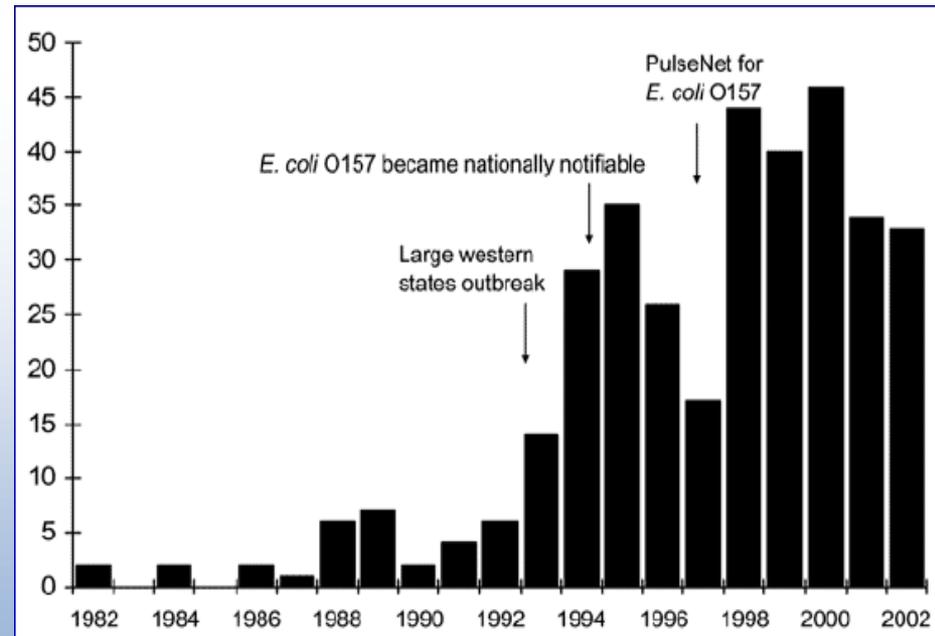


Brotos de *E. coli* O157

**Los brotes de STEC O157
históricamente se asociaron
a bajas tasas de
hospitalización y SUH**

Brotos de STEC O157

- ❑ 350 brotes en EEUU (1982-2002).
- ❑ 8598 casos:
 - ✓ 17,4% hospitalizados
 - ✓ 4,1% SUH
 - ✓ 0,5% fallecidos



*Rangel et al. *Emerg Infect Dis* 2005;11:603

Brotos de STEC O157 en 2006

❑ Espinaca (AGO-SEP)*

- 204 casos en 26 estados
- 51% hospitalizados
- 15% SUH
- 1% muertes



Promedio hospitalización: 63% (x 3.7).
Promedio SUH: 13% (x 3.2).

❑ Lechuga (NOV-DIC)*

- 71 casos en 5 estados
- 75% hospitalizados
- 11% SUH



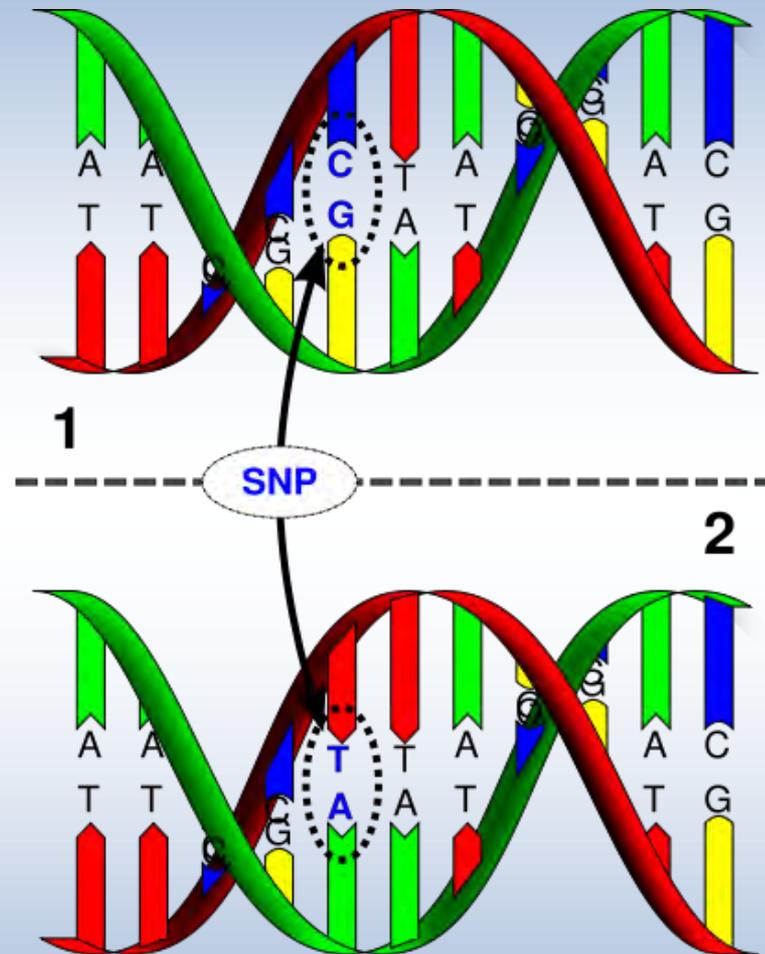
Caracterización de *E. coli* O157

- ❑ PulseNet revela que en los dos brotes se encuentra un único perfil de PFGE.
- ❑ PFGE no es aplicable a análisis filogenéticos
- ❑ MLST no muestra diversidad genética entre las cepas de *E. coli* O157 (Nollen et al. J Clin Microbiol. 2003, 41: 675).

Caracterización de *E. coli* O157

- ❑ Se propone análisis de SNP (single nucleotide polymorphism = polimorfismo de nucleótido único)
 - Resuelve aislamientos estrechamente relacionados
 - Infiere datos evolutivos
 - Permite detectar clones patógenos

Polimorfismo de nucleótido único (SNP)



Mutación puntual exitosa evolutivamente como para establecerse en más del 1% de la población

Caracterización de *E. coli* O157

- ❑ SNP loci en 83 genes.
- ❑ Se desarrolló una PCR en tiempo real para estudiar los SNP en cada locus.



Manning et al. PNAS. 2008; 105: 4868-4873.
Riordan et al. JCM. 2008; 46: 2070-2073.

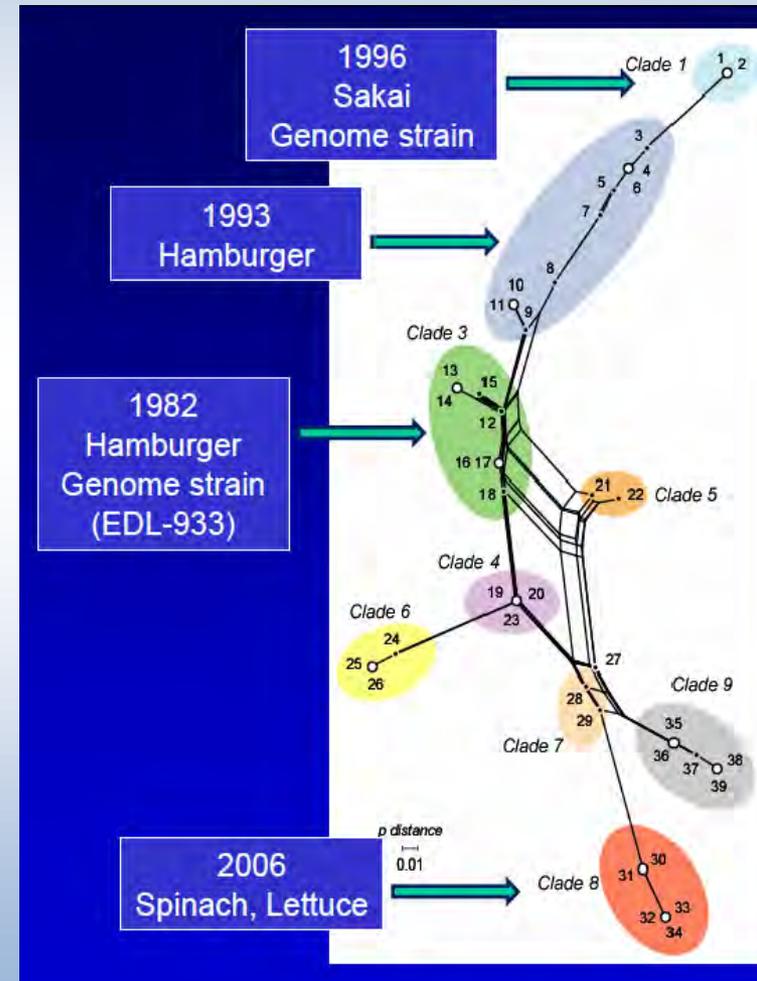
Cepas y clados asociados a brotes: casos, hospitalizaciones y SUH

Cepa	Año	Alimento País	Clado	Nº de casos	Nº hospitalizados (%)	Nº de SUH (%)
Sakai	1996	Brote de rabanitos Japón	1	5.000 – 12.680	398-425 (3-5)	0-122 (0-3)
93-111	1993	Hamburguesa 5 Estados NO, EE.UU.	2	583	171(29)	41 (7)
EDL-933	1982	Hamburguesa Michigan y Oregon, EE.UU.	3	47	33 (70)	0 (0)
TW14359	2006	Espinaca 26 Estados de EE.UU.	8	204	104 (51)	31 (15)
TW14588	2006	Lechuga Estados Este, EE.UU.	8	71	53 (75)	8 (11)

Clon Prevalente de *E. coli* O157

Emergencia del clado 8

- Cepas hipervirulentas
- Perfil genotípico: *stx*_{2a} / *stx*_{2c} / *eae* / *ehxA*
- Enfermedad humana, y reservorios
- Diseminado a nivel mundial
- > Porcentaje de hospitalización
- > Porcentaje de casos de SUH
- > Frecuencia en niños más pequeños
- > Frecuencia en sexo femenino
- Asociación significativa entre severidad/ duración de la enfermedad y pertenencia a un clado determinado



Genotypic characterization of *Escherichia coli* O157:H7 strains that cause diarrhea and Hemolytic Uremic Syndrome in Neuquén, Argentina

Pianciola Luis¹, Chinen Isabel², Mazzeo Melina¹, Miliwebsky Elizabeth², González Gladys³, Müller Constanza¹, Carbonari Carolina², Navello Mariano¹, Zitta Eugenia¹, Rivas Marta².

1-Laboratorio Central. Subsecretaría de Salud de Neuquén.

2-Servicio Fisiopatogenia. INEI-ANLIS "Dr. Carlos G. Malbrán".

3-Laboratorio de Microbiología. Hospital "Dr. Horacio Heller".



Colección de cepas STEC O157:H7 1998 - 2011

70 cepas
en total

- Un aislamiento por paciente
- Un aislamiento por brote

Origen de
las cepas

- 44 (62,9%) de SUH
- 19 (27,1%) de diarreas
- 7 (10.0%) de patologías sin especificar

Clados y genotipos de SNP

Clado 8

- **64/70 (91,4%)**
- SG 31: 36/64 (56,2%)
- SG 30: 28/64 (43,8%)
- No hubo SG 32, 33 ni 34

Clado 3

- **1/70 (1,4%)**

5 cepas (7,2%)

- SG 20/23 de clados 4/5 o bien
inclasificables por estos esquemas

Genotipos de *stx* y clados

<i>stx2</i> genotype	Clade 8 No. (%) (n=64)	Clades non-8 No. (%) (n=6)	P value
<i>stx</i> _{2a} / <i>stx</i> _{2c}	52 (81.2)	3 (50.0)	0.08
<i>stx</i> _{2a}	9 (14.0)	2 (33.3)	0.21
<i>stx</i> _{1a} / <i>stx</i> _{2a} / <i>stx</i> _{2c}	1 (1.6)	0	NA ^a
<i>stx</i> _{1a} / <i>stx</i> _{2c}	0	1 (16.7)	NA
<i>stx</i> _{2c}	1 (1.6)	0	NA
<i>stx</i> negative	1 (1.6)	0	NA

^aNA: no aplicable

Determinantes putativos de virulencia

ECSP_3620 y
ECSP_0242:

• 100%

ECSP_3286:

• 62 (88,6%)

ECSP_2870:

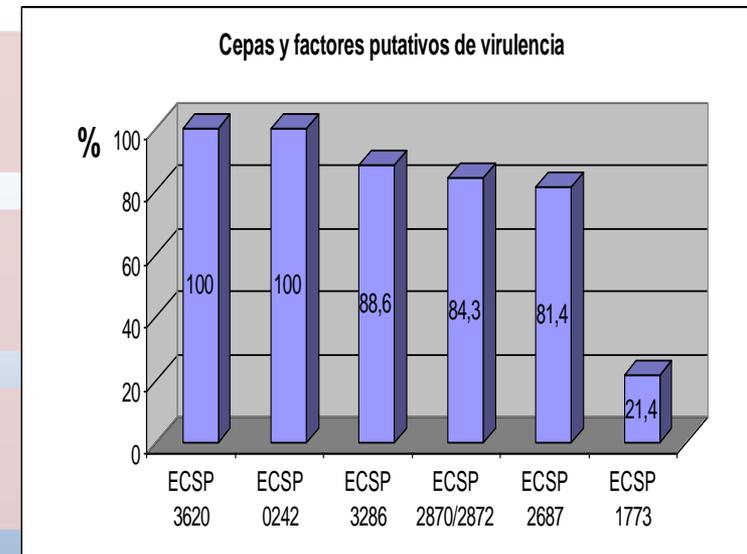
• 59 (84,3%)

ECSP_2687:

• 57 (81,4%)

ECSP_1773:

• 15 (21,4%)



3620: norV, 2870/2872: vegetales, 2687/1773: rta inmune, 0242: P-P, 3286: hemo

Alelos *q*

q933

- 67/69 (97,1%)
- 3 aislamientos con amplicón mayor que el esperado (1500 pb vs. 1000 pb)

q21

- 59/69 (85,5%)

q933 y q21

- ausentes en la cepa *stx*-negativa

Conclusiones

Este estudio muestra una amplia caracterización molecular de las cepas de *E. coli* O157 circulantes en Neuquén.

Se describe por primera vez en Argentina y en el mundo la circulación casi excluyente de cepas del clado 8 hipervirulento.

Las cepas muestran la presencia de factores de virulencia y reguladores de la expresión de genes *stx* en porcentajes superiores a los informados previamente.

Todos estos nuevos conocimientos permitirían explicar la alta incidencia de SUH en Neuquén

Phylogenetically related Argentinean and Australian *Escherichia coli* O157 are distinguished by virulence clades and alternative Shiga toxin 1 and 2 prophages

Glen E. Mellor^a, Eby M. Sim^a, Robert S. Barlow^a, Beatriz A. D'Astek^b, Lucia Galli^b, Isabel Chinen^b, Marta Rivas^b and Kari S. Gobius^{a,*}

^aCSIRO Food and Nutritional Sciences, PO Box 745, Archerfield BC, QLD 4108, Australia.

^bServicio Fisiopatogenia, Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas – ANLIS "Dr. Carlos G. Malbrán". Av. Vélez Sarsfield 563 (1281) Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

Materiales y Métodos

De cada país se seleccionaron 30 cepas humanas y 30 cepas bovinas

Resultados

Motilidad: El 100% de las cepas Argentinas fueron móviles solo el 23% de las cepas Australianas lo fueron

Distribución de los genotipos *stx*

<i>stx</i> genotype	Argentina			Australia		
	Human (n=30)	Cattle (n=30)	Total (n=60)	Humano (n=30)	Bovino (n=30)	Total (n=60)
<i>stx1</i>	1	2	3	3	-	3
<i>stx1/stx2</i>	-	2	2	1	1	2
<i>stx1/stx2/stx2c</i>	3	3	6	-	-	-
<i>stx1/stx2c</i>	2	4	6	17	20	37
<i>stx2</i>	6	3	9	-	-	-
<i>stx2/stx2c</i>	16	10	26	-	1	1
<i>stx2c</i>	2	6	8	9	8	17

Resultados

Linaje (LSPA-6)

- **LI/II**: 88% en ambos países
- **LI**: 4% (3 cepas Argentinas 1 Australiana)
- **LII**: 7%; 4/60 solo en cepas australianas (Cepas bovinas)

Determinación del clado de virulencia (SNPs)

Argentina	clado 4 (28%) clado 8 (72%)	} LI/LII
Australia	clado 6 (15%) clado 7 (83%) clado 8 (2%)	} LI/LII

Resultados

Análisis de los sitios de inserción de profagos *stx* (SBI)

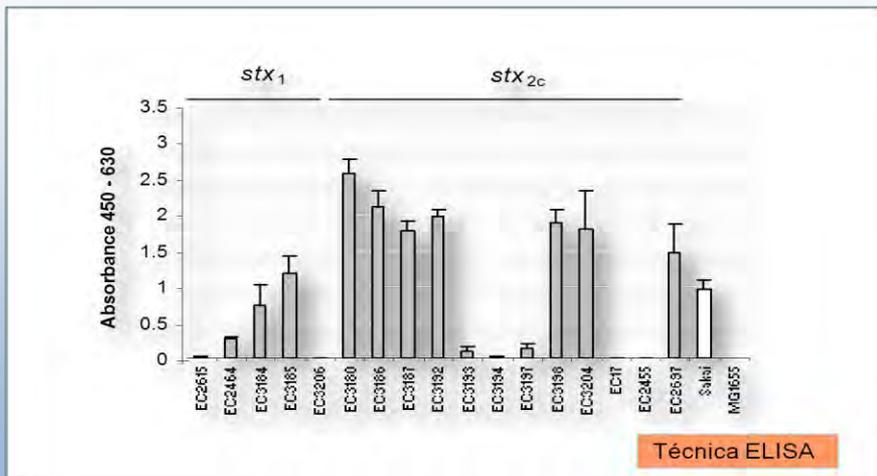
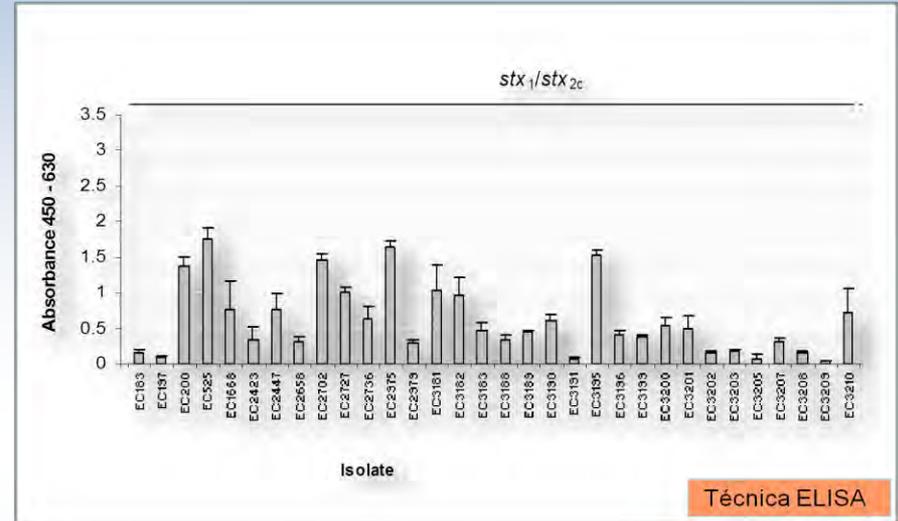
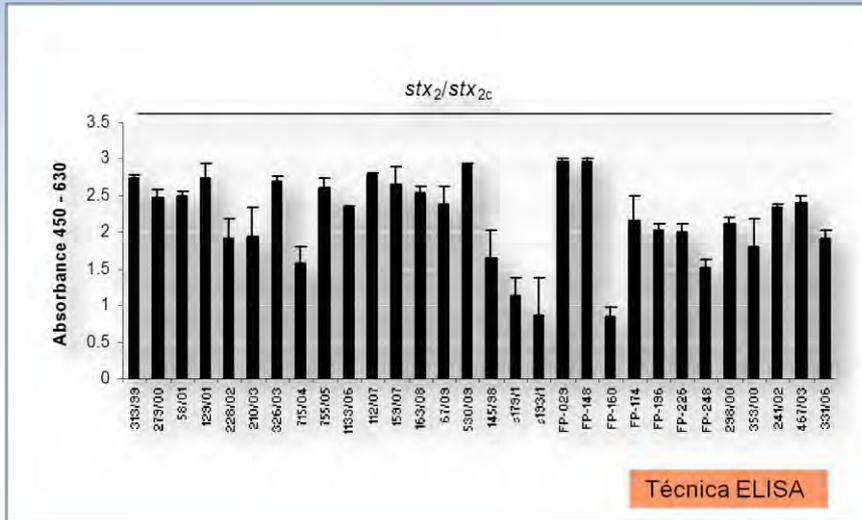
País	Clado	N	SBI		
			Stx1	Stx2	Stx2c
Argentina	3	1	<i>yehV</i>	-	-
		2	<i>yehV</i>	<i>wrbA</i>	-
		4	2	unk	-
	8	3	-	unk	-
		6	unk	-	<i>sbcB</i>
		5	-	-	<i>sbcB</i>
		1	-	unk	<i>sbcB</i>
		1	-	<i>argW</i>	<i>sbcB</i>
		3	-	-	<i>sbcB</i>
		6	unk	<i>argW</i>	<i>sbcB</i>
6	-	<i>argW</i>	-		
24	-	<i>argW</i>	<i>sbcB</i>		
Australia	2	1	<i>yehV</i>	<i>wrbA</i>	-
	3	1	<i>yehV</i>	<i>wrbA</i>	-
	6	1	-	-	<i>sbcB</i>
		8	<i>argW</i>	-	<i>sbcB</i>
	7	3	<i>argW</i>	-	-
		1	<i>argW</i>	-	Unk
	8	28	<i>argW</i>	-	<i>sbcB</i>
		16	-	-	<i>sbcB</i>
1	-	-	<i>argW</i>	<i>sbcB</i>	

Conclusiones

- ❑ Diferencia significativa en la motilidad de las cepas
- ❑ Predominio de diferentes genotipos *stx*
- ❑ Predominio del linaje LI/LII en ambos países, en cepas de origen humano y bovino
- ❑ Clado 8 fue prevalente en Argentina
- ❑ SBI: En Australia *argW* ocupado por un nuevo profago *stx1*
En Argentina *stx2* se asocia a el sitio alternativo *argW* al igual que en la cepa TW14359.
- ❑ Más del 50% de las cepas de ambos países portaron los genes de virulencia descritos para la cepa TW14359, a excepción de ECSP_3286

Las cepas LI/II-Clado 8 son caracterizadas por la inserción del profago *stx2* en *argW*, frecuentemente poseen el profago *stx2c* insertado en *sbcB*, y no posee profagos *stx1*

Producción de toxina Shiga (Datos no publicados)



Diversidad genética de cepas de *E. coli* O157 humanas y bovinas de Argentina, Australia y EE.UU.

Materiales y Métodos

- 148 cepas de ambos orígenes
- Estudio de 11 linajes por ensayo de 48-plex SNP
- Subtipificación de *stx*
- Producción de Stx

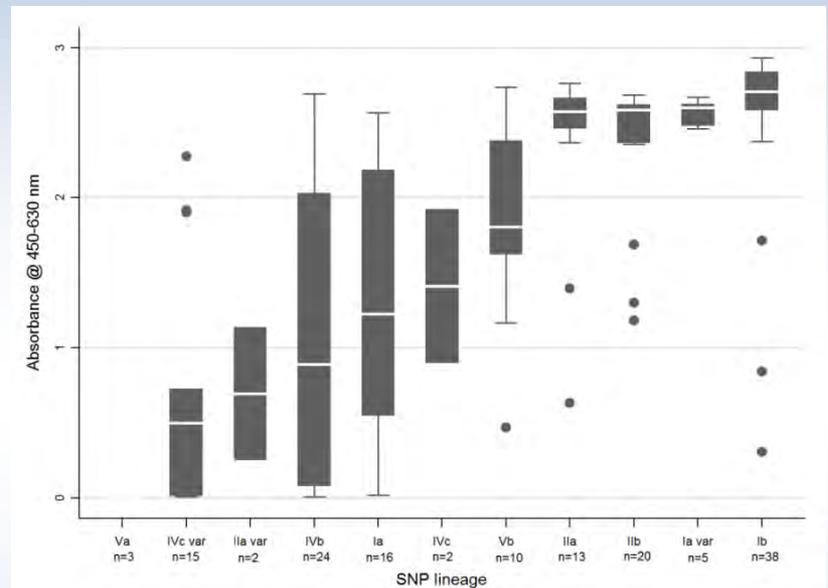
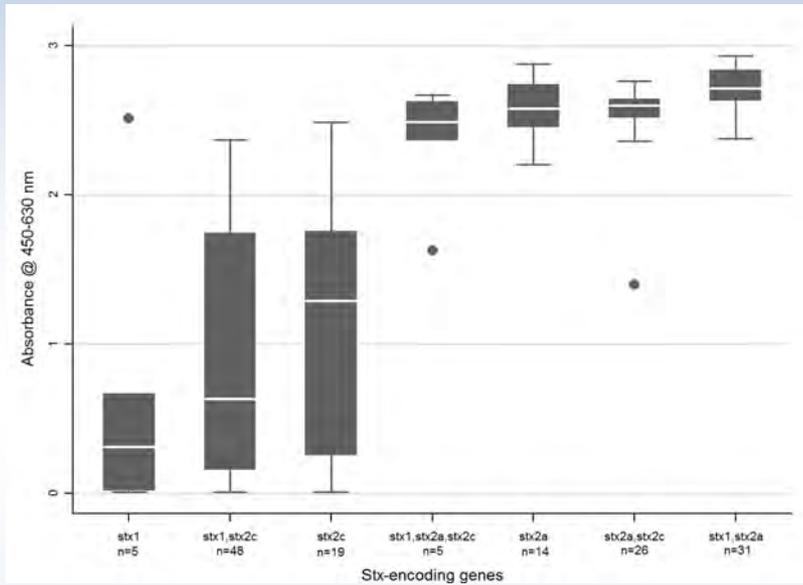
Resultados

- 7 linajes en aislamientos de un solo país, 2 en los tres países y otros dos solo en Argentina y EE.UU.
- 3 nuevos linajes fueron detectados en aislamientos de Australia y Argentina
- Los aislamientos portadores de *stx2a* fueron prevalentes en Argentina y EE.UU. y produjeron mayores niveles de Stx

Conclusiones

- Evidencias de la divergencia geográfica de *E. coli* O157 y del rol de *stx2a* en la producción total de Stx

Producción de Stx según *stx*-genotipo y linaje



Brote por EAEC/STEC O104:H4

- ❑ Del 02/05/11 al 28/06/11: 881 casos de SUH, 32 defunciones, 3141 casos de diarrea
- ❑ Casos notificados por Alemania (95%), Austria, Dinamarca, España, Finlandia, Francia, Luxemburgo, Noruega, Países Bajos, Polonia, Suecia, Suiza, Reino Unido, República Checa, Canadá, EE.UU.
- ❑ Hechos relevantes:
 - Alto N° de casos de SUH
 - Fundamentalmente adultos (88% > 20 años)
 - Mayoría sexo femenino (70%)
 - Complicaciones neurológicas severas (50%)
- ❑ Probable vehículo: Semillas germinadas de FENOGRECO

Propiedades de la cepa EAEC/STEC O104:H4 asociada al brote en Alemania

Gen	Patotipo	Presencia	Características microbiológicas		
aggR	EAggEC +		Agar sangre	hemólisis	-
<i>east 1</i>	Múltiple	-	ENDO Agar	fermentación LAC	+
<i>st-b</i>	ETEC	-	SMAC	fermentación SOR	+
<i>lt-A</i>	ETEC	-	CT-SMAC	[R] telurito	+
<i>α-hlyA</i>	Múltiple	-	Flurocult	β-Glu	+
<i>ipaH</i>	EIEC	-	CHROMagar		+
<i>E-hlyA</i>	STEC/EHEC	-	Utilización Citrato		-
<i>eae</i>	EPEC/EHEC -		H2S		-
<i>stx1</i>	STEC/EHEC	-	Indol		+
stx2	STEC/EHEC	+			
<i>nlep</i>	EHEC	-	Stx EIA RIDA Screen	Verotoxin	4+
<i>stx2f</i>	STEC	-			
<i>st-h</i>	ETEC-hu -		Resistencia Múltiple. Presencia de una β-lactamasa de espectro extendido (BLEE) CTX-M15 y una β-lactamasa de amplio espectro (BLEA) TEM-1		
<i>st-p</i>	ETEC-an -				
wzx	Serotipo O104	+			

Estudio de Factores de Riesgo

- Alta incidencia de SUH
 - Alta morbilidad
 - Carencia de un tratamiento específico
- } Necesidad de prevención primaria
- Ausencia de estudios epi anteriores
 - Alto consumo de carne *per capita*
 - Consumo de carne mal cocida

Objetivo

Identificar factores de riesgo asociados a infecciones esporádicas por STEC en niños argentinos

Factores de Riesgo

- ❑ Caso – Control (relación: 150-299) (edad, barrio, período de exposición)
- ❑ Buenos Aires (Garrahan), Mendoza (Notti)
- ❑ Enero 2001-diciembre 2002
- ✓ **Transmisión por alimentos**
 - Comer carne mal cocida en la casa y fuera de la casa
 - Comer en reuniones sociales
- ✓ **Transmisión persona a persona**
 - Contacto con niño con diarrea
 - Concurrir a Jardín Maternal o de Infantes
- ✓ **Transmisión por contacto con animales**
 - Vivir o visitar el campo
 - Vivir o visitar un lugar con animales domésticos
- ✓ **Factores del huésped**
 - Ser de sexo femenino

Factores de Protección

- Lavado de manos **siempre** con agua y jabón después de manipular carne cruda
- Comer fruta y vegetales en forma frecuente

Rivas et al. EID 2008, 14: 763-71

Medidas de prevención

- ❑ Asegurar la completa y homogénea cocción de la carne, especialmente la carne picada.



- ❑ Utilizar distintos utensilios para alimentos crudos y cocidos.



- ❑ Evitar el contacto de la carne cruda con otros alimentos.

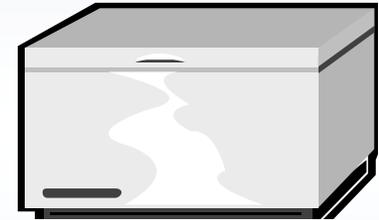


Medidas de prevención

- Consumir lácteos y jugos de frutas pasteurizados.



- Conservar la cadena de frío.



- Utilizar agua potable para consumo y preparación de alimentos

Medidas de prevención

- ❑ Lavar cuidadosamente frutas y verduras, especialmente las que vayan a ingerirse crudas.



- ❑ Lavar cuidadosamente las manos después de ir al baño, y antes y **durante** la preparación de alimentos.



- ❑ Bañarse en aguas recreacionales habilitadas.



Material de difusión

CUIDÁ A TU HIJO DEL SÍNDROME URÉMICO HEMOLÍTICO (SUH)

El SUH es una enfermedad grave que afecta principalmente a los niños menores de 5 años. Sin embargo, niños más grandes y adultos también pueden padecerla.

PARA PREVENIRLO:

- » Lavate y lavale las manos con agua y jabón antes de comer o cocinar, y después de ir al baño o tocar alimentos crudos.
- » Cociná las carnes completamente, en especial la carne picada, hasta que no tenga partes rosadas o rojas.
- » Lavá bien las frutas y verduras. Evitá el contacto entre las carnes crudas y los demás alimentos.
- » Asegurate de usar agua segura para beber y cocinar.
- » Asegurate que las piletas de natación, públicas y privadas y también las piletas de lona, tengan agua adecuadamente clorada.

SI TU HIJO TIENE DIARREA (GENERALMENTE CON PRESENCIA DE SANGRE), DOLORS ABDOMINALES Y VÓMITOS, LLEVALO RÁPIDAMENTE AL CENTRO DE SALUD MÁS CERCANO.

0800-222-1002 www.msal.gov.ar/zoonosis/





 Administración Nacional de Laboratorios e Inspección de Alimentos


 Ministerio de Salud
 Presidencia de la Nación

SÍNDROME URÉMICO HEMOLÍTICO	
	AUDIO: SPOT 1 Formato: MP3 Tamaño: 0.368 mb Descargar
	AUDIO: SPOT 2 Formato: MP3 Tamaño: 0.368 mb Descargar
	AUDIO: SPOT 3 Formato: MP3 Tamaño: 0.368 mb Descargar
	AUDIO: SPOT 4 Formato: MP3 Tamaño: 0.368 mb Descargar

Conclusiones finales

- ❑ En Argentina, STEC es aislado de enfermedad humana, del reservorio animal y de alimentos
- ❑ En los últimos años se ha observado una mejora en las notificaciones del SUH utilizando distintas estrategias de vigilancia
- ❑ La incidencia de la enfermedad humana en los distintos países está influenciada por diversos factores
- ❑ Existe una divergencia geográfica en los linajes de *E. coli* O157 que explicaría las diferencias en la incidencia de enfermedad humana
- ❑ En Argentina, se observa una prevalencia de cepas de *E. coli* O157 del genotipo stx_{2a}/stx_{2c} , del clado 8 que contribuirían a explicar la alta incidencia del SUH en nuestro país
- ❑ La emergencia de nuevos patotipos implica un desafío para los laboratorios de Salud Pública, de Sanidad Animal y de Alimentos

Agradecimientos

SAL – Dir Epi

J. Antman
C. Giovacchini
N. Casas
L. Geffner

INEI – ANLIS

I. Chinen
E. Miliwebsky
N. Deza
B. D’Astek
C. Carbonari
G. Zolezzi
E. Manfredi
A. Baschkier

LABORATORIO CENTRAL – NQN

L. Pianciola
M. Mazzeo

INTA

M. Masana
M. Palladino

AUSTRALIA – CSIRO

K. Gobius
G. Mellor

WASHINGTON STATE UNIVERSITY

T. Besser

Gracias!!!

