Etiología bacteriana de la diarrea aguda del lactante. Aportes de la inmunofluorescencia. Estudios de sensibilidad in vitro de los bacterios patógenos aislados

DRES. VALERIA PRADO J. *, IGOR MIMICA M. **, EDUARDO M. **.

INTRODUCCIÓN. La diarrea es uno de los más importantes problemas médicos en nuestro país. Durante 1970, fallecieron por esta causa 4.608 personas, de las cuales 3.818 (88%) fueron menores de un año.

Estamos conscientes que en su producción intervienen factores diversos y complejos: culturales, socioeconómico, higiénico sanitarios e infecciosos. Pretendemos llegar a establecer con la mayor exactitud el papel de los agentes patógenos bacterianos dentro de este contexto.

Es de todos conocido el hecho que el coprocultivo es de poca ayuda a la clínica en lo que respecta al diagnóstico etiológico de la diarrea, ya que por las características de la muestra (flora asociada normal del intestino) metódica difícil y tiempo de elaboración que requiere, tiene por una parte un rendimiento pobre y cuando permite aislar el agente patógeno, este informe sólo se obtiene a las 72 horas de sembrada la muestra, lo que retarda el tratamiento específico determinando agravamiento del cuadro clínico del enfermo en muchas ocasiones.

Esto motiva, además, que por falta de tratamiento etiológico oportuno en el paciente ambulatorio, el cuadro se haga más severo haciendo necesaria la hospitalización. Dentro del establecimiento hospitalario estos niños infectados al no ser detectado precozmente son punto de partida de casos secundarios intrahospitalarios prolongándose así su estadía con todos los inconvenientes que ello involucra y el riesgo para la vida del enfermo.

PROPÓSITOS. Por todos los antecedentes enumerados quisimos desarrollar una técnica que permitiera efectuar un diagnóstico precoz de la etiología de la diarrea con fines terapéuticos y epidemiológicos.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS. 1. Desarrollar la técnica de la inmunofluorescencia aplicada al diagnóstico de *Escherichia coli* enteropatógeno (ECEP).

2. A través de esta técnica complementada con el coprocultivo, estudiar etiología bacteriana de la diarrea aguda con deshidratación en niños durante el período de diarrea estival 1971-1972 en material del Hospital Calvo Mackenna.

3. Estudiar la sensibilidad in vitro de las cepas patógenas aisladas frente a diferentes agentes antimicrobianos.

MATERIAL Y MÉTODOS. Se prepararon 10 sueros anti ECEP, en conejos de los siguientes serotipos: 026 B6 - 055 B5 - 086 B7 - 0111 B4 - 01122 B11 - 0119 B14 - 0125 B15 - 0126 B16 - 0127 B8 - 0128 B12.

Se efectuó la conjugación de los antisueros con isotiocianato de fluoresceína siguiendo la técnica descrita por Riggs.

1. Búsqueda de ECEP: A cada muestra de deposición fresca se le efectuó un test de T. F. directa poniendo en contacto frotis de la deposición con 3 cócteles conteniendo los 10 conjugados de suero según técnica establecida, se consideró como positiva la muestra que dio una fluorescencia de 3 ó 4 cruces según nomenclatura internacional.

Nomenclatura según intensidad:

4 cruces: fluorescencia verde manzana brillante con formación de halo alrededor de los gérmenes.

3 cruces: verde manzana vivo.

2 cruces: verde manzana pálido.

1 cruz: verde apenas visible.

0: no se observa.

* Departamento de Medicina Experimental, Unidad de Microbiología, Área Oriente.

** Jefe del Laboratorio de Bacteriología, Hospital Calvo Mackenna.

- 4 cruces: más de 50 bacterios por campo o masas de bacterios.
 3 cruces: 10 a 50 bacterios por campo.
 2 cruces: 2 a 10 bacterios por campo.
 1 cruz: 1 a 2 bacterios por campo.
 0: no se observan.

Aquellas muestras consideradas positivas se sembraron en agar SS y Maconkey para aislar la cepa respectiva.

2. Pesquisa de Salmonella y Shigella: Coprocultivo corriente. Se sembró una emulsión de la muestra en superficie en agar SS y Maconkey repicándose posteriormente a medios diferenciales.

3. Sensibilidad in vitro: se empleó la técnica de la C. I. M. por dilución en placa. Se estudiaron 45 cepas de ECEP y 9 cepas de Shigella frente a los siguientes agentes antimicrobianos:

Gentamicina - Neomicina sulfato - Furazolidona - Colistin sulfato - Tetraciclina - Cloramfenicol - Ampicilina.

MATERIAL CLÍNICO. a) Se estudiaron 110 lactantes con diarrea aguda con deshidratación, escogidos al azar, que ingresaron al Hospital Calvo Mackenna, en el período de verano 71-72.

A cada enfermo se le tomó 3 muestras de deposiciones en días sucesivos.

b) Se estudió un grupo control de 18 lactantes que no habían presentado diarrea en un período de 2 semanas anteriores al estudio.

TABLA Nº 1

FRECUENCIA DE AISLAMIENTO DE BACTERIAS PATOGENAS EN 110 LACTANTES CON DIARREA AGUDA.

	Nº casos	%
Bacterias patógenas	67	60,9
Bacterias no patógenas	43	39,1
Total	110	100,0

La tabla Nº 1 se expone el porcentaje de casos en los que se aisló bacterios patógenos específicos enterales. En un 60,9%, el agente causal de la diarrea fue bacteriano.

TABLA Nº 2

DISTRIBUCION DE LAS BACTERIAS PATOGENAS AISLADAS EN 67 CASOS DE DIARREA AGUDA BACTERIANA *

Etiología	Nº	%	Nº	%
A) Etiología Monobacteriana	62	92,5		
Escherichia coli enteropatógeno (ECEP)			55	82,0
Shigella			6	8,9
Salmonella			1	1,4
B) Etiología Polibacteriana	5	7,5		
ECEP - Shigella			3	4,4
ECEP - Salmonella			2	3,3
	67	100,0	67	100,0

* La pesquisa de ECEP se efectuó por Inmunofluorescencia. La búsqueda de Salmonella y Shigella se hizo por Coprocultivo.

En la tabla Nº 2 se señala el Nº de enfermos con diarrea aguda de etiología, monobacteriana y polibacteriana.

TABLA Nº 3

TIPO Y FRECUENCIA DE LAS BACTERIAS PATOGENAS ENCONTRADAS EN 67 LACTANTES CON DIARREA AGUDA BACTERIANA.

Bacterio (cepa)	Nº	%
ECEP	60	84,5
Shigella	9	12,6
Salmonella	3	2,9
Total	71	100,0

En la tabla Nº 3 se analiza la frecuencia de los bacterios patógenos aislados en los 67 casos de diarrea de etiología bacteriana. Hay 71 cepas porque en 5 pacientes se aislaron 2 especies bacterianas al mismo tiempo.

TABLA Nº 4

DISTRIBUCION SEGUN SEROTIPO DE 53 CEPAS DE ECEP EN 60 ENFERMOS CON DIARREA AGUDA POR ESTE BACTERIO

Serotipo	Nº	%
0111	29	54,7
0125	13	24,5
0119	5	9,4
055	2	3,7
0127	2	3,7
0126	1	0,7
Total	53	100,0

En la tabla Nº 4 se destaca la frecuencia de identificación de los serotipos de ECEP. La tipificación de sueros mono específicos se efectuó en 53 de 60 muestras positivas. En 7 casos la identificación se hizo con sueros cócteles solamente.

TABLA Nº 5

DISTRIBUCION SEGUN SEROGRUPO EN 9 CASOS DE SHIGELLOSIS

Serogrupo	Nº
Shigella flexnerii	7
Shigella boydii	1
Shigella sonnei	1
Total	9

TABLA Nº 6

DISTRIBUCION SEGUN ESPECIE DE LA SALMONELLAS AISLADAS

Especie	Nº
Salmonella typhimurium	2
Salmonella bareilly	1
Total	3

TABLA Nº 9

RESULTADO DEL TEST DE INMUNOFLUORESCENCIA (IF) DIRECTA EFECTUADO EN UN GRUPO CONTROL DE 18 NIÑOS SIN DIARREA

IF Positiva				IF Negativa	Total
1 +	2 ++	3 +++	4 ++++		
0	0	0	0	18	18

La tabla Nº 9 muestra los resultados de la IF en el grupo control. Ninguno de los niños sin diarrea presentan una IF positiva.

En las tablas Nº 5 y 6 se señala la frecuencia con que fueron aisladas distintas especies de Salmonella y Shigella desde coprocultivos en 110 lactantes con diarrea aguda.

TABLA Nº 7

RELACION ENTRE POSITIVIDAD DEL TEST DE INMUNOFLUORESCENCIA Y EL Nº DE MUESTRAS ESTUDIADAS EN 60 ENFERMOS CON INFECCION ENTERAL POR ECEP.

	Nº positivas	%	% acumulado
1ª muestra	35	59,3	59,3
2ª muestra	19	30,5	89,8
3ª muestra	6	10,2	100,0
Total	60	100,0	

En la tabla Nº 7 se señala que 2 muestras por enfermo en días sucesivos dan un 89,8% de positividad.

TABLA Nº 8

PORCENTAJE DE AISLAMIENTO DE LAS CEPAS DE ECEP EN EL COPROCULTIVO, EN RELACION AL TEST DE INMUNOFLUORESCENCIA

Nº enfermos positivos	Nº cepas aisladas	%
60	45	75

La tabla Nº 8 destaca el hecho que en un 25% el coprocultivo no permitió el aislamiento por Inmunofluorescencia.

TABLA Nº 10

SENSIBILIDAD IN VITRO DE 45 CEPAS DE ESCHERICHIA COLI ENTEROPATOGENO A GENTAMICINA

Serotipo	Nº de cepas	CIM por dilución en placa en mcg/ml.										Nº y % de cepas con CIM de 25 mcg o más	
		0,20	0,39	0,78	1,56	3,12	6,25	12,5	25	50	100	Nº	%
0111	24	1	1	9	7	5	1	1				0	
0125	12			3	2	7						0	
0119	4			3			1					0	
0127	3			2	1							0	
055	1					1						0	
0126	1					1						0	
Total	45											0	0

TABLA Nº 11

SENSIBILIDAD IN VITRO DE 45 CEPAS DE ECEP A NEOMICINA

Serotipo	Nº de cepas	CIM por dilución en placa en mcg/ml.											Nº y % de cepas con CIM de 50 mcg o más	
		0,20	0,39	0,78	1,56	3,12	6,25	12,5	25	50	100	+100	Nº	%
0111	24		1	3	3	3	6	1		1		6	7	29
0125	12			1	5		2				2	2	4	33
0119	4			2	1							1	1	25
0127	3				1	2								
055	1											1	1	100
0126	1					1								0
Total	45												13	28,8

TABLA Nº 12

SENSIBILIDAD IN VITRO DE 45 CEPAS DE ECEP A FURAZOLIDONA

Serotipo	Nº de cepas	CIM por dilución en placa en mcg/ml.											Nº y % de cepas con CIM de 25 mcg o más.	
		0,20	0,39	0,78	1,56	3,12	6,25	12,5	25	50	100	+100	Nº	%
0111	24		1	3	1	1	3	9	5			1	6	25
0125	12		1	1	3	2	1	3	1				1	8,3
0119	4							1	1		2		3	75,0
0127	3						1	1	1				1	33,3
055	1						1							0
0126	1			1										0
Total	45												11	24,4

TABLA Nº 13

SENSIBILIDAD IN VITRO DE 45 CEPAS DE ECEP A CLORAMFENICOL

Serotipo	Nº de cepas	CIM por dilución en placa en mcg/ml.											Nº y % de cepas con CIM de 25 mcg o más.	
		0,20	0,39	0,78	1,56	3,12	6,25	12,5	25	50	100	+100	Nº	%
0111	24									1		15	16	66,6
0125	12					1						8	8	66,6
0119	4											2	2	50,0
0127	3						1					1	1	33,3
055	1											1	1	100,0
0126	1											1	1	100,0
	45												29	64,4

TABLA Nº 14

SENSIBILIDAD IN VITRO DE 45 CEPAS DE ECEP A TETRACICLINA

Serotipo	Nº de cepas	CIM por dilución en placa en mcg/ml.											Nº y % de cepas con CIM de 25 mcg o más.	
		0,20	0,39	0,78	1,56	3,12	6,25	12,5	25	50	100	+100	Nº	%
0111	24										1	23	24	100,0
0125	12					1					3	8	11	91,6
0119	4										1	3	4	100,0
0127	3						1				1	1	2	66,6
055	1											1	1	100,0
0126	1											1	1	100,0
Total	45												43	95,5

TABLA Nº 15

SENSIBILIDAD IN VITRO DE 45 CEPAS DE ECEP A COLISTIN SULFATO

Serotipo	Nº de cepas	CIM por dilución en placa en mcg/ml.											Nº y % de cepas con CIM de 25 mcg o más.	
		0,20	0,39	0,78	1,56	3,12	6,25	12,5	25	50	100	+100	Nº	%
0111	24						3	2	1	2	6	10	19	75,0
0125	12				1			2	1		2	6	9	75,0
0119	4								1			3	4	100,0
0127	3								1		1	1	3	100,0
055	1										1		1	100,0
0126	1							1					0	0,0
Total	45												36	80,0

TABLA Nº 16

SENSIBILIDAD IN VITRO DE 7 CEPAS DE SHIGELLA FLEXNERII FRENTE A 5 AGENTES QUIMIOTÉ-
RAPICOS

Antibiótico	CIM en mcg/ml.												Nº total de cepas y %
	0,18	0,18	0,39	0,78	1,56	3,12	6,25	12,5	25	50	100	100	
Ampicilina	—	—	—	4	1	—	—	—	—	—	—	2	7
				57,1	14,2	—	—	—	—	—	—	28,5	100,0
Furoxona	—	—	—	—	—	—	2	3	—	2	—	—	7
							28,5	42,8	—	28,5	—	—	100,0
Gentamicina	7	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	7
	100,0												100,0
Cloram- fenicol	1	—	—	1	—	1	—	2	—	—	—	2	7
	14,2			14,2		14,2		28,5				28,5	100,0
Colistin sulfato	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	6	—	7
										14,2	85,7	—	100,0

En esta tabla se detalla la sensibilidad de las cepas de *Shigella* aisladas frente a 5 antibióticos, expresados en base a CIM.

COMENTARIO. En este aspecto, básicamente destacamos la alta incidencia de bacterios patógenos específicos que demuestra nuestro estudio.

Hacemos presente que nuestro material, sin embargo, sólo consideró la población de lactantes hospitalizados por diarrea aguda con deshidratación, pero pensamos que estos casos reflejan lo que está sucediendo a nivel de la población general.

Con los resultados obtenidos a través de la inmunofluorescencia en 54% del total de lactantes estudiados encontramos ECEP. Esta cifra está muy por encima de lo publicado por autores extranjeros, especialmente norteamericanos, que emplean la misma técnica usada por nosotros. Esta diferencia puede explicarse al analizar las condiciones socioeconómicas de ambas poblaciones, ya que sabemos que las infecciones enterales están estrechamente ligadas a las condiciones higiénico-sanitarias. Pero también la frecuencia de ECEP en nuestro material es superior a la encontrada en trabajos anteriores efectuados en población de la misma área. En este caso en que las características del universo estudiado eran similares, la variante importante era la técnica empleada ya que los datos anteriores se obtuvieron a través de coprocultivo y vemos en el presente estudio que la técnica de la inmunofluorescencia aplicada al diagnóstico bacteriológico es más sensible ya que nos permite la visualización directa de los bacterios, haciendo posible incluso la pesquisa de bacterios no viables que no son susceptibles de cultivo.

La gran disparidad de hallazgo entre coli patógeno, *Salmonella* y *Shigella* puede explicarse en

parte porque no se empleó la misma técnica para la búsqueda de todos los bacterios patógenos.

La inmunofluorescencia se aplicó sólo al diagnóstico de ECEP en tanto que la pesquisa de *Salmonella* y *Shigella* se efectuó por el método clásico del coprocultivo, el cual por las limitaciones de la técnica tiene menos rendimientos.

Otra ventaja de la técnica de la inmunofluorescencia que pudimos apreciar a través de nuestro estudio fue la importancia clínica epidemiológica de contar con un procedimiento que permita hacer el diagnóstico etiológico precoz de la diarrea aguda.

Con la ayuda de la inmunofluorescencia dentro de las primeras 24 horas de ingreso se puede llegar a identificar los enfermos con infección enteral por ECEP lo que posibilita acelerar la instauración de un tratamiento adecuado. Además permite efectuar aislamiento de los enfermos.

A nuestro juicio, esta característica, junto con la de permitir un diagnóstico más certero son las ventajas más importantes sobre el coprocultivo, a través del cual sólo al tercer o cuarto día de tomada la muestra se logra llegar a la identificación del bacterio patógeno cuando esto es posible. Además la inmunofluorescencia de acuerdo a la experiencia en nuestro país y de autores extranjeros permite la identificación del ECEP en un número de casos que sobrepasa en dos veces el que permite el coprocultivo clásico.

La inmunofluorescencia resulta un método más práctico y de mayor rendimiento que el coprocultivo en lo que respecta a ECEP, este último a, nuestro juicio debe ser un complemento para los

estudios biológicos y de sensibilidad de este grupo microbiano. Nuestra experiencia respecto a la frecuencia de los distintos serotipos de ECEP encontrados coincide con los hallazgos anteriores en el país. También en publicaciones extranjeras el serotipo 0111 es el más frecuentemente detectado, que en nuestro material alcanzó un 54,7%.

El otro serotipo de ECEP aislado con frecuencia fue el 0125 que alcanzó un 24,5% en coincidencia con Smith, Newell y Sulianti que también encontraron predominio de estos dos serotipos en una determinada área de EE.UU.

Un 60% de las diarreas por ECEP se diagnostican con el estudio de una sola muestra de deposiciones. El porcentaje asciende a casi el 90% cuando se estudia dos muestras en días sucesivos, por lo que postulamos de acuerdo a nuestros resultados, que para tener un mayor éxito en la pesquisa de este bacterio debe estudiarse por lo menos dos muestras de deposición en días sucesivos aplicando el método de la inmunofluorescencia. Esto se debe a que probablemente la eliminación de este patógeno entérico no es regular.

La frecuencia de aislamiento de otros bacterios patógenos entéricos: *Salmonella* y *Shigella* fue ostensiblemente más bajo. Sin embargo queremos señalar que *Shigella* fue aislada en el 8,1% de los niños estudiados lo que constituye una frecuencia cuatro veces superior a lo referido en los últimos trabajos efectuados en el área.

Por otra parte en esta serie de niños la frecuencia de aislamiento de *salmonella* fue de un 2,7%, porcentaje que es algo más bajo que lo publicado en estudios anteriores en el área. Al respecto debemos destacar que la frecuencia relativa de aislamiento de estos bacterios es variable de un año a otro, incluso es posible observar diferencias estacionales dentro de un mismo año, lo cual reafirma nuestra creencia que los estudios en cuanto a etiología bacteriana de la diarrea deben ser repetidos en forma periódica.

En *Shigella*, el grupo más frecuentemente aislado fue el flexner como ha venido ocurriendo regularmente en nuestro país en los últimos años.

Respecto a las especies de *Salmonellas* aisladas queremos mencionar que las que con mayor frecuencia producen diarrea en el lactante en nuestro país desde hace algunos años, son aquellas que constituyen zoonosis, especialmente la *Salmonella typhimurium* lo cual se ha reafirmado en nuestro estudio.

En cuanto al estudio de sensibilidad in vitro frente a 6 agentes antimicrobianos: Gentamicina, Neomicina, Tetraciclina, Cloramfenicol, Furazolidona, Colistín sulfato.

De acuerdo a la información de nuestros resultados la Gentamicina resultó ser la droga más activa frente a ECEP in vitro, pues el 100% de las cepas tenían una CIM inferior a 25 mcg por ml.,

límite establecido por Nealon para considerar sensible un ECEP a esta droga.

La Furazolidona demostró también buena actividad frente a ECEP y siguiendo el mismo criterio anterior un 75,6% de las cepas resultaron sensibles.

La Neomicina también mostró buena actividad resultando un 71,2% de las cepas sensibles, con una CIM inferior a 50 mcg. por ml., límite de sensibilidad frente a esta droga.

El resto de las drogas analizadas demostró escasa actividad frente a este bacterio. En lo que se refiere a las cepas de *Shigella* estudiadas, aun cuando el número de cepas es reducido, podemos decir que la Gentamicina mostró in vitro mayor actividad ya que el 100% de las cepas tenía una CIM inferior a 0,18 mcg por ml., en circunstancias que los niveles sanguíneos que se alcanzan con este antibiótico oscilan entre 2 y 3 mcg por ml. Frente a Ampicilina el 71,3% de las cepas resultaron sensibles porque presentaron una CIM de 1,56 mcg por ml. y los niveles sanguíneos que alcanza esta droga son del orden de 25 mcg por ml.

El resto de los antibióticos estudiados: Furazolidona - Cloramfenicol y Colistín sulfato demostraron poca efectividad in vitro frente a *Shigella*.

CONCLUSIONES. Si se desea un control adecuado de la diarrea aguda del lactante es imprescindible conocer la real etiología de este cuadro.

El uso de una técnica de mayor sensibilidad que el coprocultivo corriente y a este respecto la inmunofluorescencia directa ha demostrado ventajas en la identificación del ECEP, nos permite conocer en forma más real la frecuencia de los bacterios patógenos entéricos, procedimiento que si es empleado a nivel de una comunidad puede permitir una terapéutica y un control precoz y adecuado de esta enfermedad.

En cuanto a recursos terapéuticos el estudio de sensibilidad in vitro mostró que Gentamicina-Furazolidona y Neomicina tienen buena actividad frente a coli patógeno. En los casos de *Shigellosis* las drogas que muestran mejor actividad in vitro frente a este bacterio son Gentamicina y Ampicilina.

RESUMEN

*Se realiza un estudio de la etiología bacteriana de la diarrea aguda en 110 lactantes tomados al azar, a los cuales se les efectuaron 3 coprocultivos y 3 test de Inmunofluorescencia (I. F.) directa para ECEP. En un 60,9% de los lactantes se aislaron bacterios patógenos específicos de las deposiciones. El agente patógeno aislado con mayor frecuencia fue el ECEP; 84,5%, *Shigellas* se aisló en un 12,6% y *Salmonella* 2,9%. Se demuestran ventajas de la técnica de I. F. directa*

en el diagnóstico bacteriano; mayor sensibilidad y rapidez son la garantía de completa especificidad.

El estudio de sensibilidad "in vitro" de las cepas aisladas mostró que las drogas más efectivas frente a ECEP son; Gentamicina y Neomicina. Frente a Shigella el antibiótico de elección resultó ser Gentamicina y en segundo lugar Ampicilina.

SUMMARY

110 infants with acute diarrhea with dehydration were selected at random. Three stool cultures and fluorescent antibody test for E. coli were performed in the first three days after their hospitalization.

Pathogenic organism were isolated from stool cultures in 60.9% of the patients, of these pathogenic strains 84,5% were serotypes of E. coli; 12,6% were Shigella and 2,9% were salmonella.

The advantages of the fluorescent antibody technique are discussed. The conclusion is that method is quicker, more sensitive and with the warranty of being specific.

In vitro sensitivity tests of isolated strains demonstrated that against E. coli the most effective antibiotics are Gentamicin and Neomycin for shigella these are Gentamicin and Ampicillin.

REFERENCIAS

- 1.—Howard J. E., Beca J. P. Clinical assesment of Hecacillin in acute diarrhea of malnourished infants. Annals of N. Y. Academy of Sciences 1967 vol. 145 art. 2. Pág. 436.
- 2.—Nelson J. D. Whitaker J. A. E. coli diarrhea and fluorescein labelled antibodies. Pediatrics, november 1960 vol. 57 number 5.
- 3.—Meléndez M. Grove E., Cussorla R. Lobos H. y Jacob C. Diagnóstico de Escherichia coli enteropatógeno en diarreas infantiles por el método de Inmunofluorescencia. Rev. Chil. Ped. Marzo 1971 Nº 3.
- 4.—Cherry W. B. Thomason B. M. Fluorescent antibody technique for Salmonellae and other enteric pathogens 1969 Oct Public Health reports vol. 84, Nº 10 p. 887-889.
- 5.—Smith-Newell and Sullianti. E. coli infection in non hospitalized children 1965. Antimicrobial agents and chemotherapy.
- 6.—South. Enteropathogenic E. coli. The Journal of Pediatrics July 1971 vol. 79 number 1.
- 7.—Nealon D. A. Mitchell I. A. Martin L. Antimicrobial suceptibility patherns of enteropathogenic Escherichia coli isolated in the New Orleans area. Antimicrobial agents and chemotherapy 1965. Pág. 289.
- 8.—Nelson J. D. Haltalin. In vitro suceptibility of E. coli, Shigellae and Salmonellas to Kanamycin and therapeutics implications. Annals of N. Y. Academy Of Sciences. June 1966 vol. 132. Pág. 1006-1014.