

Categorías enteropatógenas de *Escherichia coli* en alimentos

Guillermo Barreto Argilagos*, Martha Sedrés Cabrera**, Marislaidis Ricardo Cuz*** y Angel Ortiz López**

* Centro de Estudios para el Desarrollo de Producciones Agropecuarias (CEDEPA). Universidad de Camagüey

** Centro Provincial de Higiene, Epidemiología y Microbiología "Mártires de Pino Tres". Ministerio de Salud Pública. Camagüey

*** Empresa Provincial de Suministros Médicos

RESUMEN

En el trabajo se establece la presencia de categorías enteropatógenas de *E. coli* a partir de 145 muestras de alimentos (46 productos lácteos; 45 derivados cárnicos y 54 clasificados como "otros alimentos"). En los alimentos positivos a coliformes se identificaron las cepas compatibles con *E. coli* y se diferenciaron en categorías enteropatógenas. Los alimentos analizados mostraron una deficiente calidad higiénico-sanitaria, pues 64 (49,1%) fueron positivos a *E. coli*. La presentación de las categorías enteropatógenas investigadas por alimento fue: ECEH (8,57%) fundamentalmente en productos cárnicos y lácteos; ECEI (4,76%) y ECET (1,9%) predominaron en "otros alimentos". Por carencia de antiseros específicos no se estableció la presentación de ECEP; no obstante, existen todas las probabilidades de que se encuentre en proporciones superiores a las categorías investigadas.

ABSTRACT

145 food samples (46 dairy products, 45 meat products, and 54 classified as "other food products") were analyzed to determine *E. coli* enteropathogen categories presence. *E. coli* compatible strains were identified and distributed into enteropathogen categories in food positive to coliforms. Analyzed food showed a failing in hygiene and sanitary quality standards: 64 food samples (49,1%) were positive to *E. coli*. Enteropathogen categories per food sample were: ECEH (8,57%) mainly in dairy and meat products; ECEI (4,76%) and ECET (1,9%) in "other food products". ECEP category could not be established due to specific antisera lack; however, it is highly probable that this category presence surpasses the above mentioned ones.

PALABRAS CLAVES: *Escherichia coli*, enteropatógenos, alimentos

INTRODUCCIÓN

En las dos últimas décadas se ha apreciado un marcado incremento en la incidencia registrada de intoxicaciones alimentarias microbianas en Europa y Norteamérica. Concretamente, se ha visto un aumento en la frecuencia de salmonelosis, enteritis por *Campylobacter*, listeriosis y colitis hemorrágica, debida esta última a *E. coli* enterohemorrágica (ECEH) serotipo O157:H7 (Blanco *et al.*, 1996a; Barreto *et al.*, 1998; 1999; Nataro y Kaper, 1998).

En Cuba, desde el inicio de la década del 80 se suprimió el diagnóstico de *E. coli* en las investigaciones de rutina a pacientes con enfermedad diarreica aguda (EDA) sin embargo, en la actualidad se reconocen 5 categorías enteropatógenas de *E. coli*: enterotoxigénicas (ECET), enteroinvasivas (ECEI), enteropatógenas clásicas (ECEP), enterohemorrágicas (ECEH) y enteroagregativas (ECEAgg) (Rosa *et al.*, 1998). Dos de estas categorías reciben una atención especial por parte de la Organización Mundial de la Salud (OMS): ECET ya que *per se* o asociada a rotavirus, ocasiona el 80% de los casos de enfermedad diarreica aguda (EDA) a nivel mundial (Agüero *et al.*, 1985; Blanco y Blanco, 1993; Valdespino *et al.*, 1994). En algunas regiones del mundo las EDA constituyen la tercera parte de los ingresos en los hospitales. Esta situación resulta más dramática en los países en vías de desarrollo, donde esta enfermedad constituye la principal causa de morta-

lidad (Riverón, 1992). ECEH constituye la otra categoría priorizada, en este caso, debido a su potencial letalidad, al estar asociada a cuadros clínicos de mayor riesgo para la salud humana como son la colitis hemorrágica y el síndrome urémico hemolítico (Boyce *et al.*, 1995; Barreto *et al.*, 1998; 1999; Nataro y Kaper, 1998). ECEH está considerado dentro de los agentes zoonóticos cuya presentación en el nuevo siglo se incrementará (Martínez, 2000)¹.

La frecuencia de presentación de ECEI es menor, al menos en Iberoamérica (Valdespino *et al.*, 1994). Provoca cuadros clínicos compatibles a los ocasionados por *Shigella*, principal enteropatógeno en los cuadros de EDA que afectan a la población infantil de Camagüey (Raquel I., Hernández, 2000; comunicación personal)². El comportamiento bioquímico, en los ensayos clasificatorios de rutina, en la generalidad de los casos no permite diferenciar a ECEI de *Shigella*, por lo que muchos cuadros, asumidos como shigelosis, muy bien que podrían estar ocasionados por ECEI.

ECEP constituye uno de los enteropatógenos más frecuentes en los cuadros de EDA de los países en vías

¹ Martínez, J. A.: Conferencia magistral Epizootiología en el año 2000. XI Jornada Provincial de Ciencias Veterinarias. Camagüey, Cuba, 27 de noviembre de 1999.

² Hernández, Raquel I: Responsable de la Sección de Enterobacterias del Centro Provincial de Higiene, Epidemiología y Microbiología "Mártires de Pino Tres". Camagüey, Cuba.

de desarrollo, en los que afecta, mayormente, a la población infantil, sobre todo, a los menores de un año (Rosa *et al.*, 1998). Incluso en países del denominado primer mundo, ha ocasionado brotes de importancia (Baldwin, 1998). Pese al interés de su diagnóstico en nuestro medio, dada la carencia de inmunosuecos específicos, no se contemplará en el presente estudio.

La categoría ECEAgg es la de más reciente estudio. Se ha vinculado a brotes de diarreas persistentes, de una duración superior a las dos semanas (Nataro y Kaper, 1998). Debido a la complejidad de los métodos para su diagnóstico, tampoco estará entre las categorías a estudiar en esta investigación.

La principal vía de transmisión de todas estas categorías enteropatógenas la constituyen los alimentos y aguas contaminadas. En países desarrollados se ha establecido que los productos cárnicos de origen bovino, con deficiente cocción, en especial las hamburguesas y la leche no pasteurizada, constituyen la fuente de contagio principal en el caso de ECEH (Blanco *et al.*, 1996 a y b). Anualmente 20 000 ciudadanos norteamericanos son afectados por esta causa (Boyce *et al.*, 1995). No obstante, en otras latitudes se han reportado otras vías de transmisión que incluyen el agua, otros alimentos como yogures artesanales, sidra de manzana, embutidos, etc. Debido a que la dosis infectiva es extremadamente baja, la transmisión persona-persona, vía fecal-oral resulta muy importante (Barreto *et al.*, 1998, 1999; Nataro y Kaper, 1998).

Por todo lo antes expuesto, y dado el auge de las ventas de productos alimenticios por productores particulares, se trazó el objetivo de establecer la frecuencia de presentación de ECEH, ECET y ECEI en muestras de alimentos controlados en el Centro Provincial de Higiene, Epidemiología y Microbiología "Mártires de Pino Tres" de Camagüey, Cuba.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se estudió un total de 145 muestras de alimentos desglosadas en: 46 productos lácteos; 45 productos cárnicos y 54, designados como "otros alimentos". A todas las muestras se les determinó presencia de coliformes (NC 38-02-14, 1989). Las colonias con imagen de *E. coli* se identificaron según lo sugerido por Edwards y Ewing (1986) y se diferenciaron en categorías enteropatógenas acorde a lo estipulado por Barreto *et al.* (1999).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El estudio inicial, efectuado a partir de las muestras positivas a coliformes, demostró que 64 (44,1%) de las mismas eran positivas a *E. coli*. Este resultado demuestra la pobre calidad higiénico sanitaria de estos productos, que no cumplen lo establecido por las normas nacionales e internacionales (Instituto Panamericano de Protección de Alimentos y Zoonosis, INPPAZ, 1996).

Los productos cárnicos fueron los más afectados (75,50%), seguidos de los lácteos (39,10%) y "otros alimentos" (22,20%). Esta contaminación puede ser el resultado de una deficiente manipulación (Blanco *et al.*, 1996 b) pero, además, puede estar determinada por gérmenes procedentes de la flora normal del animal (Blanco y Blanco, 1993; Barreto *et al.*, 1998).

Acorde al criterio de Edwards y Ewing (1986) 105 de las cepas aisladas eran compatibles con *E. coli*. Para su diferenciación en las categorías enteropatógenas a investigar, se aplicó el esquema sugerido por Barreto *et al.* (1999). El mismo tiene sus bases en el comportamiento hemolítico de esta especie (Barreto, 1995), en base al cual, las 105 cepas en estudio se dividieron en: 16 cepas con hemólisis total, tanto en agar sangre (AS) como en agar eritrocitos lavados (AEL); 9 cepas con hemólisis turbia tardía, sólo en AEL, y 80 cepas no hemolíticas. El primer grupo se descartó, pues comprende cepas de la flora normal y del tipo necrotizante (ECNC) (Blanco y Blanco, 1993; Barreto, 1995; Blanco *et al.*, 1996 b). El segundo grupo abarca a las cepas potencialmente enterohemorrágicas; 7 de ellas no fermentaban el sorbitol, carácter asociado al serotipo O157:H7 (March y Ratnam, 1986; Blanco *et al.*, 1993; Barreto, 1995). De acuerdo a su aislamiento, 4 procedían de productos cárnicos; 4 de lácteos y 1 se aisló de un huevo hervido. Estos hallazgos, en los dos primeros casos se corresponden con lo reportado en la literatura (Blanco *et al.*, 1993; Blanco *et al.*, 1996 a y b; Barreto *et al.*, 1998; Nataro y Kaper, 1998). La presencia de ECEH en el huevo hervido se podría asociar a una contaminación provocada por los manipuladores, aspecto muy probable, sin embargo, existen reportes del aislamiento de ECEH O157:H7 en mayonesas (INPPAZ, 1996)

Del total de cepas no hemolíticas sólo 2 (2,32%) brindaron un comportamiento compatible con ECET. Este resultado no era el esperado, ya que esta categoría, como ya se mencionó, es la más frecuente en los casos de EDA en los países en vías de desarrollo, y su transmisión al humano tiene lugar a través de las aguas y alimentos contaminados con heces portadoras de esta variedad de *E. coli* (Blanco *et al.*, 1993; Valdespino *et al.*, 1994; Blanco *et al.*, 1996 a y b). Es preciso señalar que la técnica utilizada posibilitaba la detección de ECET portadoras de fimbrias CFA/I y/o CFA/II que son las más frecuentes en las cepas de esta categoría, que afectan al humano. No obstante, existen otros factores de adhesión, no detectables por este esquema, y que propiciarían el mecanismo de infección propio de ECET, como es el caso de los tipos fimbriales CFA/III, PCFO159, PCFO148, entre otros (Blanco *et al.*, 1993; Barreto *et al.*, 1998). Es preciso tener en cuenta este aspecto para estudios ulteriores al respecto, que confirmen si realmente la presencia de ECET en alimentos

es tan baja, o es que están circulando cepas portadoras de adhesinas diferentes a CFA/I y CFA/II.

Dentro del grupo de cepas no hemolíticas, 5 (5,81%) resultaron ECEI. Esta categoría es poco frecuente en América Latina, aunque se ha reportado en niños menores de 4 años afectados de EDA en México (Valdespino *et al.*, 1994). Es preciso destacar que esta pobre frecuencia de presentación, puede estar influida por la escasa atención que se le ha dado y a su similitud con *Shigella* desde el punto de vista bioquímico y clínico (Prats y Llovet, 1995). En un estudio realizado paralelamente, en niños menores de cinco años afectados de EDA, el 11,5% de los mismos presentaba en sus heces ECEI y, erróneamente se habían valorado como casos de shigelosis (Barreto *et al.*, 2000).

Como se aprecia, quedaron 73 cepas no hemolíticas que no se pudieron categorizar debido a la carencia de los inmunosueros específicos para ECEP. Esta categoría, al igual que ECET y ECEI, en el caso de las cepas de origen humano, no brindan hemólisis en el ensayo desarrollado en los medios AS y AEL (Barreto, 1995; Barreto *et al.*, 1999). Resulta interesante que en el estudio ya citado, 49 de los niños, todos menores de seis meses, presentaron *E. coli* como único aislamiento; las cepas fueron negativas a los ensayos para EHEC, ECEI y ECET y los cuadros clínicos no fueron compatibles con los descritos para ECEAgg, por lo que sólo resta pensar en ECEP (Barreto *et al.*, 2000). No obstante, esto es algo que debe ser demostrado en la práctica en estudios posteriores. Si se tiene en cuenta que existen las condiciones idóneas para la proliferación de esta categoría enteropatógena en la infinidad de alimentos ofertados en la vía pública por productores que, en su mayoría, no cumplen con las normas higiénico-sanitarias establecidas, es lógico suponer que la ulterior transmisión al consumidor es algo frecuente, por lo que, muchos de los casos de EDA, tan abundantes en los meses de verano, muy bien pueden deberse a ECEP, máxime, cuando *E. coli* como especie enteropatógena no se investiga, en los casos de EDA, desde 1982.

REFERENCIAS

AGÜERO, M. E.; L. REYES Y V. PRADO: ETEC in a Population of Infants with Diarrhea in Chile. *J. Clin. Microbiol.* 22: 576-581, 1985.

BALDWIN, T. J.: The 18th. CL. Oakley Lecture. Pathogenicity of Enteropathogenic *E. coli*. *J. Med. Microbiol.* 47 (4): 283-293, 1998.

BARRETO, G.: Técnica para el diagnóstico de *E. coli* verotoxigénico (VTEC). *Rev. prod. anim.* 9: 71-74, 1995.

BARRETO, G.; O. JIMÉNEZ Y S. DÍAZ: *E. coli* verotoxigénico (VTEC): una nueva variedad; un nuevo riesgo. Artículo de revisión. *Rev. prod. anim.* 10: 5-26, 1998.

BARRETO, G.; M. SEDRÉS, A. ORTIZ Y M. RICARDO: Esquema para el diagnóstico de *E. coli* enterohemorrágica y otras categorías enteropatógenas a partir de alimentos. *Rev. prod. anim.* 11: 39-43, 1999.

BARRETO, G.; R. I. HERNÁNDEZ, A. ORTIZ Y L. L. SANTIAGO: Presencia de *E. coli* enterohemorrágica y otras categorías enteropatógenas en pacientes con enfermedad diarreica aguda. *El Archivo Médico de Camagüey. Revista Referativa Electrónica 2000* (Aceptado para publicar).

BLANCO, J. Y M. BLANCO: ETEC, VTEC y NCEC de origen humano y bovino. Patogénesis, epidemiología y diagnóstico microbiológico. Servicio de publicaciones Diputación Provincial San Marcos. Lugo (Galicia) España, p.p. 35-48;; 71-77; 104-107,1993.

BLANCO, J. E.; M. BLANCO, J. BLANCO Y M. P. ALONSO: *E. coli* toxigénicos en alimentos y muestras clínicas de origen humano y animal. Patogénesis y epidemiología. *Med. Vet.* 13: 207-221, 1996^a.

BLANCO, J.; J. E. BLANCO, A. MORA, M. RÍO, C. PRADO, M. P. ALONSO Y A. RODRÍGUEZ: ECVT, un importante patógeno emergente responsable de intoxicaciones alimentarias. *Alimentaria. Sep.*: 93-96, 1996b.

BOYCE, T. G.; D. L. SWERDLOW Y P. M. GRIFFIN: *E. coli* O157:H7 and the Hemolytic Uremic Syndrome. *N. Engl. J. Med.* 10: 364-368, 1995.

EDWARDS, P. R. Y W. H. EWING: The Genus *Escherichia*. En Edwards and Ewing Identification of Enterobacteriaceae. New York. 4th ed. Elsevier, p. p. 93-134, 1986.

INSTITUTO PANAMERICANO DE PROTECCIÓN DE ALIMENTOS Y ZONOSIS (INPPAZ): Contaminación microbiana de los alimentos vendidos en la vía pública en ciudades de América Latina y características socio-económicas de sus vendedores y consumidores. ISBN 92 75 322002 3. INPPAZ, p. p. 16-19; 27-28, 1996.

MARCH, S. B. Y S. RATNAM: Sorbitol-MacConkey Medium for Detection of *E. coli* O157:H7 Associated with Hemorrhagic Colitis. *J. Clin. Microbiol.* 23: 869-872, 1986.

NATARO, R. J. Y J. B. KAPER: Diarrheagenic *E. coli*. *Clinical Microbiology Reviews.* 11 (1): 142-201, 1998.

NC 38-02-14: Normas sanitarias de alimentos. Determinación cuantitativa de coliformes fecales. Métodos y ensayos microbiológicos. Cuba, 1989.

PRATS, G. Y T. LLOVET: ECEI. Patogénesis y Epidemiología. *Microbiología SEM.* 11: 91-96, 1995.

RIVERÓN, R. L: Etiología infecciosa de las EDA. Editorial Ciencias Medicas. La Habana, p. p. 14-16, 1992

ROSA, A. C.; A. T. MARIANO, A. M. PEREIRA, A. TIBANA, T. A. GÓMEZ Y J. R. ANDRADE: Enteropathogenicity Markers in *E. coli* Isolated from Infants with Acute Diarrhoea and Healthy Controls in Rio de Janeiro, Brazil. J. Med. Microbiol. 47 (9): 781-790, 1998.

VALDESPINO, J. L.; M. L. GARCÍA Y A. DEL RÍO: Epidemiología y etiología de las diarreas infecciosas. El caso de México. Rev. Lat-amer. Microbiol. 36 (4): 307-324, 1994.