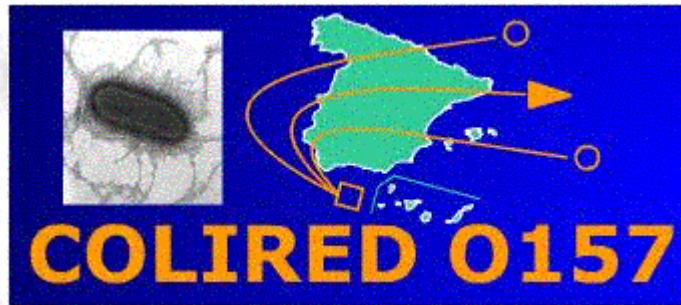




- **Red temática FIS G03/025.**
- **PATOGÉNESIS, DIAGNÓSTICO Y TIPADO DE Escherichia coli verotoxigénicos (ECVT) O157:H7 Y DE OTROS SEROTIPOS**

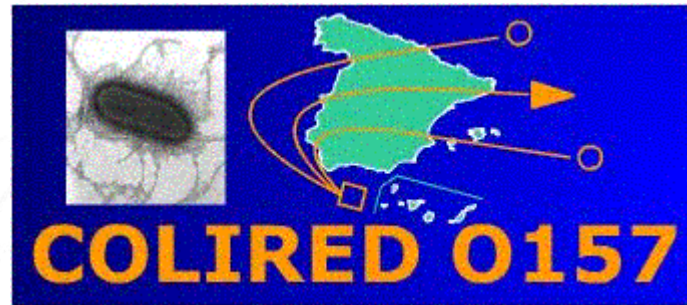




- Red temática de investigación Cooperativa FIS G03/025
- **Centro de Investigación en Microbiología Clínica de *Escherichia coli* verotoxigénicos asociado al Instituto de Salud Carlos III**
- **Localizado en el Complejo Hospitalario Xeral-Calde y cuenta con la colaboración del Laboratorio de Referencia de *E. coli* de la Facultad de Veterinaria de la Universidade de Santiago**
- Ministerio de Sanidad y Consumo
- Consellería de Sanidade de la Xunta de Galicia
 - BOE 11 junio 2003 (Convenio marco)



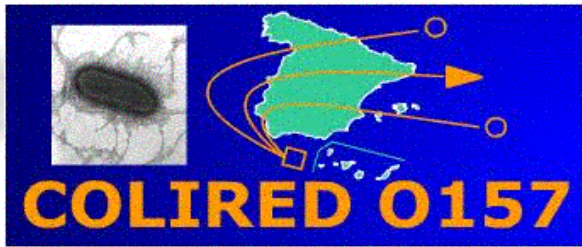
XUNTA DE GALICIA
CONSELLERÍA DE SANIDADE



NODOS Y JEFES DE GRUPO:

- NODO 1. Dr. A. Juárez, Facultad de Biología, Univ. de Barcelona.
- NODO 2. Dr. J. Rey, Facultad de Veterinaria, Univ. Extremadura.
- **NODO 3. Dr. J. Blanco, Facultad de Veterinaria, Univ. Santiago.**
- NODO 4. Dr. L.A. Fernández , C. Nacional de Biotecnología, Madrid.
- NODO 5. Dr. R. Fuente, Fac.Veterinaria, U. Complutense, Madrid.
- NODO 6. Dr. A. Echeita, Centro Nacional de Microbiología, Madrid.
- NODO 7. Dr. V. Parro, Inst. Nacional Técnica Aeroespacial, Madrid.
- NODO 8. Dra. R.M. Bartolomé, Hospital Vall d'Hebron, Barcelona.
- **NODO 9. Dra. M. P. Alonso, C. Hospitalario Xeral-Calde, Lugo.**
- NODO 10. Dr. J. Jofre, Facultad de Biología, Univ. Barcelona.

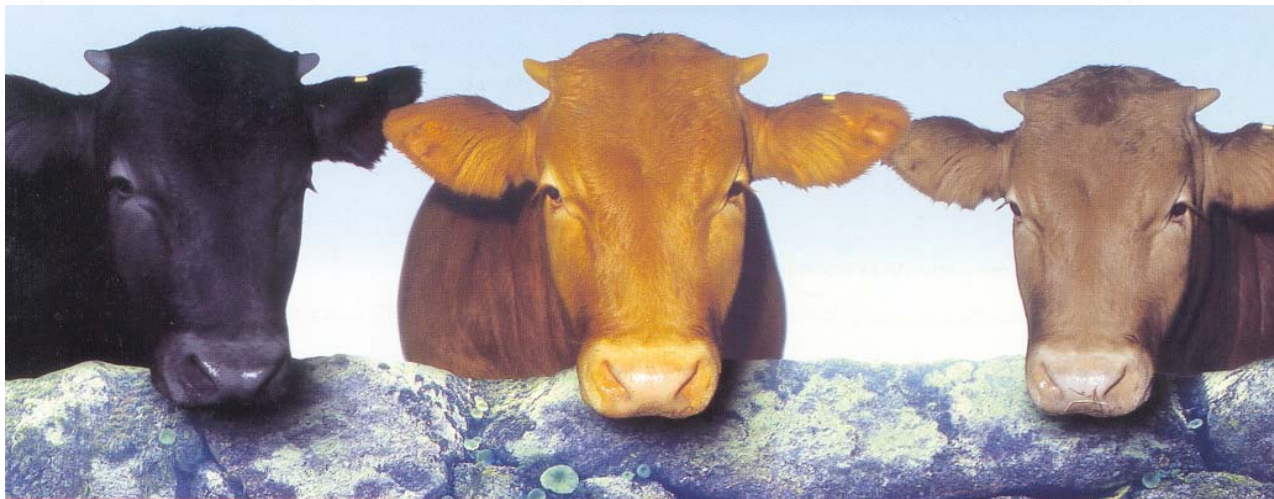
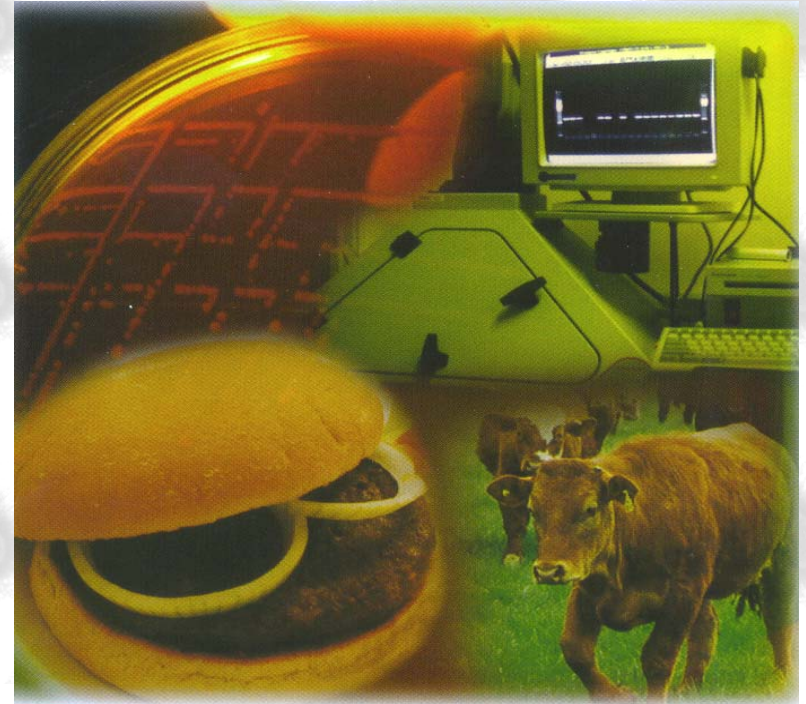
- **43 Investigadores (29 Doctores)**



E. coli verotoxigénicos

Patógenos emergentes
responsables de
intoxicaciones alimentarias
de origen animal (Zoonosis)

Los rumiantes son el principal reservorio



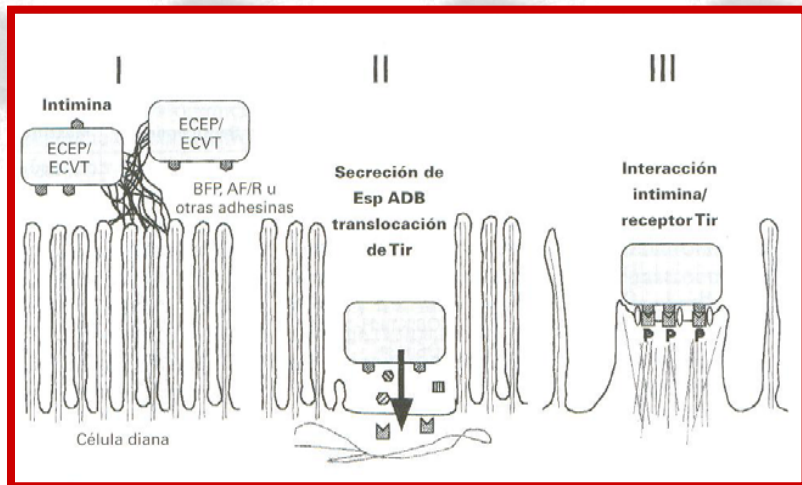


ECVT pueden causar

- Colitis hemorrágica (CH)
- Síndrome urémico hemolítico (SUH)
- Púrpura trombocitopénica trombótica (PTT)
- Diarrea no sanguinolenta
- Infecciones asintomáticas

Factores de virulencia de ECVT

- Producción de verotoxinas (VT1, VT2)
- Intiminas codificadas en el **gen eae** de la isla de patogenicidad LEE responsables de las lesiones *attaching and effacing* (adhesión y borrado)



Serotipos de ECVT causantes de infecciones en humanos

- 472 serotipos O:H
- 10 serotipos más frecuentes
 - * O26:H11 O113:H21 O146:H21
 - O91:H- * O118:H16 * O157:H7
 - * O103:H2 * O128:H2
 - * O111:H- * O145:H-

*Presentan el gen *eae*

*Más del 90% de los brotes han sido causados por ECVT O157:H7 no fermentadores de sorbitol.

Un total de 138 menores de cinco años, afectados tras ingerir las salchichas servidas en varios colegios por una empresa de catering

Un niño permanece ingresado en Barcelona por una intoxicación con carne contaminada

Un niño permanece todavía hospitalizado en Barcelona a consecuencia de la intoxicación alimentaria que ha afectado durante este mes a un total de 158 personas (138 niños menores de cinco años y 20 adultos, entre

padres y profesores), todas ellas relacionadas con tres centros escolares, uno de Barcelona y los otros dos de Mollet del Vallès. El consumo de carne de ternera precocinada contaminada por la bacteria

«Escherichia coli», posiblemente servida en forma de salchichas en un menú el pasado día 18 de septiembre; fue la causa de las graves infecciones renales y sanguíneas que sufrieron seis de los niños afectados.

LUIS MIGUEL MENDEZÁBAL
BARCELONA

«La mayoría de los casos son primarios, es decir, se han dado en niños y adultos que habían comido esos días la carne contaminada». «Los casos secundarios se han producido a consecuencia del contagio entre un niño y otros», reconoce ayer Lluis Salteras, director general de Salud Pública de la Generalitat. A pesar de que considera que «el brote infeccioso está controlado», Salteras no descarta que se pueda producir algún otro caso, «porque la bacteria tiene un periodo de incubación de una semana». Los tres centros escolares recibían la comida preparada de la empresa de catering Romec S.L., con sede en la población de Rubí, que era suministrada a su vez por la empresa cárnica J. Bruy S.L., de Sentmenat.

Secuelas

El Instituto Municipal de la Salud (IMS), responsable sanitario de las escuelas de Barcelona, fue informado de este brote infeccioso el pasado 10 de octubre por el hospital de Sant Pau, de Barcelona, que atendió a Guillermo Richard, de cuatro años, el caso más grave desde que apareció la infección. «Guillermo ingresó el día 29 de septiembre en la UCI con un síndrome de hemólisis urémica, y diez días después abandonó la UCI», explicaron ayer fuentes del hospital. El niño, que evoluciona favorablemente, abandonará el citado hospital este fin de semana. En contra de lo que se había esperado, Guillermo podrá hacer vida normal, pero en los próximos años deberá someterse a una serie de controles periódicos de tipo analítico.

El Departamento de Sanidad de la Generalitat ha iniciado medidas contra todos los responsables de esta cadena alimentaria, y ha comenzado por abrir un expediente a ambas empresas. Además, ha decidido el cierre cautelar de la empresa de catering y la prohibición de la distribución de los comedidos «alimentos de riesgo»



El colegio Lestonnac, de Barcelona, uno de los lugares donde se dieron varios casos de intoxicación

LA CAUSA

La «E-coli», una bacteria infrecuente

► **Origen.** Todos los casos de intoxicación alimentaria registrados en Barcelona se deben a la infrecuente bacteria E-coli. Se trata de una bacteria que se aloja en el intestino de los animales y el del ser humano.

► **Cómo actúa.** La E-coli es una bacteria de gran toxicidad, que afecta a todo el organismo e interrumpe el funcionamiento de los riñones. Se trata de una bacteria mortal si se introduce en la sangre, y que ocasiona, entre otros trastornos, rotura de los glóbulos rojos (hemólisis), obstrucción del túbulo renal (uremia) y diarrea hemorrágica con sangre.

► **Contagio.** La carne contaminada o simplemente el contacto físico con una persona infectada sin lavarse después puede producir la infección. En Cataluña se han detectado en los últimos diez años nueve casos esporádicos de E-coli.

► **Análisis.** El Instituto Municipal de Salud realizó en Barcelona un total de 650 encuestas con cultivo de heces para ver los casos en los que se confirma la presencia del E-coli, y de todos ellos se han detectado 158 afectados, de los cuales 6 fueron hospitalizados.

Los padres demandan y la escuela calla

Los padres de los seis niños que han tenido que ser ingresados por insuficiencia renal grave debido a esta intoxicación al menos una vez se reunieron ayer para estudiar una posible demanda contra la empresa responsable de este brote. Ana Cisneros, madre de una de una niña afectada que ha pasado dos semanas ingresada en un hospital y que ha requerido incluso de diálisis por problemas renales, explicó que en su familia sus dos hijos, Pedro y Ana, de dos y tres años, respectivamente, han sufrido este brote.

Según la progenitora, la familia vive en Mollet y Pedro, que a va a la guardería Quixtailla, se puso enfermo el 22 de sep-

tiembre con diarreas que el día 25 le fue diagnosticada como gastroenteritis en el hospital de Mollet. Cuatro días después, su hermana de tres años, Ana, que va a un cuarto colegio, el Nou de Mollet del Vallès, empezó también con vómitos y diarreas, pero más severas que el niño, que a los pocos días se curó.

«Como un vegetal»

A los tres días, la pequeña Ana estaba casi «como un vegetal», no comía ni bebía ni orinaba, según su madre, y, nuevamente, el jueves día 5 de octubre acudieron a urgencias en Mollet, desde donde fue trasladada en ambulancia de urgencia al hospital

500 personas afectadas por un brote de 'E. coli' que ha causado la muerte de una niña en Nueva York

J. DEL P. Washington

Un brote de la bacteria *Escherichia coli* en Nueva York, el peor de cuantos se han registrado en EE UU, ha infectado a 500 personas y ha provocado la muerte de una niña de tres años. Las autoridades sanitarias aseguran que el brote está controlado porque está superado el periodo de incubación, pero advierten de posibles contagios a través del contacto con personas infectadas.

La *E. coli* es una bacteria que se encuentra en los intestinos animales y que es generalmente inocua para los humanos, aunque en algunas de sus formas puede provocar desde diarreas hasta problemas renales de consecuencias mortales. La bacteria provoca 20.000 infecciones y 400 muertes en todo el mundo cada año.

El brote en Nueva York fue localizado en una feria local al norte del Estado. El agua de los pozos estaba contaminada con agua de lluvia que había arrastrado restos de las heces de un establo de vacas. Con ese agua se elaboraron bebidas, comidas y helados.

Los responsables locales de salud han confirmado el ingreso en hospitales de al menos 497 personas infectadas por la bacteria. Rachel Aldrich, una niña de tres años, murió el sábado por compli-



Un funcionario de la Agencia de Emergencias de Nueva York echa larvicida en una piscina privada. / ASSOCIATED PRESS

caciones renales tras visitar la feria el fin de semana anterior.

Los otros dos enfermos en estado grave son también niños de cuatro años. El brote afecta especialmente a ancianos y niños por la debilidad de sus sistemas inmu-

nológicos. No hay tratamiento para combatir esta bacteria más allá de la hidratación constante. Se da la circunstancia de que el pozo que contenía la bacteria estaba preparado para evitar esta contaminación. En junio se ha-

bía hecho una prueba al agua que resultó negativa.

Por otro lado, las lluvias obligaron a retrasar las tareas de fumigación, previstas para el jueves, con el fin de combatir la plaga de mosquitos que azota Nueva York.

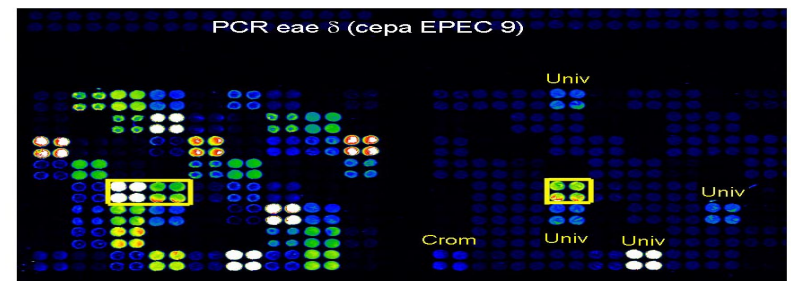
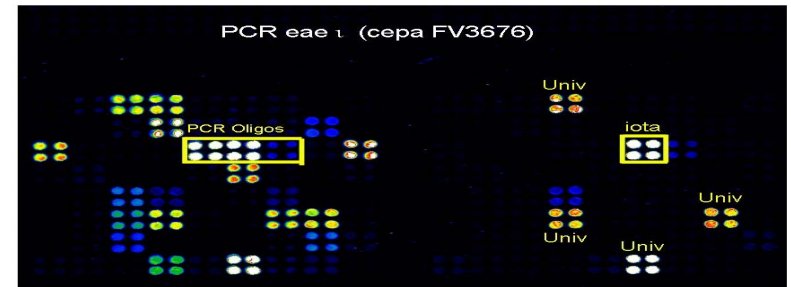
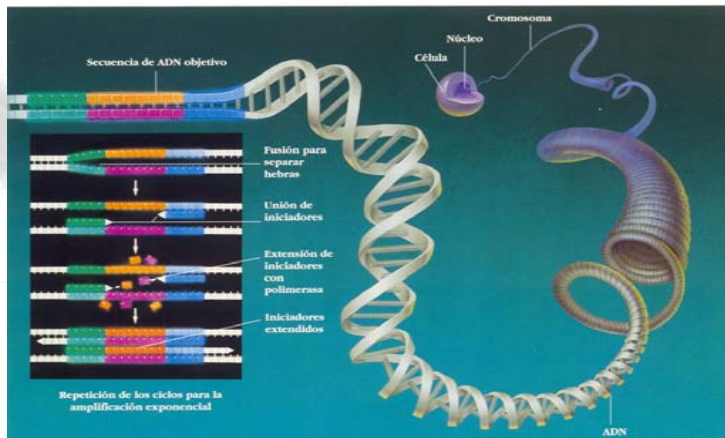
Alimentos implicados en brotes causados por ECVT O157:H7 en los EE.UU. (1982-1994)

Alimento	Nº de brotes (%)	
Carne picada	22	(32)
Persona-Persona	9	(13)
Vegetales	4	(6)
Agua	3	(4)
Carne asada	2	(3)
Leche sin pasteurizar	2	(3)
Sidra	2	(3)
Desconocido	19	(28)

Dosis infectiva muy baja: 1 a 10 bacterias/g de alimento



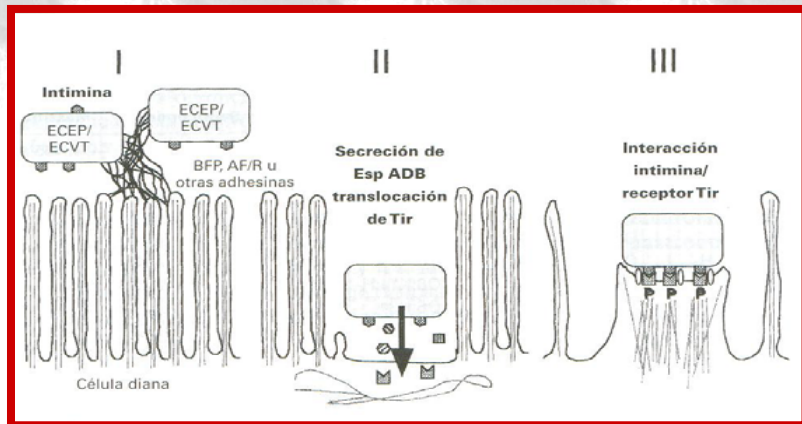
- **OBJETIVO 1: Desarrollar nuevos métodos genéticos de diagnóstico**
- **NODO 3. Dr. J. Blanco, Facultad de Veterinaria, Univ. Santiago.**
- **NODO 7. Dr. V. Parro, Inst. Nacional Técnica Aeroespacial, Madrid.**
- **PCR y MICROARRAYS DE ADN (PATENTE P200503220 28-12-05)**
- **Principales genes de virulencia de ECVT**
- **Sondas específicas para detectar los genes de la isla de patogenicidad LEE (16 eae, 4 tir, 4 espA, 3 espB y 3 espD).**





OBJETIVO 2: Caracterizar los genes (*eae*, *tir*, *espA*, *espB* y *espD*) de la isla de patogenicidad LEE

- **NODO 3. Dr. J. Blanco, Facultad de Veterinaria, Univ. Santiago.**
- Se ha desarrollado un sistema tipado por PCR que identifica un total de 27 tipos y subtipos de intiminas.
- **Se han descubierto 12 nuevos tipos y subtipos de intiminas, 4 nuevas variantes del gen *tir*, 8 nuevas del gen *espA*, 3 nuevas del gen *espB* y 5 nuevas del gen *espD*. Hemos determinado la secuencia nucleotídica completa de todos estos genes.**



Doce nuevos subtipos de intiminas

Secuencias nucleotídicas completas del gen eae

EMBL Nucleotide Sequence Database

- $\beta 2$ (beta 2): **ECEP típico humano O119:H6** ([AJ715407](#))
- $\beta 3$ (beta 3): **ECEP atípico humano O128:H-** ([AJ876653](#))
- $\epsilon 3$ (epsilón 3): **ECEP atípico humano O181:H-** ([AJ876649](#))
- $\epsilon 4$ (epsilón 4): **ECEP atípico humano O109:H-** ([AJ876651](#))
- $\eta 2$ (eta 2): **ECEP típico humano ONT:H45** ([AJ876652](#))
- μ (my): **ECEP típico humano O55:H51** ([AJ705049](#))
- ν (ny): **ECEP atípico humano O10:H-** ([AJ705050](#))
- ξ (xy): **ECVT bovino O80:H-** ([AJ705051](#))
- \omicron (omicrón): **ECEP atípico humano O129:H-** ([AJ584840](#))
- π (pi): **ECEP atípico humano O14:H5** ([AJ705052](#))
- ρ (rho): **Bovino y caprino O149:H-** ([AJ748082](#))
- σ (sigma): **ECS aviares O86:H-** ([AJ781125](#))

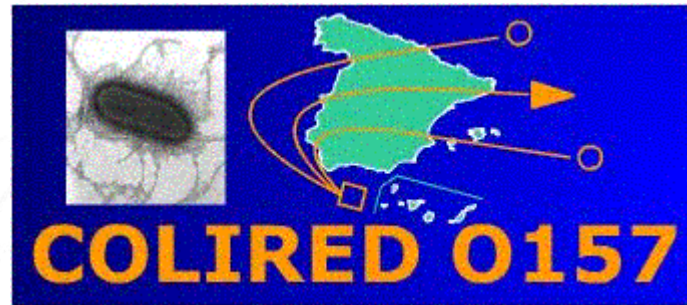




OBJETIVO 3: Desarrollar cepas recombinantes capaces de bloquear la adherencia de ECVT al epitelio intestinal mediada por la unión de la intimina al receptor tir

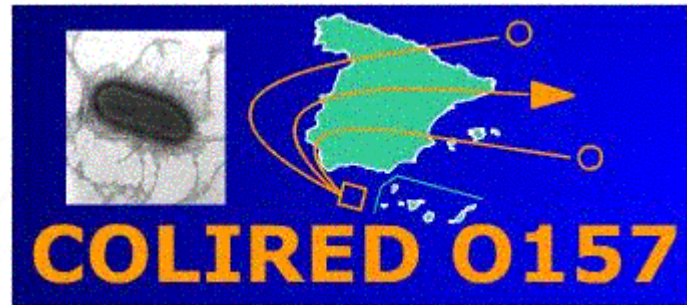
NODO 4. Dr. L.A. Fernández , C. Nacional de Biotecnología, Madrid.

- Se han desarrollado sistemas de secreción de anticuerpos recombinantes en cepas comensales de *E. coli* como la Nissle 1917, con los que se ha comprobado la correcta secreción de anticuerpos por la bacteria.
- Se han obtenido vectores recombinantes que sobreexpresan el fragmento de la intimina Int280 y el dominio receptor Tir-M.
- Las proteínas Int280 y Tir-M se han expresado en la cepa BL21 (DE3) y se han purificado por cromatografía de afinidad.
- Con dichas proteínas se está desarrollando un ELISA para buscar anticuerpos recombinantes inhibidores de la interacción Intimina-Tir.
- También con dichos antígenos se han inmunizado dromedarios canarios para generar anticuerpos Vhh neutralizantes de la interacción intimina-tir.
- Se han generado adhesinas artificiales combinando los anticuerpos Vhh con dominios autotransporte que permiten a las bacterias fijarse a la superficie de líneas celulares.



OBJETIVO 4: Estudiar el mecanismo de secreción de proteínas implicadas en la virulencia de ECVT O157:H7, especialmente de intiminas y de autotransportadores (EspA y AIDA-like)

- **NODO 4. Dr. L.A. Fernández , C. Nacional de Biotecnología, Madrid.**
- Se ha realizado un estudio detallado de la secreción y plegamiento de proteínas autotransportadoras como AIDA-like de ECVT O157:H7.
- También se ha analizado la capacidad del sistema Tat (Twin arginina translocation) para secretar autotransportadores a través de la membrana interna de E. coli.
- Por último, después de construir una **banca de 30.000 mutantes** empleando el minitransposón mini-Tn10:Km, se han identificado **cuatro genes (yshA, tfaS, yjhA, yfbQ)**, de función previamente desconocida que pueden estar implicados en el proceso de secreción de intiminas.



OBJETIVO 5. Estudio de la regulación de la expresión de genes de virulencia de ECVT. Papel de moduladores globales y de las proteínas Hha y H-NS.

- **NODO 1. Dr. A. Juárez, Facultad de Biología, Univ. de Barcelona.**
- **Se ha diseñado un array de ADN con un total de 91 sondas que corresponden a genes responsables de regulación global (proteínas asociadas al nucleóide, entre ellas H-NS y Hha) y genes de virulencia de E. coli.**
- **Dicho array nos va a permitir detectar si existen niveles diferentes de expresión de reguladores globales en diferentes serotipos de E. coli, y cómo tales niveles pueden afectar la expresión de los factores de virulencia.**



OBJETIVO 6. Investigar la frecuencia de infecciones causadas por ECVT en pacientes con SUH, CH, diarrea

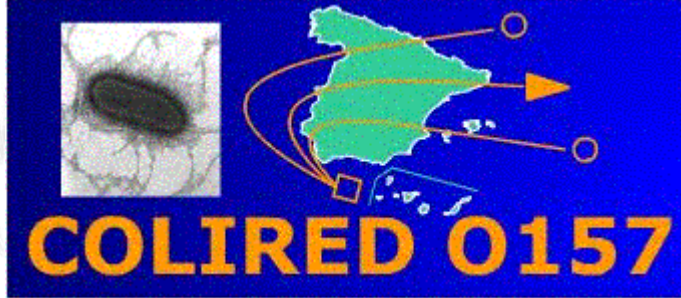
- **NODO 8. Dra. R.M. Bartolomé, Hospital Vall d'Hebron, Barcelona.**
- **NODO 9. Dra. M. P. Alonso, C. Hospitalario Xeral-Calde, Lugo.**
- **Dos pequeños brotes familiares O157:H7 y O26:H11 (Lugo)**

Año	Número coprocultivos	Detección ECVT	Aislamiento ECVT O157:H7	Aislamiento ECVT no-O157
Complejo Hospitalario Xeral-Calde de Lugo				
2003	834	55 (6,6%)	7 (0,8%)	20 (2,4%)
2004	1459	48 (3,3%)	3 (0,2%)	28 (1,9%)
2005	851	12 (1,4%)	0	9 (1,1%)
2003-2005	3144	115 (3,7%)	10 (0,3%)	57 (1,8%)
Hospital Universitario Vall d'Hebrón				
2003-2005	3134	3 (0,1%)	3 (0,1%)	0 (0%)



OBJETIVO 7. Estudiar el nivel de portadores asintomáticos en niños y adultos sanos

- **NODO 3. Dr. J. Blanco, Facultad de Veterinaria, Univ. Santiago.**
 - **NODO 9. Dra. M. P. Alonso, C. Hospitalario Xeral-Calde, Lugo.**
-
- **Estudio programado para el año 2006**



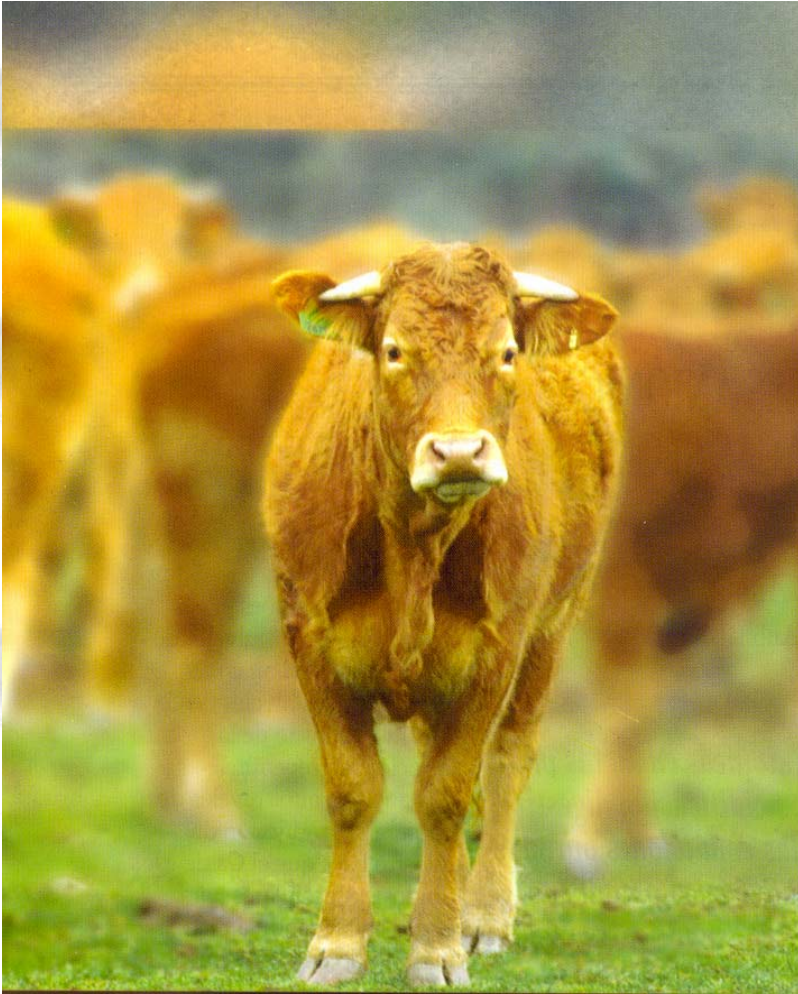
OBJETIVO 8. Evaluar los rumiantes como reservorio de ECVT

- NODO 2. Dr. J. Rey, Facultad de Veterinaria, Univ. Extremadura.
- NODO 3. Dr. J. Blanco, Facultad de Veterinaria, Univ. Santiago.
- NODO 5. Dr. R. Fuente, Fac.Veterinaria, Univ. Complutense, Madrid.

Se han realizado estudios de prevalencia en ganado bovino, ovino y caprino en Galicia, Extremadura, Madrid, Murcia, Argentina, Brasil, y Suiza.



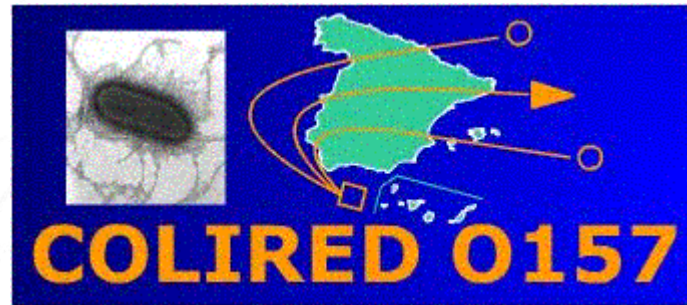
El 75% de los rumiantes llevan en su microbiota intestinal ECVT no-O157



10% O157:H7



1% O157:H7



OBJETIVO 9. Examinar la presencia de ECVT en alimentos

- NODO 2. Dr. J. Rey, Facultad de Veterinaria, Univ. Extremadura.
- NODO 3. Dr. J. Blanco, Facultad de Veterinaria, Univ. Santiago.
- NODO 5. Dr. R. Fuente, Fac.Veterinaria, U. Complutense, Madrid.

- **ECVT en España**
 - Carne de vacuno (Nodo 3)
 - Leche de ovino (Nodo 2)
 - Leche de caprino (Nodo 5)

- **ECVT en Italia**
 - Carne de vacuno (Nodo 3)

- **ECVT en Perú**
 - Carne de Vacuno, queso fresco y verduras (Nodo 3)

ECVT en carne de vacuno en Lugo

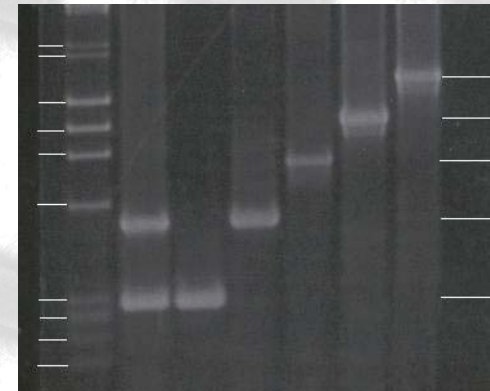
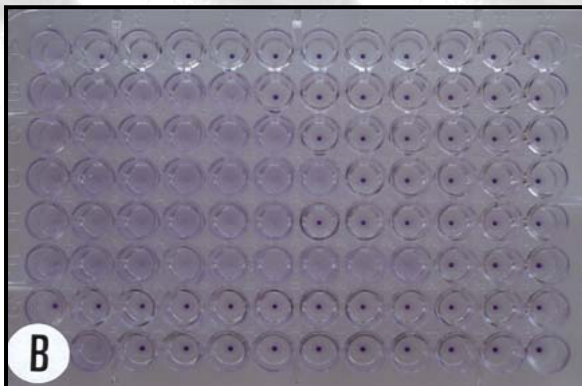
Año	Muestras	ECVT O157:H7		ECVT no-O157		Total	
1995	58	3	5%	8	14%	10	17%
1996	91	0	0%	8	9%	8	9%
1997	173	1	0,6%	20	12%	21	12%
1998	133	1	0,8%	18	14%	18	14%
2001	80	1	1,3%	6	8%	7	9%
2002	20	0	0%	1	5%	1	5%
2003	230	2	0,9%	29	13%	30	13%
2005	150	0	0%	23	15%	23	15%
2003-05	380	2	0,5%	52	14%	53	14%
Total	935	8	0,9%	112	12%	117	13%





OBJETIVO 10 Y 11: Determinar los serotipos y genes de virulencia de los ECVT de origen humano y animal

- **NODO 3. Dr. J. Blanco, Facultad de Veterinaria, Univ. Santiago.**
- **NODO 9. Dra. M. P. Alonso, C. Hospitalario Xeral-Calde, Lugo.**
- **El serotipado de las cepas se realizó empleando todos los antisueros O (O1 a O185) y H (H1 a H56).**
- **La detección de genes de virulencia se realizó por PCR**
 - vt1, vt2, eae, saa, exhA



Seropatotipos de ECVT humanos

C. Hospitalario Xeral-Calde de Lugo (2003-2005)

- 68 cepas, 57% con el gen eae
- 23 serogrupos,
- 33 serotipos O:H
- 39 seropatotipos
- 35% se englobaron en 2 serogrupos
 - O26 y O157
- 25% pertenecieron a 2 seropatotipos

O26:H11*	vt1	EntHly	eae	(10 cepas)
O157:H7*	vt1 vt2	EntHly	eae	(7 cepas)

*Han provocado dos brotes familiares en el año 2003.

Serotipos de ECVT

Carne de vacuno (Lugo 2003-2005)

- 42 cepas (31% eae+)
- 20 serogrupos
- 28 serotipos O:H
- 31 seropatotipos
- 75% cepas con seropatotipos de ECVT causantes de infecciones en humanos
O26:H11, O103:H2, O111:H-, O145:H- y **O157:H7**



OBJETIVO 12. Establecer los fagotipos de las cepas de ECVT O157:H7

NODO 6. Dr. M.A. Usera, Centro Nacional de Microbiología, Madrid.

Fagotipo	Humano (n=67)	Bovino (n=82)	Ovino (n=12)	Carne (n=10)
2	19	21	0	2
8	15	17	0	1
14	7	4	3	0
21/28	1	7	0	3
23	0	4	0	0
34	1	3	2	0
39	3	2	0	0
54	3	8	5	0
Otros	18	16	2	4

Fagotipos 2 y 8: 51% cepas humanas y 46% cepas bovinas

Fagotipo 2 asociado a patologías severas (CH y SUH).

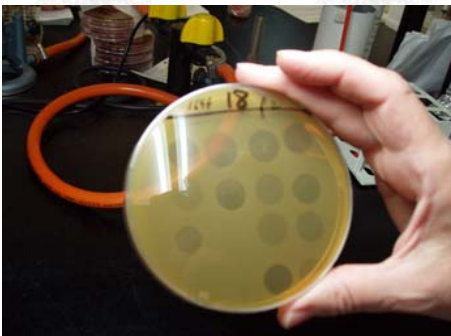




**OBJETIVO 12. Desarrollar un nuevo sistema de fagotipado para los
ECVT O26:H11**

NODO 6. Dr. A. Echeita, Centro Nacional de Microbiología, Madrid.

- **Se ha desarrollado un nuevo sistema de fagotipado para ECVT O26:H11.**
- **Se han aislado 41 bacteriófagos salvajes con los que se han determinado 35 fagotipos entre las 132 cepas estudiadas.**
- **Las cepas implicadas en el brote de Lugo 2003 presentaron el mismo fagotipo.**



OBJETIVO 13. Establecer si las cepas de origen humano y animal pertenecen a los mismos clones de virulencia por tipado molecular

Electroforesis en campos pulsantes (PFGE)

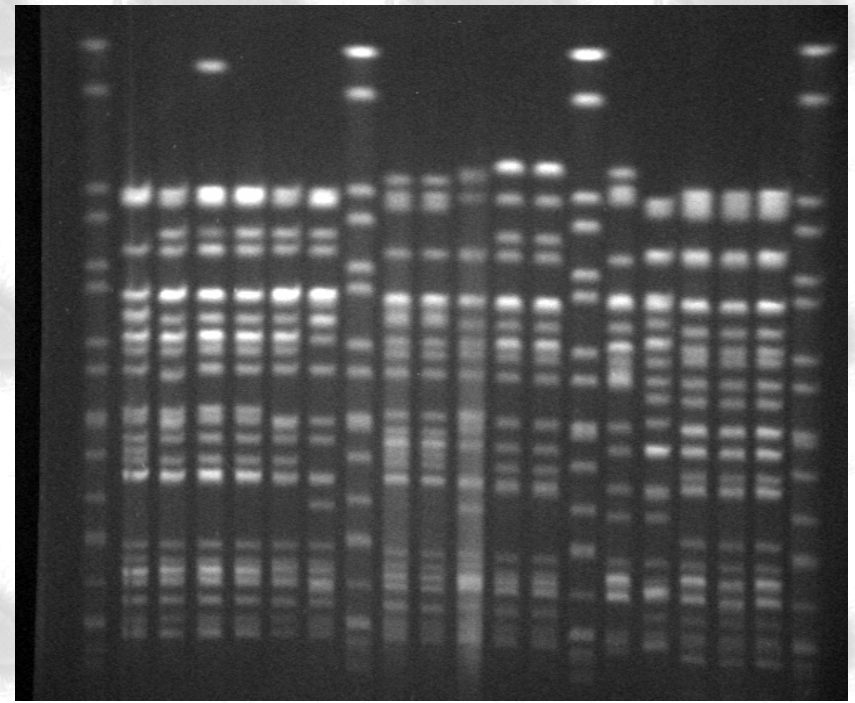
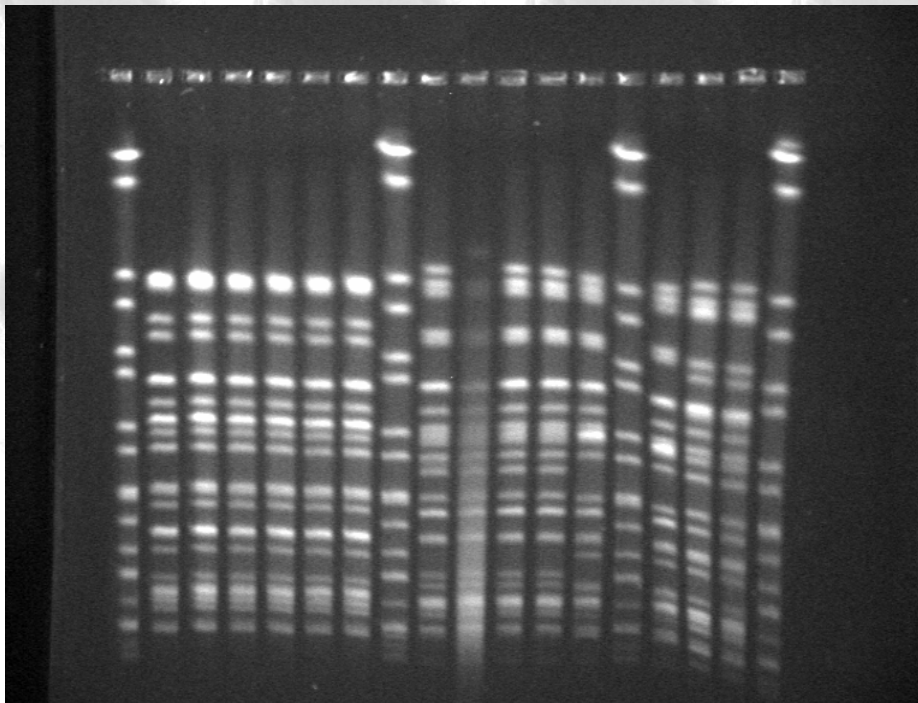
NODO 3. Dr. J. Blanco, Facultad de Veterinaria, Univ. Santiago.

NODO 6. Dr. A. Echeita, Centro Nacional de Microbiología, Madrid.

ECVT O157:H7 aislados de pacientes en Galicia 2003-2005

Las cepas responsables del brote presentaron la misma combinación de fagotipo-pulsotipo

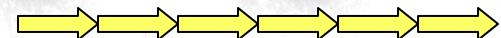
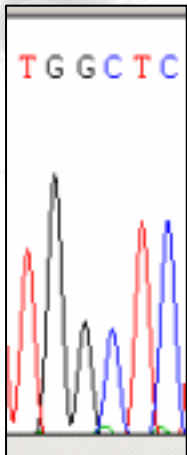
Fagotipo 8 predominante 2003-2004 (Responsable del brote)



OBJETIVO 13. Tipado molecular por análisis de la variabilidad en el número de repeticiones de secuencias en tándem de múltiples loci (MLVA)
NODO 6. Dr. A. Echeita, Centro Nacional de Microbiología, Madrid.

- Este método consiste en la amplificación y secuenciación de 7 *loci* y la determinación del número de secuencias repetidas en cada cepa .
- Se estudiaron 98 cepas de ECVT O:157:H7
 - Los 7 *loci* mostraron variabilidad en el número de secuencias en tándem repetidas.
 - TR6 fue el locus con menor variabilidad: 33 cepas presentaban solo 2 repeticiones, 1 cepa tenía una copia de esta secuencia y otra cepa 3 copias.

Nombre	Secuencia tándem	Nº alelos	Nº repeticiones /alelo	Diversidad
TR1	AAATAG	10	6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 15 y 16	0,89
TR2	TGGCTC	17	14, 20, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 31, 32, 33, 34, 36, 37, 38, 40 y 43	0,93
TR3	TATCTT	7	4, 5, 6, 7, 8, 9 y 10	0,71
TR4	TGCAAA	3	3, 4, y 5	0,52
TR5	AAGGTG	12	5, 6, 8, 9, 11, 12, 14, 15, 16, 17, 19 y 2	0,87
TR6	TTAAATAATCTACAGAAG	3	1, 2 y 3	0,11
TR7	GACCAC	7	1, 5, 6, 7, 8, 11 y 12	0,76

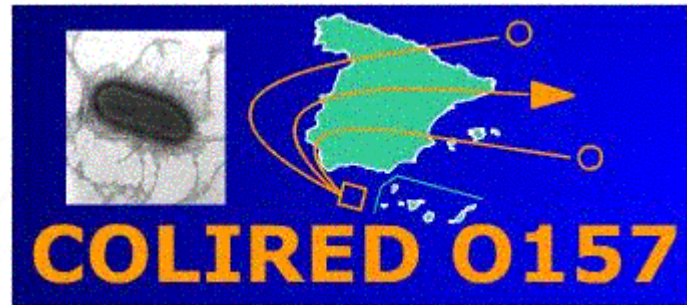




OBJETIVO 14: Evaluar el nivel y los patrones de resistencia múltiple a los antibióticos en los ECVT de origen humano y animal

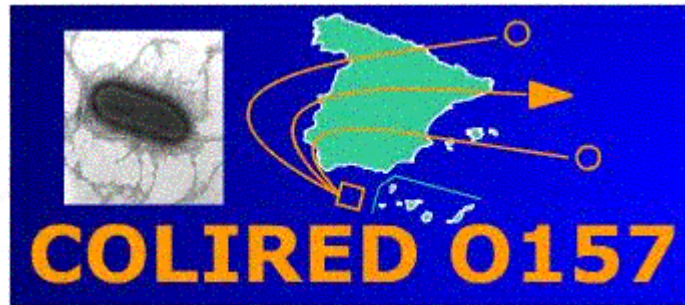
- **NODO 3. Dr. J. Blanco, Facultad de Veterinaria, Univ. Santiago.**
- **NODO 9. Dra. M. P. Alonso, C. Hospitalario Xeral-Calde, Lugo.**
- **141 ECVT O157:H7 y 581 no O157 de origen humano y animal.**
- **Se encontró un nivel superior de cepas resistentes entre los ECVT O157:H7 de origen bovino (53%) que entre los humanos (23%)**
- **Curiosamente, entre los ECVT no O157 encontramos el fenómeno contrario.**
- **Además, encontramos que los ECVT no O157 que poseen el gen eae presentan más resistencias que las que carecen de dicho gen. Las cepas multiresistentes se concentran en determinados serotipos: O111:H- y O118:H16.**





OBJETIVO 15: Caracterización de bacteriófagos que llevan los genes que codifican para las verotoxinas VT1 y VT2

- **NODO 10. Dr. J. Jofre, Facultad de Biología, Univ. Barcelona**
- **Bacteriófagos abundantes en aguas residuales urbanas y de las explotaciones ganaderas.**
- **Se ha determinado la morfología por microscopía electrónica de los bacteriófagos que llevan los genes para VT2 y se han secuenciado dichos genes, encontrándose una gran diversidad de bacteriófagos inducibles que pueden infectar *E. coli* y generar nuevos clones de virulencia.**
- **Actualmente se pretende caracterizar los bacteriófagos que llevan los genes de VT1.**



OBJETIVO 16: Elaboración de una base con los datos microbiológicos, clínicos y epidemiológicos de todas las cepas de ECVT

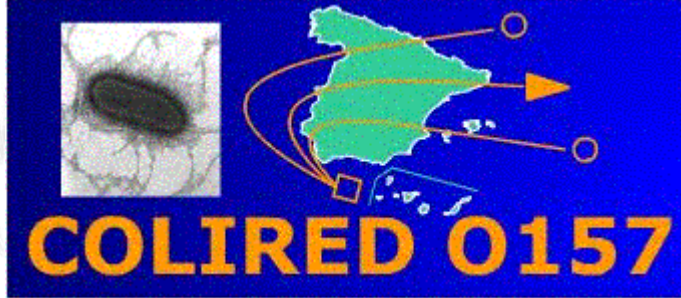
- **NODO 3. Dr. J. Blanco, Facultad de Veterinaria, Univ. Santiago.**
- **NODO 9. Dra. M. P. Alonso, C. Hospitalario Xeral-Calde, Lugo.**
- **Estamos elaborando una base de datos con casi 2000 cepas de ECVT aisladas de seres humanos, animales y alimentos en España y en otros países que han sido caracterizadas por los grupos investigadores de la COLIRED.**



OBJETIVO 17: Diseño de una página WEB con información sobre la red y el desarrollo del proyecto de investigación

- **NODO 3. Dr. J. Blanco, Facultad de Veterinaria, Univ. Santiago.**
- **Laboratorio de Referencia de E. coli (LREC)**
- **www.lugo.usc.es/ecoli**
- **COLIRED-O157**
- **www.lugo.usc.es/ecoli/COLIREDes.html** (versión en español)
- **www.lugo.usc.es/ecoli/COLIRE Din.html** (versión en inglés)





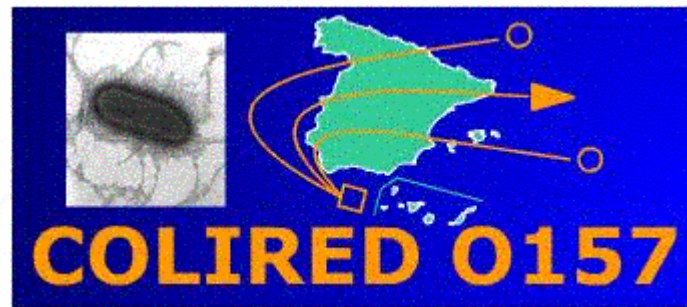
CONCLUSIONES

- Conocemos en nivel de infecciones en humanos.
- Los serotipos y los genes de virulencia de las cepas responsables de dichas infecciones.
- Sabemos el nivel de portadores dentro de la cabaña ganadera de nuestro país.
- Conocemos el grado de contaminación de los alimentos.
- Estamos realizando estudios con el objetivo de reducir el número de animales portadores de ECVT O157:H7.
 - Vacunación con intiminas
 - Bacterias recombinantes productoras de anticuerpos (intimina-tir).



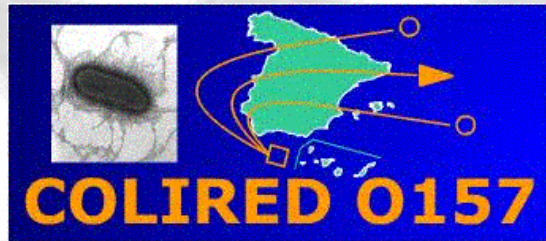
35 PUBLICACIONES INTERNACIONALES
25 participan los nodos gallegos
(2003-2005)

6	Journal of Clinical Microbiology
5	Veterinary Microbiology
3	Molecular Microbiology
2	Microbiology
1	Journal of Bacteriology
1	Infection and Immunity
1	Clinical Chemistry
3	International Microbiology (2) y Research in Microbiology (1)
2	BMC Microbiology
1	FEMS Microbiology Letters
1	International Journal of Food Microbiology
2	Journal of Food Protection
1	Journal of Dairy Science
1	Epidemiology and Infection
1	Experimental Biology and Medicine
1	Veterinary Record
1	Journal of Veterinary Diagnostic Investigation
1	Protein Expression and Purification
1	Current Opinion in Biotechnology



CENTROS COLABORADORES EXTERNOS (16)

- **Dra. María Isabel Bernárdez y Dr. José Llovo (Complejo Hospitalario Universitario de Santiago de Compostela)**
- **Dra. Rosa Villanueva (Complejo Hospitalario Universitario Juan Canalejo, La Coruña)**
- **Dr. Roger Stephan y Dr. C. Zweifel (University of Zurich, Suiza)**
- **Dr. Antonio F. Pestana de Castro (Universidade de Sao Paulo, Brasil)**
- **Dr. Domingos da Silva Leite (Universidad de Campinas, Brasil)**
- **Dr. Marcelo Sanz y Dr. Alberto Parma (Universidad del Centro PBA, Tandil, Argentina)**
- **Dr. Santana Lidia León Alfaro (Universidad Peruana Cayetano Heredia, Lima, Perú)**
- **Dr. Marcello Trevisani y Lca. Silvia Alonso (Università di Bologna, Italia)**
- **Dr. Felipe Scheloto y Dr. Gustavo Varela (Universidad de la República, Montevideo)**
- **Dr. Loreny Giugliano (Universidad de Brasilia, Brasil)**
- **Dr. Fernando de la Cruz (Universidad de Cantabria, Santander).**
- **Dr. Gad Frankel (Imperial Collage London, Inglaterra).**
- **Dra. Kim Hardie (University of Nottingham, Inglaterra).**
- **Dr. Jörg Hacker (University of Würburz, Alemania).**
- **Dr. Martin Woodward (Veterinary Laboratories, Surrey, Inglaterra).**
- **Dr. Kevin Gough (University of Leicester, Inglaterra).**



Evaluación Expertos Internacionales

Septiembre 2005

- La valoración global: **ACEPTABLE (+)**.
- Productividad realizada durante los 3 años de funcionamiento de la red: Buena productividad e impacto
- Estructura organizativa de la red: Excelente.
- Interacción científica entre los grupos de la red: Adecuada y complementaria.



- **GESTIÓN DE LA RED**
- **Dotación económica**
- 1º ANUALIDAD-2003 250.000 EUROS
- 2º ANUALIDAD-2004 250.000 EUROS
- 3º ANUALIDAD-2005 220.000 EUROS
- 25.000 Euros por grupo y año
- Reducción > 50%



- **GESTIÓN DE LA RED**
- **Dotación económica 2006**
- Proyecto coordinado Dr. J. Blanco (USC)
- 57.834 Euros (6 grupos)
- Mucha mayor cantidad para los que solicitaron un proyecto fuera del marco de las redes temáticas FIS.
- ¿Penalización por trabajar en red?



- **GESTIÓN DE LA RED**
- **Exceso de informes**
- Informes anuales muy amplios y demasiado detallados.
- Informes solicitados con no suficiente antelación y en períodos muy cercanos a las vacaciones.



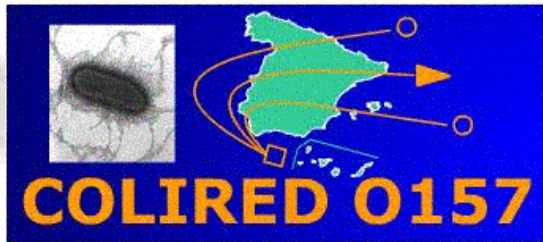
- **GESTIÓN DE LA RED**
- **En los hospitales los investigadores no tienen una reducción en su labor asistencial**



- **INSTITUTO DE SALUD CARLOS III**
- **Redes Temáticas de Grupos** (colaboración investigadores SNS-CSIC-UNIVERSIDADES)
- **Contratos de investigadores en el Sistema Nacional de Salud** (Incorporación de doctores y profesionales con acreditada trayectoria investigadora en Biomedicina y Ciencias de la Salud)
 - 2005: 38 toda España (14 Cataluña, 9 Madrid y 1 Galicia)



- **Investigación en ciencias da saúde en Galicia**
- El SERGAS tiene que hacer un plan para potenciar la investigación en los hospitales gallegos.
- Hay que crear Unidades de Investigación en todos los hospitales del SERGAS.
- Es preciso liberar a los mejores investigadores del SERGAS de al menos el 50% de su carga asistencial.
- Es necesario contratar en los próximos 5 años al menos 50 doctores con una acreditada trayectoria investigadora en Biomedicina y Ciencias de la Salud, especialmente en el campo de la Biología Molecular y Celular, para incorporar a las unidades de investigación de los hospitales del SERGAS.



Enrique A. González García **1956-2005**

- **Catedrático de Microbiología de la USC.**
- **Decano de la Facultad de Veterinaria (1996-2004).**
- **Insignia de oro de la USC (2005)**
- **Colegiado honorífico del Colegio de Veterinarios de Lugo.**
- **Investigador cofundador del Laboratorio de Referencia de E. coli (LREC) y miembro de la COLIRED-O157**



