

## ARTÍCULOS ORIGINALES

**ESCHERICHIA COLI SHIGATOXIGÉNICA EN ANIMALES RELACIONADOS CON CASOS DE DIARREAS SANGUINOLENTAS O SÍNDROME URÉMICO HEMOLÍTICO Y PREVALENCIA EN ROEDORES DE LA CIUDAD DE BUENOS AIRES****Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in Animals related to Cases of Bloody Diarrhea or Hemolytic Uremic Syndrome and Prevalence in Rodents in the City of Buenos Aires**Valeria Rumi,<sup>1</sup> Ximena Blanco Crivelli,<sup>2</sup> María Calviño,<sup>1</sup> Anabel Regalía,<sup>3</sup> Gerardo Cueto,<sup>4</sup> Osvaldo Degregorio,<sup>5</sup> Adriana Bentancor<sup>1</sup>

**RESUMEN.** INTRODUCCIÓN: *Escherichia coli* shigatoxigénica (STEC) es un patógeno endémico en Argentina, responsable de diarrea aguda sanguinolenta (DAS) y/o síndrome urémico hemolítico (SUH). La correlación entre SUH y alimentos contaminados ha sido documentada, aunque no siempre se estableció la fuente de infección. La ruta de contagio persona-persona es relevante. Dados los registros previos de prevalencia de STEC en animales de compañía y los hábitos de convivencia humano-animal en centros urbanos, es necesario evaluar la ruta mascota-persona. A su vez, los roedores podrían tener un papel epidemiológico en la endemia. OBJETIVO: Estudiar posibles reservorios animales relacionados con casos de SUH/DAS en la Ciudad Autónoma de Buenos Aires y estimar la prevalencia de STEC en roedores. MÉTODOS: Se intervino en 28 casos de SUH y 49 de DAS. Se realizó rastillaje de cepas STEC por PCR a partir de hisopados rectales de los animales vinculados a cada caso. La prevalencia en roedores se estimó por PCR de sus hisopados rectales. RESULTADOS: Se aislaron cepas STEC en 1/10 caninos y 1/3 felinos convivientes con casos de SUH, y 1/9 felinos contacto con casos de DAS. *Rattus rattus* fue hospedero de cepas STEC en 33% de los animales capturados en focos de SUH. En roedores, la prevalencia fue de 3,1%. CONCLUSIONES: Las cepas STEC circulan en los animales que conviven o tienen al menos un hábitat compartido con la población en riesgo, quienes podrían participar en la transmisión del agente. Es necesario reevaluar las intervenciones sanitarias en focos y en programas de control de SUH/DAS.

**ABSTRACT.** INTRODUCTION: Shigatoxigenic *Escherichia coli* (STEC) is an endemic pathogen in Argentina, which causes bloody diarrhea (BD) and/or hemolytic uremic syndrome (HUS). The co-relation between HUS and contaminated food has been documented, although the source of infection was not always established. Person-to-person route of infection is relevant. Taking into account previous STEC prevalence data in companion animals and the habits of human-animal coexistence in urban centers, it is necessary to evaluate pet-to-person transmission. On the other hand, rodents may also play an epidemiologic role in the endemic transmission. OBJECTIVE: To study potential animal reservoirs related to HUS and BD cases in the City of Buenos Aires and to estimate the prevalence of STEC in rodents. METHODS: An intervention was conducted in 28 cases of HUS and 49 of BD. Screening for STEC was performed by PCR from rectal swabs of linked animals to each case. The prevalence in rodents was estimated by PCR from rectal swabs. RESULTS: STEC strains were isolated in 1/10 dogs and 1/3 cats cohabiting with HUS cases, and in 1/9 cats in contact with DAS cases. *Rattus rattus* was host of STEC strains in 33% of the animals captured in HUS areas. In rodents, the prevalence was 3.1%. CONCLUSIONS: STEC strains circulate in animals that live with or share at least the same habitat with the population at risk, and could participate in the transmission of the agent. It is necessary to re-evaluate health interventions both in outbreaks and in control programs of HUS/BD.

**PALABRAS CLAVE:** *Escherichia coli* shigatoxigénica - Síndrome urémico hemolítico - Caninos - Felinos - Roedores

**KEY WORDS:** Shiga toxin-producing *Escherichia coli* - Hemolytic uremic syndrome - Dogs - Cats - Rodents

<sup>1</sup> Cátedra de Microbiología, Facultad de Ciencias Veterinarias, UBA

<sup>2</sup> Cátedra de Patología, Facultad de Ciencias Veterinarias, UBA

<sup>3</sup> Dpto de Epidemiología, Ministerio de Salud del Gobierno de la Ciudad Autónoma de Buenos Aires

<sup>4</sup> Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, UBA

<sup>5</sup> Cátedra de Salud Pública, Facultad de Ciencias Veterinarias, UBA

**FUENTES DE FINANCIAMIENTO:** Beca "Carillo-Oñativia", Comisión Nacional Salud Investiga, Ministerio de Salud de la Nación, Argentina.

**FECHA DE RECEPCIÓN:** 8 de septiembre de 2011

**FECHA DE ACEPTACIÓN:** 31 de mayo de 2012

**CORRESPONDENCIA A:** Adriana Bentancor

Correo electrónico: aben@fvet.uba.ar

Rev Argent Salud Pública, 2012; 3(10):23-29

**INTRODUCCIÓN**

Entre los agentes etiológicos asociados a diarreas agudas sanguinolentas (DAS), los más frecuentes son: *Shigella* spp., *Campylobacter* spp., *Serratia* spp., *Entamoeba histolytica*, *Rotavirus* y *Escherichia coli* shigatoxigénico (STEC), éste último principal causante del síndrome urémico hemolítico (SUH).<sup>1</sup> El principal serotipo de *Escherichia coli* implicado es O157:H7, seguido por O145:NM y otros no-O157. Aunque en la mayoría de los casos la diarrea por STEC es autolimitada, aproximadamente el 5-10% de los niños infectados evolucionan a SUH, con 5% de mortalidad a corto plazo y secuelas graves a largo plazo.<sup>2</sup>

En 2007, el SUH presentó una tasa de notificación de 15/100.000 niños menores de 5 años, lo que representaba un aumento del 2% en el último quinquenio.<sup>3</sup> En Argentina,

la enfermedad constituye la primera causa de insuficiencia renal aguda pediátrica y la segunda de insuficiencia renal crónica, ocasionando un 20% de trasplantes renales.<sup>2</sup>

Durante 2008, se registraron 14 notificaciones de DAS al Sistema Nacional de Vigilancia en Salud (SNVS), provenientes de la Ciudad Autónoma de Buenos Aires (CABA). Dos fueron positivas para *Escherichia coli*, una de ellas por STEC.<sup>1</sup>

Se han realizado análisis de riesgo y se han diseñado estrategias de intervención que abarcan desde la notificación obligatoria, inmediata e individualizada de casos de SUH (Resolución Nº 346/2000 del Ministerio de Salud de la Nación), ampliados desde 2008 a DAS, hasta campañas de prevención orientadas a las medidas de higiene alimentaria. No obstante, el número de casos informado sigue siendo superior al total de casos en el resto del mundo.<sup>3</sup>

La alta incidencia de SUH en Argentina no tiene hasta el momento una explicación clara. Lo que se ha documentado extensamente es la correlación entre SUH y alimentos contaminados, y alternativamente, de persona a persona siendo la principal vía de transmisión oral-fecal. La enfermedad se produce con una baja carga infectiva (menor a 100 bacterias por gramo) y solo en la mitad de los casos puede identificarse la fuente de infección.<sup>4</sup>

Se ha postulado que el reservorio principal de STEC son los ruminantes, en particular los bovinos.<sup>5</sup> En Argentina, la prevalencia de STEC en ganado bovino es del 22% (6/27) en ganado sano en pastoreo y del 29% (24/83) en terneros sanos. Las cifras son similares a las descriptas en Europa, que muestran un 19% (21/112) en bovinos sanos, aunque la incidencia de SUH en dicho continente es significativamente menor.<sup>6,7</sup>

Se ha estudiado la prevalencia de cepas STEC en caninos y felinos en áreas urbanas, estimándose en un 1,1% (4/373) en caninos y un 2,7% (4/113) en felinos.<sup>8-10</sup> También hubo investigaciones que mostraron un incremento en la portación de STEC en animales de compañía relacionados con casos de SUH/DAS (7% de caninos y 20% de felinos).<sup>11</sup> Aunque la prevalencia de STEC en estas especies no se manifiesta como causa determinante de la alta incidencia de SUH en Argentina, la transmisión podría ser esporádica. Se ha observado una relación entre la portación de cepas STEC y la alimentación de los animales, que podrían tener el mismo papel epidemiológico que los humanos.<sup>10</sup>

En el caso de las especies sinantrópicas, los antecedentes bibliográficos sugieren una prevalencia alta de STEC-O157 en *Rattus norvegicus* en la República Checa,<sup>12</sup> y se ha demostrado la circulación del mismo clon entre *Rattus norvegicus* y bovinos en feedlot.<sup>13</sup> Según las estimaciones, es posible que en frigoríficos y establecimientos de faena bovina se detecten asentamientos de ratas, particularmente *Rattus norvegicus*. Los riesgos deben ser evaluados en áreas compartidas, donde esta especie compite por el alimento con el hombre. Debido al esfuerzo de muestreo, la dificultad en el manejo de las ratas, la necesidad de captura para su análisis, el empleo de estrictas medidas de bioseguridad y la previsión de un personal altamente calificado para el manejo y la toma de

muestras bacteriológicas, existen pocos estudios de roedores silvestres y comensales a nivel mundial. Los datos bibliográficos son escasos o se limitan a heces obtenidas del ambiente, que no aseguran las condiciones de viabilidad para los patógenos en estudio.

En Argentina, los primeros estudios que evaluaron la participación de los roedores en el ciclo epidemiológico de este patógeno han identificado a *Rattus rattus* como portador de STEC (primer registro mundial de detección del patógeno en la especie).<sup>11</sup> En el ambiente urbano, estos animales dependen casi exclusivamente de productos derivados de la actividad del hombre y son reservorios de numerosas enfermedades zoonóticas.<sup>14-16</sup> Sin embargo, los estudios epidemiológicos de casos no suelen incluir la presencia de animales, domésticos o sinantrópicos, en relación con la transmisión o difusión del patógeno en las áreas urbanas.

Dada la alta incidencia de casos esporádicos de SUH en centros urbanos en los cuales no se puede determinar la fuente de infección y con el fin de contribuir a la comprensión de la epidemiología en Argentina, esta investigación propuso como hipótesis que los animales intervienen en el ciclo urbano de STEC y pueden actuar como reservorios.

Los objetivos del presente trabajo fueron: a) estudiar la portación de cepas STEC en animales domésticos (caninos y felinos) y sinantrópicos (roedores del género *Rattus*) en relación con casos de la enfermedad notificados al SNVS en CABA, evaluando el perfil fenotípico y genotípico de las cepas aisladas; b) estudiar la prevalencia de cepas STEC en las poblaciones de animales sinantrópicos (roedores del género *Rattus*) no relacionados con casos notificados en CABA.

## MÉTODOS

1) Búsqueda de cepas STEC en animales domésticos (caninos y felinos) y sinantrópicos (roedores del género *Rattus*) en relación con casos notificados de la enfermedad.

Se realizó un estudio prospectivo entre mayo de 2009 y abril de 2010, condicionado a la notificación al SNVS de casos de DAS/SUH en residentes de CABA. Se incluyó a todos los caninos y felinos con contacto directo o indirecto con el caso, y a los sinantrópicos capturados en el área de la vivienda (cuyo responsable firmó la conformidad). Se excluyó a las mascotas agresivas, que no aseguraban su contención para la toma de muestras, o cuyos dueños no autorizaron su participación en el estudio. En el caso de los roedores, se excluyó a los domicilios donde no hubo colaboración para la captura de los animales.

### a) Estudios en el foco

Se determinó la presencia de animales de compañía en contacto con el caso de SUH o DAS, por cohabitación directa o por relaciones familiares (no pertenecientes al núcleo primario, como abuelos o tíos que cuidaban al niño afectado) e institucionales (jardines de infantes, guarderías, etc.). Se solicitó información respecto a la observación o presencia de roedores en el domicilio o en el peridomicilio.

La unidad de análisis fue el animal contacto, doméstico o sinantrópico.

Una vez notificado un caso al SNVS, se procedió al contacto telefónico con los familiares y dentro de la semana un veterinario recolectó los datos vinculados al animal de compañía a través de una encuesta diseñada previamente<sup>10</sup> y realizó la toma de muestras en el domicilio (dos hisopados rectales consecutivos para el análisis de portación de STEC).

Durante siete días, se colocaron trampas de captura viva para roedores en el domicilio del caso notificado. Se incluyó a todos los sinantrópicos capturados, que fueron anestesiados para la toma de muestras y luego sacrificados. Se completó una ficha epidemiológica, donde se registraron las características individuales del animal (género, especie, sexo y estado madurativo).

#### b) Estudios en el perifoco

Se consideró perifoco al área de 100 metros de radio<sup>17</sup> con centro en el foco en estudio. En dicha área se realizó la captura de roedores durante siete días con la colaboración del personal del Instituto de Zoonosis Dr. Luis Pasteur de CABA. La recolección de información y los muestreos se llevaron a cabo según lo descripto anteriormente.

2) Determinación de la prevalencia de cepas STEC en las poblaciones de animales sinantrópicos (roedores del género *Rattus*) no relacionados con casos notificados.

Se realizó un estudio de prevalencia de STEC en roedores de CABA entre mayo de 2009 y mayo de 2010. Con una probabilidad del 25%, una precisión del 15% y una confianza del 95%, se estimó un tamaño de la muestra de 512 roedores. A fin de medir y evaluar las diversas comunidades del complejo ecosistema urbano, se utilizó para el muestreo un diseño estratificado basado en las diferencias paisajísticas de CABA. Se consideraron los seis ecosistemas definidos por De Pietri y Karszenbaum<sup>18</sup> y modificados por Cavia,<sup>14</sup> que representan las distintas poblaciones de roedores para cada área según relaciones entre nivel de urbanización, proporción de cobertura vegetal y presencia de cuerpos de agua. Los roedores fueron atrapados con trampas de captura viva en 16 campañas de cuatro días cada una. Las trampas fueron colocadas cada cinco metros en forma lineal en grandes espacios verdes, en zonas precarias dentro de las viviendas y corredores, y en zonas urbanizadas en techos y jardines. La ubicación de cada trampa fue georreferenciada con el programa Google Earth Plus. Dado que se contemplaron los cebos indicados para cada especie, el número de individuos capturados por estrato dependió de su composición y abundancia.<sup>14,17</sup> Se obtuvieron las muestras para los estudios bacteriológicos según la descripción previa (dos hisopados rectales consecutivos).

#### a) Remisión y procesamiento de muestras

Se obtuvieron dos muestras por hisopado rectal de cada animal en estudio, se colocaron en medio Stuart y se remitieron al Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad de Buenos Aires (UBA) para su procesamiento inmediato.

#### b) Descripción de la técnica microbiológica

Para el aislamiento de STEC no-O157 se realizó precultivo en caldo tripteína soja (CTS) con posterior siembra en agar

TABLA 1. Oligonucleótidos seleccionados para PCR.

| Primer            | Secuencia               | Amplificación (bp) |
|-------------------|-------------------------|--------------------|
| <i>stx 1 a*</i>   | GAAGAGTCCGTGGGATTACG    | 130                |
| <i>stx 1 b*</i>   | AGCGATGCAGCTATTAATAA    |                    |
| <i>stx 2 a*</i>   | TTAACCCACCCCCACCGGGCAGT | 346                |
| <i>stx 2 b*</i>   | GCTCTGGATGCATCTCTGGT    |                    |
| <i>rfbO157 f*</i> | CGGACATCCATGTGATATGG    | 259                |
| <i>rfbO157 r*</i> | TTGCCATGTACAGCTAATCC    |                    |
| <i>ehxAf†</i>     | GCATCATCAAGCGTACGTTCC   | 534                |
| <i>ehxAr†</i>     | AATGAGCCAAGCTGGTAAGCT   |                    |
| <i>eaeAf†</i>     | GACCCGGCACAAGCATAAGC    | 384                |
| <i>eaeAr†</i>     | CCACCTGCAGCAACAAGAGG    |                    |
| <i>stx2F†</i>     | GGCACTGTCTGAAACTGCTCC   | 255                |
| <i>stx2R†</i>     | TCGCCAGTTATCTGACATTCTG  |                    |
| <i>stx1F†</i>     | ATAAATCGCCATTCGTTGACTAC | 180                |
| <i>stx1R†</i>     | AGAACGCCCACTGAGATCATC   |                    |
| <i>saa ff</i>     | CGTGATGAACAGGCTATTGC    | 119                |
| <i>saa rf</i>     | ATGGACATGCCTGTGGCAAC    |                    |
| <i>flicH7-f‡</i>  | GCGCTGTCGAGTTCTATCGAGC  | 625                |
| <i>flicH7-r‡</i>  | CAACGGTGACTTTATCGCCATCC |                    |
| <i>vt2-c§</i>     | AAGAAGATGTTTATGGCGGT    | 285                |
| <i>vt2-d§</i>     | CACGAATCAGGTTATGCCTC    |                    |

\* Primers utilizados en el tamizaje.

† Primers utilizados en el estudio de factores de virulencia.

‡ Primers utilizados para caracterizar el tipo flagelar H7.

§ Ensayo de PCR-RFLP.

Fuente: Elaboración propia.

MacConkey; para el aislamiento de STEC O157 se utilizó CTS -cefexima-telurito de potasio (CT) y posterior siembra en agar MacConkey sorbitol-CT. Las placas se incubaron durante 24 horas a 37 °C. De la zona de crecimiento confluyente se efectuó una suspensión para extracción de DNA para la prueba de tamizaje, PCR de genes de toxina Shiga,<sup>8,19</sup> utilizando primers específicos para generar amplicones de tamaño conocido (ver Tabla 1). En cada muestra compatible con la presencia de alguno de los genes *stx*/*stx*<sub>2</sub> estudiados, se realizó la evaluación de hasta 300 colonias diferentes para identificar la cepa *stx*<sup>\*</sup>. Como cepas control se usaron ATCC 25922 (negativo) y EDL 933 O157:H7 (control positivo *stx*<sub>2</sub>/*stx*<sub>2</sub>/*rfbO157*).

Los aislamientos *stx*<sup>\*</sup> fueron tipificados por bacteriología clásica y biotipificados.<sup>20</sup> Se evaluó por PCR el serogrupo O157 y el serotipo H7 específico, y los genes de virulencia adicionales *stx*<sub>1</sub>, *stx*<sub>2</sub>, *eae*, *ehxA* y *saa*.<sup>21,22</sup> Se subtipificó el gen de la toxina *stx*<sub>2</sub> por PCR-RFLP23 (ver Tabla 1).

Se estableció el perfil de sensibilidad de las cepas aisladas por el método de difusión, frente a ampicilina (10 µg), amicacina (30 µg), gentamicina (10 µg), estreptomina (10 µg), ácido nalidixico (30 µg), ciprofloxacina (5 µg), tetraciclina (30 µg), trimetoprima-sulfametoxazol (1,25/23,75 µg), cloranfenicol (30 µg) y nitrofurantoina (300 µg).<sup>24,25</sup> La serotipificación se derivó al centro de referencia Instituto Adolfo Lutz (Brasil).

## CRITERIOS UTILIZADOS PARA CATEGORIZAR A LOS ANIMALES

De acuerdo con los resultados de laboratorio, se consideraron tres categorías en estudio, tanto para animales domésticos como para sinantrópicos: a) animal positivo (con aislamiento e identificación de alguna cepa STEC); b) animal sospechoso (resultado compatible por PCR de *stx*<sub>1</sub>/*stx*<sub>2</sub> sin aislamiento de la cepa tras analizar un total de 300 colonias); c) animal negativo (ausencia del agente o presencia por debajo del límite de detección del ensayo).

En los animales de compañía sospechosos o positivos, se realizó un seguimiento microbiológico semanal para evaluar la persistencia en la portación.

En el caso de la detección de roedores sospechosos o positivos, 15 días después de la captura exitosa se colocaron jaulas en la misma zona para evaluar la persistencia en la circulación del patógeno. En un caso en particular el muestreo del felino se concretó 45 días después de la denuncia al SNVS, pero la captura de roedores y su procesamiento se realizaron a los siete días.

## ANÁLISIS DE RESULTADOS

Los hallazgos relacionados con SUH/DAS fueron analizados como proporciones referidas a una muestra no probabilística. Se realizó la ubicación espacial de los casos estudiados durante el período.<sup>26</sup>

El estudio de prevalencia en roedores de CABA se efectuó con el programa Epi Info 2002 (CDC OPS). Para el análisis estadístico se empleó el test de diferencia de proporciones. En los factores que fueron estadísticamente significativos, se

estimó el OR y su intervalo de confianza de 95%.

El estudio fue aprobado por el Comité Institucional de Cuidado y Uso de Animales de Experimentación de la Facultad de Ciencias Veterinarias (UBA). Para garantizar los aspectos éticos de la investigación, se confeccionaron los correspondientes consentimientos informados según lo establecido en la Declaración de Helsinki 2008 y en las normas estándar de cuidado y uso de animales.

## RESULTADOS

En lo que respecta al aislamiento de cepas STEC en animales domésticos y sinantrópicos, se evaluaron 28 casos de SUH y 49 de DAS en residentes de CABA notificados al SNVS. En 12 (43%) casos de SUH se registró la presencia de caninos y/o felinos de compañía; solo en una oportunidad no hubo colaboración por parte del dueño del animal y no se obtuvo muestra. En siete (14%) casos de DAS se registró la presencia de animales de compañía.

Se identificaron 27 animales domésticos contacto: diez caninos y tres felinos relacionados con casos de SUH, y cinco caninos y nueve felinos relacionados con casos de DAS (Tablas 2 y 3).

No se observaron diferencias por edad o sexo de los animales en estudio, pero sí en la proporción de animales domésticos en contacto con casos de SUH respecto a casos de DAS ( $p=0,05$ ). La proporción de felinos en contacto con SUH mostró diferencias respecto a la proporción en contacto con DAS ( $p=0,01$ ).

En 3/28 casos (10,7%) de SUH y 3/49 (6,1%) de DAS se determinó la presencia de roedores, pero solo en dos

**TABLA 2.** Casos de SUH/DAS notificados en CABA en 2009-2010 y animales relacionados, expresados en valor absoluto y proporción: n (%).

| Categoría según SNVS | Total de casos notificados | Casos con presencia de animales* n (%) | Caninos en contacto directo con casos* n (%) | Felinos en contacto directo con casos* n (%) | Casos con presencia de roedores n (%) | Total de roedores capturados† |
|----------------------|----------------------------|--|--|--|---------------------------------------|-------------------------------|
| SUH                  | 28                         | 12‡ (43)                               | 10§ (36)                                     | 3 (11)                                       | 3 (11)                                | 9                             |
| DAS                  | 49                         | 7 (14)                                 | 5 (10)                                       | 9 (18)                                       | 3   (6)                               | 5                             |

\* Animales de compañía con contacto directo con casos de SUH/DAS.

† Incluye foco y perifoco.

‡ Incluye un caso en el que el dueño no autorizó el muestreo.

§ Incluye un canino sin toma de muestra por falta de consentimiento del dueño.

|| Incluye un caso en el que no se obtuvo captura.

Fuente: Elaboración propia.

**TABLA 3.** Casos de SUH/DAS notificados en CABA en 2009-2010 y animales relacionados, expresados en valor absoluto y proporción: n (%).

| Categoría según SNVS | Caninos    | Felinos  | Roedores |
|----------------------|------------|----------|----------|
| SUH                  | 1/10* (10) | 1/3 (33) | 3/9 (33) |
| DAS                  | 0/5 (0)    | 1/9 (11) | 0/5 (0)  |

\* Incluye un caso con dos caninos.

Fuente: Elaboración propia.

focos se logró la captura. La proporción de captura fue superior en casos de SUH respecto a DAS.

Se obtuvieron 14 roedores (*Rattus* spp.) relacionados con focos en estudio. Los animales capturados en los brotes de SUH fueron nueve *Rattus rattus*: seis machos (67%) y tres hembras (33%). El índice de número de animales capturados/noche/jaula fue 0,20. Los roedores capturados en los brotes de DAS fueron cuatro *Rattus rattus* y un *Rattus norvegicus*: un macho (20%) y cuatro hembras (80%). El índice de número de animales capturados/noche/jaula fue 0,04. El esfuerzo de captura fue menor en casos de SUH respecto a DAS, lo que representa un indicador indirecto de la abundancia de roedores<sup>17</sup> en cada foco-perifoco. La presencia de estos animales relacionada con casos de SUH o DAS se detalla en las Tablas 2 y 3.

En los animales estudiados relacionados con casos de SUH se identificaron tres caninos, dos felinos y cuatro roedores sospechosos. Se confirmaron portadores 3 caninos, un felino y tres roedores. Los perfiles genéticos (Tabla 1) para los tres caninos positivos fueron: una cepa STEC no-O157 (*stx<sub>2</sub><sup>+</sup>*), y dos EPEC (*eae<sup>+</sup>*, *ehxA<sup>+</sup>*). Del felino se aisló una cepa STEC no-O157 (*stx<sub>2</sub><sup>+</sup>*). De roedores, se obtuvieron tres cepas STEC: dos *stx<sub>2</sub><sup>+</sup>* y una *stx<sub>2</sub><sup>+</sup>*, *ehxA<sup>+</sup>*, *eae<sup>+</sup>*.

En los casos de DAS se identificaron cuatro felinos y cuatro roedores sospechosos. Se confirmó portador solo un felino, del cual se aisló una cepa STEC *stx<sub>2</sub><sup>+</sup>*, *eae<sup>+</sup>*.

No se detectó persistencia en animales portadores de STEC en las dos semanas posteriores al aislamiento. De un animal categorizado como sospechoso se aisló STEC a los 15 días del primer muestreo.

Los casos estudiados en este artículo coincidieron con casos con diagnóstico clínico humano y no bacteriológico, según lo informado al SNVS, por lo cual no se pudo evaluar la relación entre las cepas de diverso origen que circularon en dichos eventos.

En lo que respecta al estudio de la prevalencia de cepas STEC en las poblaciones de animales sinantrópicos no relacionados con casos notificados, el esfuerzo de muestreo en

esta etapa fue de 6.704 trampas/noche, que permitieron capturar 131 ejemplares. El índice de animales capturados/noche/jaula fue de 0,02. Los roedores obtenidos en distintas campañas fueron clasificados según procedencia, género y especie (Tabla 4).

La prevalencia de cepas STEC se estimó sobre la base de los 131 animales capturados, que incluyeron 79 machos (60%), 49 hembras (38%) y tres ejemplares no determinados (2%). La proporción de roedores sospechosos fue de 15,3% (20/131) (IC95%: 9,0-21,8). De los roedores analizados, se obtuvieron cuatro aislamientos *stx<sub>2</sub><sup>+</sup>* (tres *Rattus rattus* y un *Mus musculus*) y en un *Rattus rattus* se aisló EPEC. La prevalencia de STEC por especie sinantrópica fue 20% (n: 15) (IC95%: 3,5-43,5) en *Rattus rattus*, 0% (n: 32) en *Rattus norvegicus* y 1,5% (n: 64) (IC95%: 0,5-5,3) en *Mus musculus*.

El análisis bivariado para la variable de aislamiento STEC, incluidos los 131 roedores, determinó que la posibilidad de aislar STEC en el género *Rattus* era 8,6 veces mayor que en otro género (OR: 9,62, IC 95%: 1,13-82,16).

El perfil de sensibilidad en los aislamientos provenientes de roedores indicó la presencia de cepas resistentes a ampicilina, estreptomycin y trimetoprima-sulfametoxazol. Las cepas procedentes de animales domésticos contacto no mostraron resistencia a los antibióticos evaluados, pero sí las hubo con sensibilidad intermedia frente a estreptomycin.

## DISCUSIÓN

Se identificaron 27 animales domésticos contacto con casos de SUH o DAS. La convivencia de caninos con niños con SUH alcanzó una mayor proporción que la de felinos, lo cual pareció indicar un mayor peso de riesgo para esta especie. El análisis de laboratorio invirtió esta presunción, dado que solo de un canino relacionado a SUH se obtuvo una cepa STEC, mientras que de felinos se aislaron dos, una de cada caso clínico. Uno de cada tres felinos en contacto con SUH fue portador de STEC, lo que sugiere un mayor peso como especie de riesgo.<sup>8</sup> Los resultados obtenidos provienen de

TABLA 4. Roedores capturados discriminados por lugar de intervención y especie, CABA, 2009-2010.

| Lugar de intervención                 | Campañas | Total de ejemplares capturados | <i>Rattus norvegicus</i> | <i>Rattus rattus</i> | <i>Mus musculus</i> | <i>Deltamis kempi</i> | <i>Oligoryzomys flavescens</i> |
|---------------------------------------|----------|--------------------------------|--------------------------|----------------------|---------------------|-----------------------|--------------------------------|
| Reserva Ecológica Costanera Sur       | 5        | 73                             | -                        | -                    | 54                  | 4                     | 15                             |
| Parque de los Niños                   | 1        | 2                              | 2                        | -                    | -                   | -                     | -                              |
| Villa Rodrigo Bueno                   | 1        | 8                              | 3                        | -                    | 5                   | -                     | -                              |
| Parque Roca                           | 1        | 11                             | 9                        | -                    | 1                   | -                     | 1                              |
| Facultad de Agronomía                 | 1        | 1                              | -                        | 1                    | -                   | -                     | -                              |
| Dirección Nacional de Vías Navegables | 1        | 13                             | 10                       | -                    | 3                   | -                     | -                              |
| Trenes de Buenos Aires                | 2        | 12                             | 8                        | 3                    | 1                   | -                     | -                              |
| Edificación >80%                      | 4        | 11                             | -                        | 11                   | -                   | -                     | -                              |
| Total                                 | 16       | 131                            | 32                       | 15                   | 64                  | 4                     | 16                             |

Fuente: Elaboración propia.

animales seleccionados por su relación con un caso de SUH/DAS notificado, por lo que deben interpretarse de acuerdo con este marco de estudio y en referencia a esta situación epidemiológica particular.

El estudio permitió evaluar un caso con tres especies animales. Dos caninos fueron negativos, pero del felino y los roedores capturados se aislaron cepas STEC. Dado que el felino es un predador natural de los roedores, la información obtenida podría revestir importancia epidemiológica, tal como se describe para otras enfermedades bacterianas.<sup>27</sup> Debido a los diferentes momentos de obtención de estas muestras, no se puede determinar si el felino interactuó en la ruta de circulación de dicha cepa. Se trata del primer antecedente bibliográfico de la relación espacio-temporal entre un roedor portador de una cepa previamente implicada en brotes de SUH/DAS y un niño con diagnóstico clínico de SUH. El estudio espacial de los casos de SUH y DAS con animales positivos coincidió con las áreas de mayor riesgo identificadas.<sup>26</sup>

El segundo objetivo del trabajo consistió en estudiar la prevalencia de cepas STEC en las poblaciones de animales sinantrópicos no relacionados con casos notificados en CABA. Debido a la dificultad para la obtención sistemática de estos especímenes, la proporción y la abundancia de cada subpoblación quedaron representadas por la eficiencia en la captura. Al desconocerse el número real de individuos que componían cada población, se recurrió a los estimadores genéricos del respectivo índice.<sup>14,17</sup> Las campañas se realizaron dentro de los estratos previamente definidos, pero en cada una de ellas se utilizaron las áreas con mayor factibilidad de captura. La medición indirecta de la población, la selección de zonas de muestreo para cada estrato y el tamaño muestral analizado (menor al óptimo estimado) limitan la inferencia de los resultados, que posiblemente están subvalorados.

El parámetro de sospecha se estableció para 20 (15,3%) de los 131 roedores capturados en el estudio. Pero si se considera solo *Rattus rattus* con aislamiento de cepas STEC, este valor alcanza el 26%. El resultado es similar al determinado para el ganado en feedlot.<sup>10,15</sup>

El 93% de los *Rattus rattus* fueron capturados en el estrato pavimentado y edificado en el 80% de su superficie. La zona coincide con el área de circulación definida para la especie.<sup>14</sup> La importancia de este dato radica en la alta probabilidad de contacto directo o indirecto con personas. A su vez, se evaluaron 32 animales *Rattus norvegicus* capturados principalmente en grandes espacios verdes, conforme a lo señalado en estudios previos en CABA respecto al hábitat urbano de dicha especie.<sup>14</sup>

De acuerdo con las muestras analizadas hasta el presente, los roedores con superposición espacio-temporal a casos de SUH tienen una probabilidad de aislamiento de cepas STEC superior a los roedores no relacionados con dichos focos. Las diferencias podrían deberse a que los casos de SUH se localizaron en zonas urbanizadas (porcentaje de superficie edificada mayor al 80%), donde se observó una mayor abundancia de *Rattus rattus*.

Los cambios urbanos a distintas escalas afectan la abundancia, distribución y ubicación específica de las especies sinantrópicas.<sup>28</sup> Bajo esta premisa, *Rattus rattus* podría considerarse una indicadora de circulación de STEC en el ambiente, en el marco de ecosistemas urbanos complejos.

Todos los aislamientos obtenidos en este trabajo correspondieron a cepas *stx<sub>2</sub><sup>+</sup>*, que codifican una toxina *Stx2* con potencia superior a la toxina *Stx1*. Dichas cepas son las más frecuentes en Argentina como responsables de cuadros de SUH.<sup>29</sup> Las cepas aisladas de roedores mostraron resistencia a ciertos antibióticos, lo que constituye un riesgo adicional.

En síntesis, el agente STEC circula entre diversas especies en CABA y no queda circunscripto a las personas que conviven con el niño o a los alimentos contaminados. Estos resultados son relevantes si se considera que el patógeno tiene una dosis infectiva muy baja y puede encontrarse en circulación en especies animales que conviven o, al menos, comparten un hábitat con los seres humanos.

## RELEVANCIA PARA POLÍTICAS E INTERVENCIONES SANITARIAS

El presente estudio muestra la importancia de los animales en su relación espacio-temporal con la aparición de focos de SUH/DAS, particularmente en el aislamiento de cepas STEC/EPEC en roedores (*Rattus* spp.).

Considerar que el patógeno circula en animales de áreas urbanas aumenta el riesgo para la población susceptible. En las intervenciones sanitarias ante focos y en los programas de control de SUH/DAS, deberían protocolizarse las acciones locales frente a especies sinantrópicas capaces de favorecer la transmisión del agente.

## RELEVANCIA PARA LA FORMACIÓN DE RECURSOS HUMANOS EN SALUD

En la órbita del programa de control de SUH/DAS, se deben generar unidades de acción e intervención rápida en focos, a fin de obtener muestras de los animales relacionados y, particularmente, de roedores sinantrópicos para estimar el riesgo de transmisión por vías epidemiológicas alternativas. Además, estos equipos deberían realizar una evaluación y, dado el caso, ejecutar acciones para el control de las especies sinantrópicas.

Es importante que los resultados de este informe se difundan a los equipos de salud y a los comunicadores de pautas preventivas. La integración multidisciplinaria puede permitir la evaluación, el control y la difusión de medidas adecuadas para disminuir la casuística de estas enfermedades.

## RELEVANCIA PARA LA INVESTIGACIÓN EN SALUD

El estudio de especies animales (domésticas y sinantrópicas) complementa la investigación epidemiológica orientada a las enfermedades transmisibles con un mayor impacto en grupos de alto riesgo. En particular, es fundamental determinar el papel de las especies sinantrópicas en la cadena de transmisión de este agente y otras zoonosis para conocer su real peso epidemiológico.

Por su parte, los estudios de brotes relacionados con

cepas STEC deberían ampliarse a las áreas periféricas y rurales, habida cuenta del impacto de la enfermedad y su epidemiología en diferentes ecosistemas.

## AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Forlenza (Coordinador del Departamento de Epidemiología del Ministerio de Salud de CABA), Dr. Aragües y Oroz (Director Adjunto de Programas Especiales del Ministerio

de Salud de CABA), Dr. Marcos y Dr. Molina (Instituto de Zoonosis Luis Pasteur), Dra. Llorente, Dra. Gentilini y Prof. Míguez (Facultad de Ciencias Veterinarias, UBA) y Dra. Suárez (Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, UBA).

## DECLARACIÓN DE CONFLICTO DE INTERESES

No hubo conflicto de intereses durante la realización del estudio.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- <sup>1</sup> Ministerio de Salud de la Ciudad Autónoma de Buenos Aires. Informes periódicos del Departamento de Epidemiología, Gobierno de la Ciudad Autónoma de Buenos Aires.
- <sup>2</sup> Exeni RA. Síndrome urémico hemolítico. *Medicina*, 1996; 56:197-98.
- <sup>3</sup> Ministerio de Salud de la Nación, Argentina. [Disponible en: [http://www.msal.gov.ar/hm/Site/sala\\_situacion/PANELES/Problemas%20emergentes/Nacional/SUH.gif](http://www.msal.gov.ar/hm/Site/sala_situacion/PANELES/Problemas%20emergentes/Nacional/SUH.gif)]. [Último acceso: 8 de febrero de 2009].
- <sup>4</sup> Mead PS, Griffin PM. *Escherichia coli* O157:H7. *Lancet*, 1998; 352:1207-1212.
- <sup>5</sup> Beutin L, Geier D, Steinrück H, Zimmermann S, Scheutz F. Prevalence and some Properties of Verotoxin (Shiga-like Toxin)-Producing *Escherichia coli* in Seven Different Species of Healthy Domestic Animals. *J Clin Microbiol*, 1993; 31:2483-2488.
- <sup>6</sup> Sanz ME, Viñas MR, Parma AE. Prevalence of Bovine Verotoxin-Producing *Escherichia coli* in Argentina. *Eur J Epidemiol*, 1998; 14:399-403.
- <sup>7</sup> Blanco M, Blanco JE, Blanco J, González EA, Alonso MP, Maas H, et al. Prevalence and Characteristics of Human and Bovine Verotoxigenic *Escherichia coli* Strains Isolated in Galicia (North-Western Spain). *Eur J Epidemiol*, 1996; 12:13-19.
- <sup>8</sup> Bentancor A, Rumi MV, Gentilini MV, Sardoy C, Irino K, Agostini A, et al. Shiga Toxin-Producing and Attaching and Effacing *Escherichia coli* in Cats and Dogs in a High Hemolytic Uremic Syndrome Incidence Region in Argentina. *FEMS Microbiol Lett*, 2007; 267:37-41.
- <sup>9</sup> Bentancor A. El rol epidemiológico de los animales de compañía en el ciclo de transmisión urbana de cepas STEC. *Medicina*, 2006; 66:37-41.
- <sup>10</sup> Bentancor A, Agostini A, Rumi MV, Degregorio OJ. Factores de riesgo de infección con cepas de STEC en caninos y felinos. *INVET*, 2008; 10:1-13.
- <sup>11</sup> Bentancor AB, Calviño MF, Manfredi F, Miccio L, Ameal L, Aguirre S, et al. Isolation of Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* from Household Pets and *Rattus rattus* Related to Outbreaks of Hemolytic Uremic Syndrome. *VTEC 2009*, 10-13 de mayo de 2009, Buenos Aires.
- <sup>12</sup> Cizek A, Alexa P, Literák I, Hamrík J, Novák P, Smola J. Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* O157 in Feedlot Cattle and Norwegian Rats from a Large-Scale Farm. *Letters in Applied Microbiology*, 1999; 28:435-439.
- <sup>13</sup> Nielsen EM, Skov MN, Madsen JJ, Lodal J, Jespersen JB, Baggesen DL. Verocytotoxin-Producing *Escherichia coli* in Wild Birds and Rodents in Close Proximity to Farms. *Appl Environ Microbiol*, 2004; 70:6944-7.
- <sup>14</sup> Cavia R, Cueto GR, Suárez OV. Changes in Rodent Communities according to the Landscape Structure in an Urban Ecosystem. *Landscape Urban Plann*, 2009; 90:11-19.
- <sup>15</sup> Marsh RE, 1994. Roof Rats. En: Hygnstrom SE (ed.), *Prevention and Control of Wildlife Damage*, California, pp. B-125-B-132.
- <sup>16</sup> Timm RM, 1994. Norway Rats. En: Hygnstrom SE (ed.), *Prevention and Control of Wildlife Damage*, California, pp. B-105.
- <sup>17</sup> León V, Franschina J, Bush M. Rodent Control at Different Spatial Scales on Poultry Farms in the Province of Buenos Aires, Argentina. *Int Biodeterior Biodegradation*, 2009; 63:1113-18.
- <sup>18</sup> De Pietri DE, Karszenbaum H. Contribuciones de la teledetección a la distribución urbana de la vegetación y caracterización de la ciudad de Buenos Aires. IX Simposio Latinoamericano de Percepción Remota, 6 al 10 de noviembre de 2000, Misiones, Argentina.
- <sup>19</sup> Leotta GA, Chinen I, Epszteyn S, Miliwebsky E, Melamed IC, Motter M, et al. Validación de una técnica de PCR múltiple para la detección de *Escherichia coli* productor de toxina Shiga. *Rev Arg Microbiol*, 2005; 37:1-11.
- <sup>20</sup> Roldán ML, Chinen I, Otero JL, Miliwebsky ES, Alfaro N, Burns P, et al. Aislamiento, caracterización y subtipificación de cepas de *Escherichia coli* O157:H7 a partir de productos cárnicos y leche. *RAM*, 2007; 39:113-9.
- <sup>21</sup> Paton AW, Paton JC. Direct Detection and Characterization of Shiga Toxigenic *Escherichia coli* by Multiplex PCR for *stx1*, *stx2*, *eae*, *ehxA*, and *saa*. *J Clin Microbiol*, 2002; 40(1):271-4.
- <sup>22</sup> Gannon VP, D'Souza S, Graham T, King RK, Rahn K, Read S. Use of the Flagellar H7 Gene as a Target in Multiplex PCR Assays and Improved Specificity in Identification of Enterohemorrhagic *Escherichia coli* Strains. *J Clin Microbiol*, 1997; 35:656-662.
- <sup>23</sup> Tyler SD, Johnson WM, Lior H, Wang G, Rozee KR. Identification of Verotoxin Type 2 Variant B Subunit Genes in *Escherichia coli* by the Polymerase Chain Reaction and Restriction Fragment Length Polymorphism Analysis. *J Clin Microbiol*, 1991; 29:1339-1343.
- <sup>24</sup> CLSI, Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Test, Approved Standard; Tenth Edition, CLSI Document M02-A10. Wayne, Pennsylvania, EE.UU., 2009.
- <sup>25</sup> CLSI, Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Nineteenth Informational Supplement. CLSI Document M100-S19. Wayne, Pennsylvania, EE.UU., 2009.
- <sup>26</sup> Manfredi F, Aguirre M, Bentancor A. Georreferencia de casos de Síndrome Urémico Hemolítico y su relación con los cursos de agua subterráneos. Evaluación ambiental de las rutas de transmisión de *Escherichia coli* Shigatoxigénica. XVII Jornadas de Jóvenes Investigadores. Asociación de Universidades Grupo Montevideo (AUGM). 27-29 de octubre de 2009, Entre Ríos, Argentina.
- <sup>27</sup> Reusken C, Van der Plaats R, Opsteegh M, De Bruin A, Swart A. Coxiella burnetii (Q Fever) in *Rattus norvegicus* and *Rattus rattus* at Livestock Farms and Urban Locations in the Netherlands; could *Rattus* spp. represent Reservoirs for (Re) Introduction? *Preventive Veterinary Medicine*, 2011; 101:124-130.
- <sup>28</sup> Hostetler M. Scale, Birds, and Human Decisions: a Potential for Integrative Research in Urban Ecosystems. *Landscape Urban Planning*, 1999; 45:15-19.
- <sup>29</sup> Leotta GA, Miliwebsky ES, Chinen I, Espinosa EM, Azzopardi K, Tennant SM, et al. Characterisation of Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* O157 Strains Isolated from Humans in Argentina, Australia and New Zealand. *BMC Microbiology*, 2008; 8:46.