Parodi M, Levi L, Ibarra C. Neutralización de la acción de la toxina Shiga por un péptido de Stx2B que no tiene efecto citotóxico per se. *Medicina (Buenos Aires)*. 2005; 65:108.
74. Zhu C, Yu J, Yang Z, Davis K, Rios H, Wang B, et al. Protection against Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* Infection by Transcutaneous Immunization with Shiga Toxin Subunit B. *Clin Vac Immunol*. 2008; 15:359-66.
75. Butterton J, Ryan E, Acheson D, Calderwood S. Coexpression of the B subunit of Shiga toxin 1 and EaeA from enterohemorrhagic *Escherichia coli* in *Vibrio cholerae* vaccine strains. *Infect Immun*. 1997; 65:2127-35.
76. Konadu E, Donohue A, Calderwood S, Pozsgay V, Shiloach J, Robbins J, Szu S. Syntheses and Immunologic Properties of *Escherichia coli* O157 O-Specific Polysaccharide and Shiga Toxin 1 B Subunit Conjugates in Mice. *Infect Immun*. 1999; 67:6191-3.