

ESTUDIOS SOBRE LA ESCHERICHIA COLI

II. INVESTIGACION DE LAS CEPAS 0111, 055 Y 026 EN LACTANTES CON ENTEROCOLITIS AGUDA, TOXICOSIS Y EN NIÑOS SIN SINDROME DIARREICO

Drs. MANUEL RODRIGUEZ, JULIO MENEGHELLO y RENE ADASME

Instituto de Microbiología e Inmunología del Prof. Hugo Vaccaro. Universidad de Chile.

y Cátedra de Pediatría del Prof. Julio Meneghello.

Hospital "Manuel Arriarán". Santiago.

El aislamiento de ciertos tipos serológicos de la *Escherichia Coli*, tales como el 0111, 055 y 026^{1,2} en diarreas agudas del niño y en brotes epidémicos^{3,6} en los Servicios de Lactantes, ha concentrado la atención de bacteriólogos y clínicos, quienes, a través de numerosas publicaciones han ido destacando, cada vez con mayor énfasis, la importancia de estos gérmenes como agentes etiológicos de diarreas en la infancia. Por otra parte, el mejor estudio de estos casos ha permitido conocer, no sólo la participación de otros tipos serológicos en estos cuadros, tales como el 088, 0127 y 0128^{7,8}, sino que además, de algunos subtipos^{9,10}.

La infrecuencia de su hallazgo como agente patógeno de procesos infecciosos extra intestinales, le ha valido la designación de "*Escherichia Coli Enteropatógena*" nombre bajo el cual el comité de tipificación del género *Escherichia*, de la American Public Health Association, ha reunido a estos sero-tipos del coli, para diferenciarlos de la *Escherichia coli* común, comensal del intestino¹¹.

En Chile, las primeras investigaciones al respecto fueron dadas a conocer por nosotros en 1954¹², como parte de un plan destinado al estudio de estos tipos serológicos. En la presente publicación, analizamos preferentemente lo relacionado con la Enterocolitis y Toxicosis, por la importancia que estos cuadros de la patología del lactante adquieren en nuestro medio.

MATERIAL Y MÉTODOS

Nuestro material clínico fué obtenido del Servicio A de Medicina del Hospital "Manuel Arriarán" y los niños que sirvieron como controles sanos, fueron recolectados de grupos privados, o de las consultas periódicas a policlínicas por simple control.

Nuestra casuística comprende 490 niños, de los cuales 281 son varones y 209 mujeres, cuyas edades fluctuaron entre 1 día y 2 años, con un promedio de 7,5 meses.

A todos los niños controlados durante su estadía en el Servicio, se les sometió a un plan de estudio bacteriológico de las deposiciones en tres muestras, recogidas en días seguidos, teniendo especial cuidado que la primera fuese antes de iniciarse el tratamiento con antibióticos. Por último, un control fué realizado en el momento del alta.

En cuanto a los lactantes sanos, fueron estudiados mediante una muestra, ya que por lo general no hubo facilidades para un nuevo control.

Del total de enfermos, 54 fueron catalogados como enterocolitis, porque presentaban diarrea con mucus, pus y sangre, 46 fueron catalogados como dispepsias, ya que tenían junto a una diarrea simple sin elementos inflamatorios, vómitos y a veces discreta deshidratación, finalmente a un grupo de 215, lo catalogamos como toxicosis, porque a los síntomas anteriormente descritos, se agregó un acentuado compromiso del estado general, con embotamiento del sensorio y colapso cardiovascular.

Procedimiento Bacteriológico: Las muestras ingresadas al laboratorio fueron sembradas inmediatamente por diseminación en placas con los siguientes medios: Agar Lactosado Tornasolado; S S; McConkey's y Levine. Con estos medios nos asegurábamos el aislamiento de cualquiera de las especies bacterianas capaces de determinar procesos diarreicos del niño, incluso el estafilococo, cuyo papel en procesos intestinales agudos, especialmente a raíz de tratamientos antibióticos, ha sido bien establecido. Por otra parte el medio de Levine, nos permitía identificar rápidamente las colonias de la *E. Coli*, de los otros coliformes.

A las 24 horas de incubación a 37°C, las colonias de *E. Coli*, en número de 4-6 por placa, fueron so-

metidas a aglutinación mediante sueros hiperinmunes de Tipo OB, obtenidos por inmunización de conejos mediante las cepas tipo, 0111 B4; 055 B5 y 026 B6, las que nos fueron gentilmente proporcionadas por la Dra. Joan Taylor, del Salmonella Reference Laboratory de Londres.

En la preparación de estos sueros usamos un antígeno muerto a 100°C durante media hora, seguido de una doble extracción con alcohol etílico de 96° y acetona. Mediante este procedimiento, cuyos detalles describiremos en una próxima comunicación¹³, hemos logrado obtener un antígeno libre de la Fracción H sin dañar la fracción B del antígeno K y cuyos títulos han alcanzado a 1:1280.

Con este tipo de suero hemos eliminado el control de aglutinación en tubo que realizáramos en nuestras primeras investigaciones¹⁰ ya que no hemos observado falta de concordancia con la aglutinación en lámina, que utilizamos actualmente, suspendiendo directamente las bacterias en una gota de suero.

En cuanto a los gérmenes no fermentadores de la lactosa fueron aisladas e identificadas por métodos bioquímicos y serológicos. Finalmente, las placas fueron mantenidas en la estufa por tres días con el objeto de apreciar los desarrollos tardíos.

RESULTADOS Y COMENTARIOS

En el análisis de nuestros resultados hemos dividido el material clínico en dos grandes grupos, aquellos lactantes con enterocolitis y los controles, y el grupo de las dispepsias y toxicosis.

El cuadro N° 1, nos señala la frecuencia del aislamiento de la *Escherichia Coli* Enteropatógena (ECE) en el primer grupo de niños.

Es importante hacer notar el alto porcentaje en el que nos fué posible aislar estos tipos serológicos de coli en los niños con enterocolitis, cifras en absoluta concordancia con el aislamiento de estos gér-

menes en cuadros semejantes, efectuado por otros autores^{1,3,4}.

Por otra parte, si comparamos estas cifras con el porcentaje de niños en los cuales nos fué posible aislar salmonellas o shigellas, podríamos apreciar que, fuera de estas especies microbianas responsables de diarrea aguda del lactante, es posible, mediante el estudio de la ECE, catalogar un alto porcentaje de niños con una etiología bien precisa.

La comparación de estos resultados con el obtenido en los niños sin diarrea, pero hospitalizados por otras causas y en los niños sanos nos demuestra, al igual que en las experiencias de otros, que estos gérmenes están íntimamente asociados a una lesión del intestino del lactante y que sólo excepcionalmente se les encuentra en niños sanos, los que representarían al grupo portador que mantiene la cadena de infección.

En nuestra experiencia no hemos apreciado una concomitancia de ECE con *Shigellas* o *Salmonellas*, pero sí con algunos parásitos como *Entamoeba histolítica*.

El aislamiento de más de una cepa de ECE en deposiciones de niños con enterocolitis, u otros cuadros clínicos con diarrea, ha sido un hallazgo cuya descripción en la literatura extranjera no hemos comprobado; sin embargo, el aislamiento en cultivo puro de estas cepas encontradas simultáneamente infectando el intestino de un niño y su estudio inmunológico posterior, nos ha permitido confirmar esta asociación en un número apreciable de casos, cuya distribución condensamos más adelante en el cuadro N° 3.

No hemos podido apreciar un predominio significativo en la enterocolitis de un tipo serológico de ECE sobre otro, sino

CUADRO N° 1

FRECUENCIA DE AISLAMIENTO DE LAS CEPAS 0111, 055 Y 026 DE LA *E. COLI* ENTEROPATÓGENA EN LACTANTES CON ENTEROCOLITIS, ENFERMOS SIN DIARREA Y CONTROLES SANOS

Casos	0111	<i>Escherichia Coli</i> 055	026	Otros agentes patógenos <i>Shig.</i> * Salm.	Parásitos	Más de una cepa	Negativos	Total
Enterocolitis	11 (20,3%)	10 (18,5%)	10 (18,5%)	12 (22,5%)	1 ** (1,8%)	5 (9,2%)	5 (9,2%)	54
Enfermos sin diarrea	2 (2,2%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	85 (97,8%)	87
Controles sanos	2 (2,2%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	86 (97,8%)	88
TOTAL	15	10	10	12	1	5	176	229

* *Shigella*-*Salmonella*.

** Asociación de *Entamoeba histolítica* con *E. Coli* 055.

CUADRO N° 2

FRECUENCIA DE AISLAMIENTO DE LAS CEPAS 0111, 055 Y 026 DE LA E. COLI ENTEROPATOGENA EN LACTANTES CON DISPEPSIA Y CON TOXICOSIS

Casos	0111	Escherichia Coli 055	026	Otros agentes patógenos Shig. * Sa'm.	Parásitos	Más de una cepa	Negativos	Total
Dispepsias	5 (10,8%)	3 (6,5%)	4 (8,7%)	0 (0,0%)	3 ** (6,5%)	3 (6,5%)	28 (60,8%)	46
Toxicosis	30 (52,9%)	8 (14,0%)	12 (21,0%)	8 (14,0%)	0 (0,0%)	7 (12,1%)	150 (69,7%)	215
TOTAL	35	11	16	8	3	10	178	261

* Shigella-Salmonella.

** Asociación de Lamblias Intestinalis con E. Coli 0111, 055 y 026.

que por lo general las diferencias son pequeñas, probablemente porque no nos ha tocado estudiar un brote epidémico de enterocolitis, sino que más bien, hemos estudiado los casos que se hospitalizan en el período de primavera y verano y que provienen de diferentes sectores de la población.

En el cuadro N° 2, se resume nuestra experiencia en la dispepsia y toxicosis.

En estos cuadros clínicos, particularmente en la toxicosis, podemos apreciar un predominio significativo de la cepa 0111 sobre los otros tipos y, al igual que en los pacientes con enterocolitis, la totalidad de los gérmenes patógenos aislados nos demuestra un importante porcentaje de casos en los que la causa de las alteraciones intestinales de estos niños puede ser claramente determinada.

Nuevamente, en esta serie de enfermos, volvemos a encontrar tipos serológicos diferentes de ECE asociados en el mismo caso. Los detalles en conjunto, con los pacientes con enterocolitis, se pueden apreciar en el cuadro N° 3.

En cuanto a las asociaciones con parásitos patógenos del tubo intestinal del lactante, sólo lo hemos encontrado en los niños con dispepsia. Volvemos a insistir que al igual que en la experiencia extranjera, no hemos aislado nunca salmonellas o shigellas simultáneamente con ECE en un mismo enfermo.

El estudio bacteriológico de la deposición del niño con síndrome tóxico, ha sido

motivo de especial preocupación en el Servicio A de Medicina del Hospital "Manuel Arriarán", desde que la introducción de algunas normas terapéuticas¹⁴ tendientes a corregir los trastornos intestinales, humorales y cardiovasculares, con una orientación racional, ha exigido un análisis exhaustivo desde un punto de vista de laboratorio en orden a valorar los resultados terapéuticos.

Por otra parte, no hemos encontrado en la literatura un estudio bacteriológico en relación a la ECE, del síndrome tóxico del lactante. Nuestra experiencia, con un total de 215 casos, nos ha inducido a señalar en forma más detenida algunas características de los hallazgos bacteriológicos que estos enfermos presentaron en relación al uso de algunos antibióticos y sus resultados los exponemos en los cuadros N° 4 y 5.

En el primero de ellos podemos apreciar, que estos enfermos, bajo el tratamiento con antibióticos, ya a las 24 horas de ser sometidos a la droga, sólo en un pequeño porcentaje de ellos aún era posible aislar el tipo serológico de Coli que se había encontrado en el momento de ingreso, y que en la tercera muestra la totalidad de los pacientes tenían un cultivo negativo para la ECE.

En este cuadro se analiza separadamente a un grupo de estos pacientes con toxicosis que fueron tratados con Cloramfenicol a dosis de 25 mg: por kilo de peso

CUADRO N° 3

FRECUENCIA DE AISLAMIENTO DE MAS DE UNA CEPA DE ESCHERICHIA COLI ENTEROPATOGENA EN NIÑOS CON DISPEPSIA, TOXICOSIS Y ENTEROCOLITIS

Casos	0111-055	0111-026	055-026
Dispepsia	1	5	2
Toxicosis	5	1	1
Enterocolitis	3	1	1
TOTAL	9	2	4

CUADRO N° 4

FRECUENCIA DE AISLAMIENTO DE LA E. COLI PATOGENA DURANTE LA EVOLUCION DE ENFERMOS CON TOXICOSIS

Cepas	1ª M	2ª M	3ª M	Alta
0111	30	7	0	0
055	12	3	0	0
026	8	0	0	0
Más de una cepa	7	1	0	0
TOTALES	57	11	0	0

M = Muestra.

CUADRO N° 5

FRECUENCIA DEL AISLAMIENTO DE LA ESCHERICHIA COLI ENTEROPATOGENA DURANTE LA EVOLUCION INTRAHOSPITALARIA DE NIROS CON TOXICOSIS TRATADOS CON CLORAMFENICOL Y NEOMICINA

Cepas	Cloramfenicol			Alta	Neomicina			Alta
	1ª M	2ª M	3ª M		1ª M	2ª M	3ª M	
0111	17	4	—	—	13	3	—	—
055	6	3	—	—	6	—	—	—
026	5	—	—	—	3	—	—	—
Más de una cepa	5	1	—	—	2	—	—	—

M = Muestras.

y por día, durante una semana y a otro grupo que se le suministró Neomicina a dosis de 50 mg. por kilo de peso y por día, durante una semana*. El alto poder antibiótico demostrado por esta última droga en el intestino¹⁵ y su escasísima absorción, lo cual aleja el peligro de su acción tóxica, nos ha movido a ensayarla en la eliminación de estos gérmenes del intestino del niño.

No hemos podido demostrar efectos significativamente diferentes de la Neomicina o el Cloramfenicol, en los casos por nosotros estudiados, y ello probablemente porque ambas drogas logran una alta concentración en el tubo digestivo, lo cual redundaría en una alta acción antibiótica a ese nivel, pero sí, al igual que otros autores¹⁶, podemos concluir que la Neomicina también es efectiva en el control de esta infección y no provoca trastornos secundarios.

Por falta de homogeneidad en el tratamiento de los otros grupos que motivan esta publicación, no hemos podido presentar una relación semejante, pero sí podríamos decir que sólo excepcionalmente hemos observado casos en los que el germen ha persistido más allá de 48 horas en el tubo digestivo, una vez instalado el tratamiento.

Finalmente en el cuadro N° 6, resumimos el porcentaje global en el que aislamos ECE de los tipos serológicos estudiados, en cada uno de los grupos de enfermos y controles que forman parte de este trabajo.

Nuevamente es de hacer resaltar las diferencias altamente significativas entre los aislamientos en enfermos diarreicos y los controles, hecho que como ya ha sido

* La Neomicina usada en esta experiencia nos fué gentilmente suministrada por The Upjohn Co. Kalamazoo, Michigan, USA. y por los Laboratorios Petrizio de Santiago de Chile.

vastamente discutido, constituye un apoyo más, en favor de que estos tipos serológicos de Coli sean responsables de cuadros diarreicos en la infancia.

DISCUSIÓN

Nuestra experiencia en un total de 490 lactantes que totalizan un análisis bacteriológico de 1.696 muestras de deposición, confirman nuevamente las apreciaciones de europeos y norteamericanos en el sentido de que algunos tipos serológicos de la Escherichia coli determinan diarrea en los niños.

Dado que en un número apreciable de exámenes, recogidos en una experiencia de dos períodos de primavera y verano (1952-1953 y 1954-1955), siempre se nos ha presentado la ECE como único agente causal, salvo en los pocos casos en que la concomitancia no fué con bacterias patógenas sino con algunos parásitos, creemos que nuestros resultados dan una idea más clara aún de la relación de causa a efecto en el problema etiológico que discutimos.

De enorme importancia, desde un punto estrictamente bacteriológico y epidemiológico, ha sido el aislamiento de más de una cepa en un mismo enfermo. Este hallazgo, que no hemos visto descrito en otras publicaciones, tiene para nosotros el valor de un índice del alto grado de difu-

CUADRO N° 6

FRECUENCIA GLOBAL DE AISLAMIENTO DE LAS CEPAS 0111, 055 Y 026 DE LA E. COLI ENTEROPATOGENA EN LACTANTES CON ENTEROCOLITIS, DISPEPSIA, TOXICOSIS, ENFERMOS SIN DIARREA Y CONTROLES SANOS

Casos	Nº casos positivos	Porcentaje de positivos	Nº casos estudiados
Enterocolitis	36	66,6	54
Dispepsias	15	32,6	46
Toxicosis	57	26,1	215
Enfermos sin diarrea	2	2,3 *	87
Controles sanos	2	2,3 *	88
TOTAL	112	22,8	490

* Diferencias significativas con los enfermos con síndrome diarreico. P > 0.0001.

sión que este tipo de infecciones tiene en nuestro medio. Ya había sido planteado^{5,6} que las infecciones de ECE tenían un índice de difusión elevado en el medio donde se establecían. Nuestras cifras de aislamiento de las cepas estudiadas ya nos indican el crecido número de niños con diarrea en los que el agente etiológico es una ECE, pero el hecho de que un intestino sea colonizado por dos tipos serológicos diferentes nos indica que, en la cadena de la infección, un susceptible recibe dos o más tipos a través de un mismo vehículo, probablemente alimenticio, o bien los gérmenes logran infectar separadamente al susceptible, en un ambiente donde el número de portadores enfermos, por diferentes tipos, es muy alto.

Por otra parte, creemos que las condiciones higiénicas de nuestras poblaciones son especialmente aptas para este tipo de infecciones mixtas.

Es importante destacar, además, que la actividad de algunos antibióticos, tales como el Cloramfenicol y Neomicina, sobre estos gérmenes permite muchas veces el fácil control de la infección.

RESUMEN

Se relatan los resultados de la investigación de las cepas 0111, 055 y 026 en 54 Enterocolitis, 46 Dispepsias, 215 Toxicosis y en un grupo de 175 niños con control, sin diarrea.

La positividad global en cada uno de los grupos, para los tres tipos serológicos fué de 66,6% en la Enterocolitis; 32,6% en la Dispepsia; 26,1% en la Toxicosis y 2,3% en los controles sin diarrea.

Únicamente en la Toxicosis predominó el 0111 sobre los otros dos tipos serológicos de la ECE.

Se destaca la importancia del aislamiento simultáneo de más de un tipo serológico de ECE en un mismo enfermo.

Se relaciona el tratamiento del grupo de niños con Toxicosis mediante Cloramfenicol y Neomicina y la eliminación del agente causal de las deposiciones.

SUMMARY

STUDIES ON ESCHERICHIA COLI.

The results of an investigation about escherichia coli types 0111, 055 and 026, on

54 cases of enterocolitis, 46 cases of acute diarrhoea and 215 cases of acute dehydration, plus a control group of 175 infants without diarrhoea, are reported.

This escherichia coli serotypes were present in 66,6% of the enterocolitis group, 32,6% in the acute diarrhoea group, 26,1% in the acute dehydration group and 2,3% in the control group without diarrhoea.

Only in acute dehydration group, the serotype 0111 was more frequent.

Emphasis is given on the isolation of more than one type in the same patient.

A comparison of the treatment with Chloramphenicol and Neomycin in the acute dehydration group is done, in relation with the elimination of escherichia coli of the stools.

BIBLIOGRAFÍA

- 1.—BRAY, J. — "Isolation of antigenically homogenous strains of Bacterium Coli Neapolitanum from summer diarrhoea of infants". *J. Path. and Bact.* 57:239, 1945.
- 2.—SMITH, J.; GALLOWAY, W. H. y SPEIRS, A. L. — "Infantile gastro-enteritis with special reference to specific serologic type 055 B5 U6 (Beta type) of Bacterium Coli". *J. Hyg.* 48:472, 1950.
- 3.—TAYLOR, J. y CHARTER, R. E. — "The isolation of serological types of Bacterium Coli in two residential nurseries and their relation to infantile gastro-enteritis". *J. Path. and Bact.* 64:715, 1952.
- 4.—NETTER, E.; KÖRNS, R. F. y TRUSSELL, R. E. — "Association of Escherichia Coli serogroup 0111 with two Hospital outbreaks of epidemic diarrhoea of the newborn in New York State during 1951". *Pediatrics.* 12:377, 1953.
- 5.—ROGERS, K. B. — "Spread of infantile gastro-enteritis in cubicle ward". *J. Hyg.* 49:140, 1951.
- 6.—ROGERS, K. B. y KOEGLER, S. J. — "Interhospital cross-infection of epidemic infantile gastro-enteritis associated with type strains of Bacterium Coli". *J. Hyg.* 49:152, 1951.
- 7.—COOPER, M. L.; WALTERS, E. W. y KELLER, H. N. — "Detection of a new serotype of Escherichia Coli, E. Coli 0127 B8 associated with acute diarrhoea in Infants". *J. Bact.* 69:76, 1955.
- 8.—TAYLOR, J. y CHARTER, R. E. — "Escherichia Coli 0128 causing gastro-enteritis of infants". *J. Clin. Path.* 8:4, 1955.
- 9.—ORSKOV, F. — "Studies on a member of Escherichia Coli strain belonging to O group 86". *Acta Path. Microb. Scand.* 35:179, 1954.
- 10.—ORSKOV, F. — "A new Escherichia Coli type belonging to O group 111 (111 + : B4 11)". *Acta Path. Microb. Scand.* 35:72, 1954.
- 11.—AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. Committee on typing. Preliminary report, 1955.
- 12.—RODRIGUEZ, M.; MENEGHELLO, J. y ADASME, R. — "Estudios sobre la Escherichia Coli. I. Investigación de las cepas D433, Beta y 026 B6 en las diarreas agudas no específicas del lactante". *Rev. Chilena de Ped.* 25:6, 1954.
- 13.—RODRIGUEZ, M. — "Sobre un procedimiento para la obtención de sueros hiperinmunes para la tipificación de enterobacteriaceas". (En preparación).
- 14.—MENEGHELLO, J.; MONCKEBERG, F.; ROSSELOT, J. y CUETO, J. — "Influencia de algunas pautas terapéuticas en la evolución humoral de la toxicosis". *Arch. de Ped. del Uruguay.* 26:2, 1955.
- 15.—LOTH, E. J. — "Intestinal antisepsis in surgery". *J.A.M.A.* 153:1521, 1953.
- 16.—WHEELER, W. E. y WAINERMAN, B. — "The treatment and prevention of epidemic infantile diarrhoea due to E. Coli 0111 by the use of Chloramphenicol and Neomicina". *Pediatrics.* 14:4, 1954.