

RECOMANDARI PENTRU DIAGNOSTICUL INFECTIILOR CU ESCHERICHIA COLI PRODUCATOARE DE SHIGA-TOXINE / VERO- TOXINE

Tulpinile de *Escherichia coli* cauzatoare de diaree fac parte din urmatoarele grupuri sau patotipuri: *E. coli* enteropatogen (EPEC), *E. coli* enterohemoragic (EHEC), *E. coli* enterotoxigen (ETEC), *E. coli* enteroinvaziv (EIEC) si *E. coli* enteroagregativ (EAEC). Implicarea lor etiologica este cel mai adesea suspectata in cazul unui pacient (copil sau adult) cu diaree, pentru care coprocultura efectuata este negativa pentru patogeni enterici comuni precum *Salmonella*, *Shigella*, *Yersinia* si *Campylobacter*.

Dintre asa-numitele patotipuri intestinale sau diareigene de *E. coli*, numai EHEC poate cauza complicatii extraintestinale de tipul sindromului hemolitico-uremic (SHU), iar virulenta tulpinilor acestui patotip se datoreaza, in principal, unor toxine denumite shigatoxine sau verotoxine. La acest moment se cunosc doua tipuri de astfel de toxine, denumite shigatoxina (verotoxina) 1, respectiv shigatoxina 2. EHEC O157:H7 este serotipul cel mai frecvent asociat cu cazurile de diaree cu evolutie severa (ex. colita hemoragica, SHU), dar nu este singurul responsabil de acestea, fiind cunoscute si alte serotipuri EHEC la fel de virulente.

Evolutia nefavorabila a unui individ infectat cu EHEC (serotipuri O157 si non-O157) si aparitia SHU depind atat de virulenta agentului infectios (tulpinii bacteriene), cat si de susceptibilitatea gazdei. Cea mai mare incidenta a infectiei cu EHEC se inregistreaza la copiii sub 5 ani, in randul acestora inregistrandu-se si cel mai inalt risc de SHU.

Din punctul de vedere al diagnosticului microbiologic, infectiile intestinale cu EHEC, precum si cele cu tulpini din alte patotipuri de *E. coli*, se confirma cel mai corect prin izolarea agentului infectios in cultura (coprocultura) si stabilirea potentialului sau de virulenta (apreciat prin markeri fenotipici si/sau genotipici specifici fiecarui patotip).

Diagnosticul infectiilor cu EHEC O157 si non-O157 se poate realiza insa si prin metode care nu se bazeaza pe cultura (ex. teste de detectare a prezentei de toxine in materii fecale, teste moleculare de detectare a genelor care codifica toxine in material genomic total extras din materii fecale, cu sau fara imbogatire). Ele nu trebuie insa sa inlocuiasca metoda izolarii agentului infectios in cultura.

Recomandari pentru analiza bacteriologica a probelor de materii fecale:

Probele de materii fecale provenite de la copii cu diaree sau SHU se lucreaza conform metodologiei specifice pentru diagnosticul microbiologic al bolii diareice acute (BDA), prezentata pe site-ul CNSCBT Bucuresti.

Atentie: Recoltarea si testarea materiilor fecale pentru prezenta de tulpini de *E. coli* patogene (inclusiv O157:H7) trebuie sa fie facuta cat mai precoce dupa instalarea diareei si inainte de administrarea tratamentului antibiotic. Aceasta este valabil, de altfel, pentru diagnosticul microbiologic al tuturor patogenilor enterici bacterieni in care se urmareste cultivarea acestora.

Pentru izolarea tulpinilor EHEC serotip O157:H7 se recomanda insamantarea materiilor fecale si pe mediul selectiv si diferential agar sorbitol-MacConkey (SMAC), care usureaza identificarea acestora. In cazul izolarii unor colonii incapabile sa fermenteze sorbitolul (sorbitol negative), aspect caracteristic pentru EHEC O157:H7, se selecteaza cel puțin 3 colonii care se vor testa (o portiune din colonie!) pentru aglutinare cu ser anti O157. Coloniile cu aglutinare pozitiva (portiunea ramasa!) se redisperseaza pe un mediu neselectiv, iar cultura obtinuta este testata biochimic pentru a se confirma ca este *E. coli* (si alte specii pot reactiona incrucisat cu serul anti O157!).

Toate coloniile de *E. coli* care au aglutinat cu ser anti O157 vor fi trimise pentru confirmarea serotipului si stabilirea genotipului de virulenta la INC Cantacuzino.

Atentie: **Absenta unor colonii sorbitol negative nu exclude o infectie cu EHEC!** Tulpinile EHEC non-O157 sunt cel mai frecvent sorbitol pozitive, deci nu pot fi diferite de cele de *E. coli* nepatogene.

Fiecare proba de materii fecale se dispereaza pe intregul mediul de cultura dintr-o placa Petri (nu in sector!), pentru a se putea obtine colonii si a distinge clar caracteristicile culturii izolate! Se recomanda pentru izolarea *E. coli* (indiferent de patotip) folosirea mediului slab selectiv si diferential MacConkey, mediile moderat selective putand avea un caracter inhibitor.

Testarea serologica cu seruri aglutinante pentru identificarea serogrupurile EPEC sau EHEC O157 se face numai pe colonii izolate, lactozo-pozitive (nu cultura totala din dispersia primara!), verificate in prealabil cu ser fiziologic pentru autoaglutinare!

Orice colonie care a aglutinat cu seruri anti O157 sau anti EPEC va fi trecuta pe o geloza nutritiva (sau alt mediu neselectiv) si trimisa pentru confirmarea serogrupului si identificarea genotipului de virulenta la Institutul National de Cercetare Cantacuzino.

Intocmit:
Dr. Codruta Romanita Usein
Biol. Simona Adriana Ciontea
Institutul National Cantacuzino