

Septicemia fatal causada por *Vibrio cholerae* no-O1, no-O139 hemolítico en Chile. Caso clínico

Isabel Briceño L¹, Claudio Puebla A¹, Francisco Guerra A^{1a}, Daniela Jensen F¹, Harold Núñez B^{2a}, María T Ulloa F^{2a}, Carlos G Osorio A².

Non-toxigenic hemolytic Vibrio cholerae non-O1 non-O139 fatal septicemia. Report of one case

We report a 70-year-old woman, who had recently consumed shellfish, that was admitted to the intensive care unit with septic shock and died 19 hours later due to a multi-organ failure. Microbiological, serological and molecular assays confirmed a hemolytic tdh+ Vibrio cholerae non-O1, non O139 as the etiologic agent (Rev Méd Chile 2009; 137: 1193-6).

(Key words: Shock, septic; *Vibrio cholerae non-O1; Vibrio cholerae non-O139*)

Recibido el 30 de enero, 2009. Aceptado el 22 de junio, 2009.

¹Hospital Naval Almirante Nef, Valparaíso, Chile. ²Programa de Microbiología y Micología, Instituto de Ciencias Biomédicas (ICBM), Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, Chile.

^aTecnólogo Médico

La bacteria Gram negativa *Vibrio cholerae* es el agente etiológico del cólera, un tipo de diarrea secretora que puede causar deshidratación severa y tener alta letalidad. La mayoría de las cepas patogénicas de *V cholerae* posee en su membrana externa un antígeno denominado O, porción más externa del lipopolisacárido (LPS), del tipo O1 o O139. La mayoría de las cepas ambientales no patogénicas de esta bacteria presenta otros tipos

de antígeno O y por eso se categorizan como no-O1, no-O139. Sin embargo, algunas cepas de *V. cholerae* no-O1, no-O139 poseen un claro poder patógeno y han causado brotes o casos esporádicos de gastroenteritis e infecciones extraintestinales en humanos¹.

La transmisión de *V cholerae* no-O1 no-O139 se relaciona con el consumo de alimentos de origen marino, especialmente mariscos bivalvos crudos. Las infecciones en humanos causadas por *V cholerae* no-O1, no-139 muestran variadas presentaciones clínicas¹. Las presentaciones más frecuente corresponde a cuadros de gastroenteritis aguda con diferentes grados de severidad. Una forma bastante infrecuente de esta infección es la

Correspondencia a: Dr. Carlos Osorio A. Programa de Microbiología y Micología, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Av. Independencia 1027, Santiago, Chile. Teléfono: 56-2-978 6902; Fax: 56-2-735 5855. E mail: gonosorio@med.uchile.cl

septicemia²⁻⁵. Los casos comunicados de septicemia se asocian generalmente con inmunosupresión y daño hepático crónico. Sólo unos pocos casos se asocian a infección cutánea primaria.

Los factores de virulencia que expresan las cepas de *V cholerae* no-O1, no-O139 prácticamente se desconocen. En su gran mayoría estas cepas carecen de los principales factores de virulencia de *V cholerae* O1, tales como la toxina del cólera (CTX) y el pilus denominado TCP. Sin embargo, algunos reportes recientes indican que estas cepas podrían compartir algunos factores de virulencia con la especie *V parahaemolyticus*⁶. Este trabajo describe por primera vez en Chile un caso de septicemia fatal causada por la infección de una cepa de *V cholerae* no-O1, no-O139.

CASO CLÍNICO

Se ingresó una paciente de 70 años a la unidad de tratamiento intensivo del Hospital Naval Almirante Nef en febrero de 2006. Ella presentaba antecedentes de daño hepático alcohólico crónico, destacándose una ecotomografía previa que mostraba signos severos de esteatosis hepática sin signos de hipertensión portal (enero 2006). Se pudo establecer que dos días previos a su ingreso había consumido mariscos crudos en un restorán de la zona.

Al momento del ingreso se constataba un gran compromiso del estado general, sopor, livideces de piel, cianosis distal y presión arterial de 40/10. La paciente fue intubada, aportándose hidratación inicial y dopamina, con lo que se logró mejorar el estado de conciencia y presión arterial.

Después de la estabilización inicial, al examen físico destacaba una temperatura corporal de 35,1 °C, una presión arterial de 103/78 (presión arterial media o PAM de 91), con una paciente vigil, con severa deshidratación y anuria. Dentro de los exámenes de laboratorio destacaba: pH 6,91, proteína C reactiva 240 mg/mL, ácido láctico 108 mg/dL, creatinina 3 mg/dL, TTPK 51 s, tiempo de protrombina de 21% y glicemia 117 mg/mL. Los diagnósticos de admisión fueron choque séptico de origen incierto, falla renal aguda, coagulopatía, acidosis metabólica y enfermedad hepática crónica. Se continuó con dopamina y se inició antibiótico-terapia con cefotaxima endovenosa en una dosis de 3 g/día.

Sin embargo, luego de 5 h de evolución la paciente presentó nuevamente hipotensión, livideces y compromiso de conciencia por lo que se indicó noradrenalina endovenosa. La paciente no lograba mejorar su PAM, persistiendo en anuria y presentando una respuesta nula a dosis crecientes de dopamina y noradrenalina. Después de 19 h de evolución la paciente fallece por falla multiorgánica.

Tres hemocultivos (Bac/Alert 120®) fueron positivos a las 10 h de incubación para bacterias Gram negativas que presentaban morfología de bacilos curvos. El microorganismo fue finalmente identificado como *V. cholerae* por crecimiento en agares selectivos (TCBS y Chromoagar Vibrio), API 20E (bioMérieux, Marcy Létoile, France), test de oxidasa y otros test bioquímicos estándar. La pruebas serológicas con antisueros O1 y O139 confirmaron que este aislado pertenecía al tipo no-O1, no-O139. Finalmente la secuenciación de su gen de 16S ARN, desde un fragmento amplificado por PCR con partidores específicos (Tabla 1), confirmó que la cepa pertenecía a la especie *V. cholerae*. En cuanto a su sensibilidad antimicrobiana, la cepa resultó ser resistente a ampicilina y susceptible a tetraciclina, trimetoprim-sulfametoxazol, cloramfenicol y ciprofloxacino.

En claro contraste con las cepas patogénicas de *V. cholerae* O1, la mayoría de las cepas de *V. cholerae* no-O1, no-O139 no posee el gen codificante de la subunidad A de la enterotoxina del Cólera (*ctxA*) ni el gen de la subunidad mayor del pilus corregulado por toxina (*tcpA*)⁷. Para confirmar si este aislado carecía también de estos genes, se utilizaron partidores específicos ya descritos en la literatura (Tabla 1). Los resultados indicaron claramente que este aislado carece de ambos genes.

Por otra parte, la cepa demostró actividad hemolítica en agar Wagatsuma (Figura 1). Este fenómeno se denomina de Kanagawa y es muy interesante, pues podría indicar que las hemolisinas presentes en este aislado presentan similitud con la denominada hemolisina directa termoestable (TDH), importante factor de virulencia de *V. parahaemolyticus* y responsable del fenómeno de Kanagawa. Se ha comunicado recientemente que algunos escasos aislados clínicos de *V. cholerae* no-O1, no-O139 pueden portar el gen codificante para TDH⁶. Por ello, decidimos comprobar la presencia del gen codificante para la hemolisina TDH en este

Tabla 1. Pares de partidores utilizados para determinar la presencia de los genes *ctxA*, *tcpA* y *tdh* en la cepa de *V. cholerae* no-O1, no-O139. El par fD1-rP2 se utilizó para amplificar la secuencia del gen del ARN 16S

Partidor	Secuencia Partidor 5'-3'	Producto (bp)	Referencia
CTX-F	CGGGCAGATTCTAGACCTCCTG	564	(8)
CTX-R	CGATGATCTTGGAGCATTCCCAC		
TCPA-F	AGCCGCCTAGATAGTCTGTG	1324	(9)
TCPA-R	TCGCCTCCAATAATCCGAC		
fD1	AGA GTT TGA TCC TGG CTC AG	1500	(10)
rP2	ACG GCT ACC TTG TTA CGA CTT		
VPTDHF	GTACCGGATATTTTGCAAA	381	este trabajo
VPTDHR	ATGTTGAAGCTGTACTTGA		este trabajo

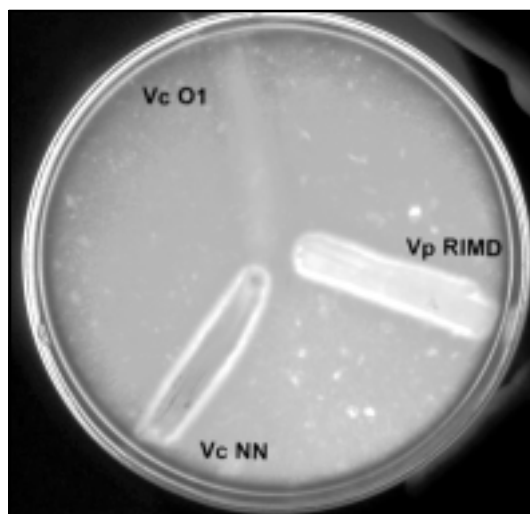


Figura 1: Hemólisis en agar Wagatsuma. Las diferentes cepas fueron sembradas en estría desde un cultivo líquido e incubadas a 37°C por 24 h en agar Wagatsuma (7% NaCl, 1% peptona, 1% manitol, 0,5% K₂HPO₄, 0,3% extracto de levadura y 5% sangre humana). Vc O1: cepa de *V. cholerae* N16916; Vp RIMD: cepa de *V. parahemolyticus* RIMD2210633; Vc NN: cepa septicémica reportada en este estudio.

aislado clínico. Ensayos de PCR fueron realizados con partidores específicos para el gen codificante de la hemolisina TDH (*tdhA*). Los ensayos realizados resultaron positivos para una banda del tamaño esperado, la que finalmente fue secuenciada. El alineamiento del producto obtenido y el gen codificante de la hemolisina TDH de *V. parahemolyticus* se muestra en la Figura 2.

Conclusiones: Este caso corresponde a la primera descripción en Chile de un cuadro fatal de septicemia

causada por una cepa hemolítica de *V. cholerae* no-O1, no-O139. La identificación de la especie y serotipo fue realizada mediante ensayos microbiológicos, bioquímicos, serológicos y moleculares. De manera similar a otros aislados descritos previamente en la literatura, esta cepa demostró ser negativa para los dos principales factores de virulencia descritos en las cepas patogénicas de *V. cholerae*: el gen codificante de la subunidad A de la toxina del cólera (*ctxA*) y el gen codificante de la subunidad mayor del pili TCP (*tcpA*). Los factores

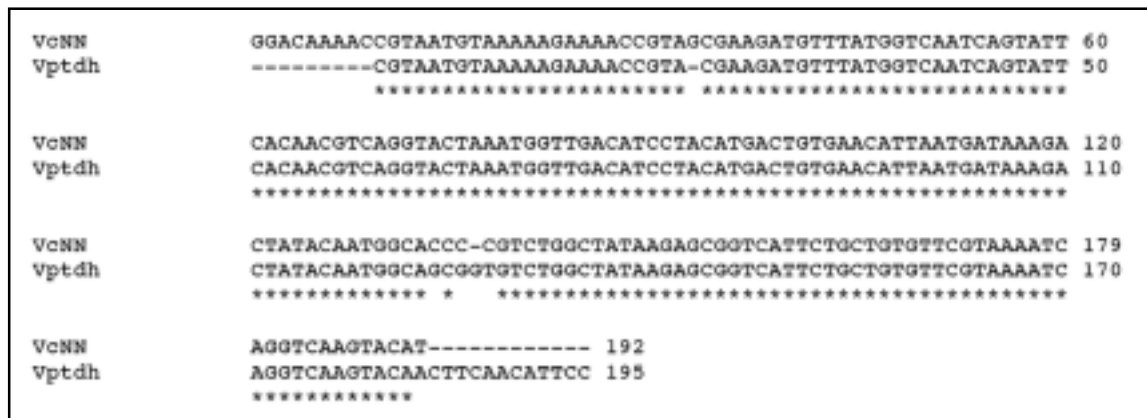


Figura 2. Alineamiento de secuencia obtenida por PCR usando par de partidores VPTDHF-VPTDHR desde aislado clínico de *V. cholerae* no-O1, no-O139. VcNN: amplicón de *V. cholerae* no-O1, no-O139; Vptdh: gen VPA1314 (*tdh*) de *V. parahaemolyticus* RIMD2210633.

de virulencia de los vibrios patógenos no-O1, no-O139 son poco conocidos. Destacadamente, la cepa descrita en este reporte resultó poseer actividad hemolítica en agar Wagatsuma, fenómeno que sugiere que la actividad hemolítica y patógena de este aislado podría ser semejante a la que presentan las cepas patógenas de *V. parahaemolyticus*, cuyo principal factor de virulencia es la hemolisina TDH. Existe el antecedente en la literatura que algunas cepas patógenas de *Vibrio cholerae* no-

O1, no O-139 poseen un gen homólogo al gen codificante de TDH, el que probablemente podría tener su origen en un evento de transferencia genética horizontal entre una cepa toxigénica dadora de *V parahaemolyticus* y una cepa receptora de *V cholerae* no-O1, no-O139⁶. La demostración de que este aislado posee actividad hemolítica en agar Wagatsuma y además posee un gen homólogo al gen codificante de la hemolisina TDH, apoya fuertemente esta hipótesis.

REFERENCIAS

1. FARUQUE SM, ALBERT MJ, MEKALANOS JJ. Epidemiology, genetics, and ecology of toxigenic *Vibrio cholerae*. *Microbiol Mol Biol Rev* 1998; 62: 1301-14.
2. PHEITSOUVANH R, NAKATSU M, ARAKAWA E, DAVONG V, VONGSOUVAH M, LATTANA O ET AL. Fatal bacteremia due to immotile *Vibrio cholerae* serogroup O21 in Vientiane, Laos - a case report. *Ann Clin Microbiol Antimicrob* 2008; 7: 10-5.
3. WIWATWORAPAN W, INSIRIPONG S. Non-O1/non-O139 *Vibrio cholerae* septicemia with peritonitis. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 2008; 39: 1098-101.
4. ŠTRUMBEJ I, PRELOG I, KOTAR T, DOVECAR D, PETRAŠ T, SOCAN M. Case of *Vibrio cholerae* non-O1, non-O139 septicemia in Slovenia, imported from Tunisia, July 2005. *J Microbiol Immunol Infect* 2005; 38: 425-9.
5. HALABI M, HADITSCH M, RENNEN F, BRINNINGER G, MITTERMAYER H. *Vibrio cholerae* non-O1 septicemia in a patient with liver cirrhosis and Billroth-II-gastrectomy. *J Infect* 1997; 34: 83-4.
6. DZIEJMAN M, SERRUTO D, TAM VC, STURIEVANT D, DIRAPHAT P, FARUQUE SM ET AL. Genomic characterization of non-O1, non-O139 *Vibrio cholerae* reveals genes for a type III secretion system. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005; 102: 3465-70.
7. BIDINOST C, SAKA HA, ALIENDRO O, SOLA C, PANZETTA-DUTTARI G, CARRANZA P ET AL. Virulence factors of non-O1 non-O139 *Vibrio cholerae* isolated in Córdoba, Argentina. *Rev Argent Microbiol* 2004; 36: 158-63.
8. FIELDS PI, POPOVIC T, WACHSMUTH K, OLSVIK O. Use of polymerase chain reaction for detection of toxigenic *Vibrio cholerae* O1 strains from the Latin American cholera epidemic. *J Clin Microbiol* 1992; 30: 2118-21.
9. BOYD EF, WALDOR MK. Evolutionary and functional analyses of variants of the toxin-coregulated pilus protein TcpA from toxigenic *Vibrio cholerae* non-O1/non-O139 serogroup isolates. *Microbiology* 2002; 148: 1655-66.
10. WEISBURG WG, BARNES SM, PELLETTIER DA, LANE DJ. 16S ribosomal DNA amplification for phylogenetic study. *J Bacteriol* 1991; 173: 697-703.