Análisis de Escherichia Coli Enteropatógeno Clásico (E.C.E.P.) como Causa Endémica de Diarrea Aguda en Niños Chilenos

Dra. Valeria Prado J.¹; Dra. Stephanie Braun J.¹; Dra. Pilar Bosch O.²;
Dra. Mariana Bercovich W.²; TM. Lucía Reyes M.¹; Srta. Midori Sawada T.³

Endemic Diarrhea Caused By Enteropathogenic Escherichia Coli in Chilean Children

Acute diarrhea (A.D.) is one the first causes of morbidity in infants and Enteropathogenic Escherichia Coli (E.C.E.P.) one of the most frequently isolated bacterial agent from those patients in developing countries. Bacterial cultures from stool or rectal-swab specimens, together with clinical and demographic antecedents, were obtained from 102 patients with A.D. in summer and 42 children with similar symptoms in winter. At the same time 45 and 22 healthy children were studied as control groups in summer and winter respectively. Both patients and controls were all under two years of age. E.C.E.P. was the most commonly isolated bacterial agent from patients with A.D. (38.3% of cases in summer and 19% in winter), the lower the age the higher the isolation rates. Most common serogroups were 0111, 0119 and 055, and they were found in higher rates in A.D. than in control patients. 0111 and 055 serogroups were more frequently isolated from hospitalized children. Both differences were significant ($p < 0.05$). No relationships were observed between breastfeeding and E.C.E.P. isolation rates both in A.D. patients and controls.

E. coli enteropatógeno (ECEP) clásico ha sido descrito como agente etiológico de diarrea aguda infantil desde 1945, en que Bray y Kauffman establecieron una relación entre grupos serológicos homogéneos de E. coli con episodios de diarrea aguda¹. Más tarde en 1950 se demostró que los serogrupos 055, 0111 y 02127 producían diarrea en voluntarios¹.

A través de los años, se ha podido definir la existencia de 15 serogrupos que se aíslan con frecuencia como causantes de brotes de enteritis nosocomial especialmente en recién nacidos. Aunque en Europa y EE.UU. ha ido disminuyendo su aislamiento en casos de diarrea aguda, llegando incluso a dudarse su rol patógeno por algunos investigadores²⁻³, en países en desarrollo, incluido el nuestro, persisten como los agentes recuperados con mayor frecuencia¹⁻⁴⁻⁵⁻⁶⁻⁷. Dentro de los distintos serogrupos hay algunos que destacan por su mayor incidencia como 0111, 0119 y 055⁴⁻⁷⁻⁸.

El término E.C.E.P. clásico comprende un grupo serológicamente definido de E. coli que se asocia a diarrea aguda, a los cuales no se les ha demostrado mecanismos de patogenicidad utilizando los modelos clásicos de estudio, como

detección de toxina ST, LT o ambos y prueba de Sereny para invasividad⁹. Pero experiencias en voluntarios¹⁰ y la aplicación de nuevos modelos de enteropatogenicidad y cultivos celulares, entre ellos adherencia a células Hep², enterocito aislado, cerdo recién nacido privado de calostro y cerdos gnotobióticos, ha puesto nuevamente en vigencia el papel de estas bacterias como patógenos intestinales restituyéndoles su importancia¹⁻¹¹⁻¹².

Los objetivos de este trabajo fueron, en primer lugar, determinar la importancia de ECEP clásico entre los agentes recuperados de pacientes con diarrea aguda a lo largo de 12 meses en lactantes de nivel socioeconómico bajo en el área Oriente de Santiago, respecto a un grupo control similar en condiciones socioeconómicas y edad. En segundo lugar analizar en los grupos de estudio si el factor aparentemente causal de enfermedad se relaciona con condiciones de huésped (edad, lactancia materna) o del agente (serogrupo).

PACIENTES Y METODOS

Se definió como diarrea aguda un trastorno de comienzo brusco caracterizado por evacuación de 3 o más deposiciones diarias de mayor contenido acuoso que lo normal, de consistencia líquida o semi líquida y de más de un día de evolución y síndrome disintérico la eliminación de heces de consistencia líquida con presencia de mucus, pus y/o sangre. La muestra está constituida por 144

¹ Unidad de Microbiología, Div. Cs. Méd. Oriente, Fac. Med. Universidad Chile.

² Servicio Pediatría, Hospital Luis Calvo Mackenna.

³ Ayudante alumna Unidad Microbiología, Div. Cs. Méd. Oriente.

pacientes menores de 2 años con diarrea aguda y 66 niños controles distribuidos de la siguiente manera:

En el período de verano se estudiaron 102 pacientes, de los cuales 58 estuvieron internados en el Hospital Luis Calvo Mackenna por diarrea aguda y 44 consultaron en el Consultorio La Faena por diarrea aguda entre los meses de Noviembre 1982 y Marzo 1983. Fueron comparados con 45 niños sanos del Consultorio La Faena durante la misma época.

En el invierno se investigaron 42 niños ingresados al mismo Hospital por diarrea aguda desde Mayo a Septiembre de 1983 y 22 controles que acudieron a examen de salud al Consultorio La Faena, o que ingresaron al Hospital por una patología diferente a la diarrea aguda en la misma época.

Los pacientes hospitalizados presentaban diarrea aguda con deshidratación moderada a grave (pérdida de peso igual o superior al 10%) y en los pacientes ambulatorios la diarrea se acompañaba de deshidratación leve (5% de pérdida de peso).

En todos los niños se tomó 1 ó 2 muestras de deposiciones recién emitidas o por hisopado rectal, mediante una tórula de algodón y madera, transportada en medio Cary Blair.

Las muestras fueron sembradas en plazos de 2 a 4 horas en agar Mac Conkey, agar SS y caldo selenito. Del caldo selenito se efectuó trasplaso a SS.

Se estudiaron 5 a 10 colonias de cada placa mediante pruebas bioquímicas. Una vez identificado el género *E. coli* se procedió a la tipificación de los serogrupos de *E. coli* clásicos mediante los siguientes antiseros: (primero polivalentes, luego monovalentes) 018 - 020 - 025 - 026 - 055 - 086 - 0111 - 0119 - 0125 - 0126 - 0127 - 0142. Se utilizaron antiseros comerciales BBL (R) y Bio Merieux (R).

La identificación de otras bacterias enteropatógenas como *Salmonella*, *Shigella*, *Campylobacter* se efectuó de acuerdo a técnicas estandarizadas¹³⁻¹⁴.

Los antecedentes clínicos y demográficos se registraron mediante encuesta directa.

RESULTADOS

En el período de verano se aislaron bacterias enteropatógenas en 54 de 102 pacientes con diarrea (52.9%) y en invierno en 14 de 42 (33.3%).

ECEP clásico fue aislado como el agente bacteriano más frecuente en el grupo de diarrea aguda tanto en verano (37.3%) como en invierno (19%), encontrándose diferencias significativas (p

< 0.05) entre aislamiento en el grupo diarrea y en controles (Tabla 1).

Tabla 1.
Bacterias Enteropatógenas aisladas
en Niños Menores de 2 años, con y sin diarrea aguda

BACTERIA	VERANO				INVIERNO			
	Diarrea n = 102		Control n = 45		Diarrea n = 42		Control n = 21	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
ECEP clásico*	38	37.3	10	22.2	8	19	2	9.5
ECEP invasor	2	1.9	0	0	1	2.4	0	0
Shigella	13	12.7	0	0	2	4.8	0	0
Salmonella	4	3.9	0	0	0	0	0	0
Campylobacter	8	7.8	1	2.2	4	9.5	0	0
TOTAL	65		11		15		2	

* $P_v = < 0.05$ S.

$p_i = N.S.$

La relación entre edad y recuperación de ECEP clásico se muestra en la Tabla 2. Se observó en los niños menores de 1 año una mayor recuperación de ECEP clásico en período de verano con significación estadística ($p < 0.01$).

Tabla 2.
Frecuencia de aislamiento de ECEP
clásico en diarrea aguda en diferentes
grupos etarios

EDAD	PACIENTES CON ECEP CLASICO					
	Verano n ECEP positivo			Invierno n ECEP positivo		
		Nº	%		Nº	%
I 0 - 5m	43	23	53.5	22	6	27.3
II 6 - 11m	30	11	36.6	14	1	7.1
III 12 - 17m	19	2	10.5	3	1	33.3
IV 18 - 24m	10	2	20.0	3	0	0.0
TOTAL	102	47		42	8	

$\chi^2_p = p < 0.01$ S.

$\chi^2_i = p > 0.9$ N.S.

Al analizar la influencia de la lactancia materna como determinante de infección o enfermedad por E.C.E.P. clásico no se estableció una relación ya que había un porcentaje similar de lactancia materna en los niños con diarrea aguda (39%) y en los controles (33.3%) en los cuales se aisló este microorganismo.

Los serogrupos asociados con diarrea o con infección asintomática se detallan en la Tabla 3. Se observó una frecuencia mayor y estadísticamente significativa de los serogrupos 055 - 0111 - y 0119 en los pacientes con diarrea.

Tabla 3.
Distribución de serogrupos de
ECEP clásicos en niños con y sin diarrea

Serogrupo	Diarrea Nº	Control Nº	P
020	0	1	
026	0	1	
055	10	2	*
086	5	1	
0111	15	3	*
0114	1	0	
0119	11	2	*
0125	2	0	
0126	3	0	
0127	0	2	
TOTAL	47	12	

* = $p < 0.05$ S.

En la Tabla 4 se analiza la frecuencia con que se aislaron los diferentes serogrupos de ECEP clásicos en niños con diarrea en el verano, compa-

rando los más graves (hospitalizados) con los de menor gravedad (ambulatorios). Los serogrupos 0111 y 055 se asocian a cuadros más graves con una diferencia altamente significativa.

Tabla 4.
Frecuencia de serogrupos de ECEP
clásicos aislados en niños hospitalizados
y ambulatorios con diarrea verano

Serogrupo	Hospitalizados Nº cepas	Ambulatorios Nº cepas
055*	7	1
086	3	1
0111*	10	1
0114	1	0
0119	5	5
0125	2	0
0126	1	2

* S = significativo
p 0111 = < 0.01
p 055 = < 0.05

Distribución estacional de E.C.E.P. en casos de diarrea aguda. Se observa aumento de incidencia en los meses calurosos.

Figura 1.
Distribución Estacional de E. Coli
Enteropatógeno Clásico en Diarrea Aguda.

COMENTARIOS

Los resultados mostraron que en nuestro ambiente, en los niños menores de 2 años de estrato socioeconómico bajo, ECEP de serogrupos clásicos continúan siendo los agentes bacterianos causales más frecuentes en Diarrea Aguda y esto es válido tanto para el período de verano como de invierno, aunque la recuperación es más elevada en los meses calurosos. Estas observaciones reafirman resultados anteriores obtenidos por nuestro grupo⁷ y concuerdan con la de otros investigadores latinoamericanos¹⁻⁴. (Fig. 1).

Los niños más afectados son los más pequeños y esta relación se observó mejor en verano, en que la recuperación de ECEP clásicos fue significativamente mayor en pacientes menores de 1 año y especialmente menores de 6 meses. Durante el invierno no había diferencias, pero puede deberse al tamaño reducido de la muestra. Esta infección precoz de los niños chilenos con ECEP explicaría la disminución en edades posteriores a través de la adquisición de inmunidad.

En relación a la influencia de la lactancia materna para determinar infección asintomática o enfermedad diarreica, nuestro análisis no aporta conclusiones definitivas ya que se trata de un corte horizontal de la población y en muchos casos los pacientes recibían alimentación mixta, leche de vaca y leche materna. Datos más confiables acerca del rol protector de la lactancia materna se obtendrían a través de un estudio prospectivo, longitudinal.

Interesante resultó el análisis de los serogrupos observándose que O111, O119 y O55 son los más frecuentemente aislados tanto en verano como invierno y que asimismo, 2 de ellos O111 y O55 se asocian con los cuadros más graves pues su incidencia es significativamente mayor en los pacientes que deben hospitalizarse a causa de la diarrea aguda.

Esto indicaría que estos serogrupos poseerían mayor virulencia y esto se refiere especialmente a O111 que se mantiene como serotipo predominante en pacientes diarreicos a través del tiempo en diferentes áreas geográficas⁴⁻⁵⁻⁶.

Por lo tanto, los resultados de nuestro estudio reafirman nuestras diferencias con países industrializados ya que en nuestro medio ECEP mantienen su plena vigencia como primera causa bacteriana de diarrea aguda y el problema parece circunscribirse a determinados serogrupos. Esto hace indispensable continuar efectuando la serotipificación adecuada, especialmente en pacientes que se hospitalizan por esta patología.

RESUMEN

La diarrea aguda es causa prioritaria de morbilidad en niños menores de 2 años en nuestro país. ECEP clásico corresponde a uno de los agentes bacterianos más frecuentemente aislado en países en desarrollo.

Se incluyeron en este estudio niños menores de 2 años en dos épocas: en período de verano 102 niños con diarrea aguda (58 hospitalizados y 44 ambulatorios) y 45 niños controles; en invierno 42 niños con diarrea aguda (hospitalizados) y 21 niños controles, investigando presencia de bacterias enteropatógenas. Se aisló ECEP clásico en el 38.3% de los pacientes con D.A. en verano y en el 19%, en período de invierno, ocupando el 1º lugar en frecuencia entre los agentes bacterianos.

Se analizaron posibles factores determinantes de la expresión clínica de la infección por ECEP, clásico como edad, lactancia y serogrupo. Se encontró que a menor edad hay mayor recuperación de ECEP clásico. Los serogrupos más frecuentes, fueron O111, O119 y O55, los cuales se encontraron en forma significativa en mayor proporción en diarrea aguda que en controles. Tanto O111 como O55 fueron aislados con mayor frecuencia en niños hospitalizados.

No se observó relación entre recuperación de ECEP clásico en diarrea aguda y presencia o ausencia de lactancia materna.

AGRADECIMIENTOS

Nuestros sinceros agradecimientos a los doctores Marcelo Ducheylard y Jacob Cohen por su colaboración y a la Dra. Inés Salas por su asesoría en el análisis estadístico de los datos.

NOTA: Este estudio se desarrolló gracias al apoyo financiero de la OMS/OPS Grant 107 CH12 y del Fondo Nacional de Desarrollo Científico y Tecnológico (proyecto 236/82).

REFERENCIAS

1. Edelman R., Levine M.M.: Summary of a workshop on enteropathogenic *Escherichia coli*, J. Infect. Dis. 147: 1108, 1983.
2. Gangarosa E.J., Merson M.H.: Epidemiologic assessment of the relevance of the so-called enteropathogenic serogroups of *Escherichia coli* in diarrhea. N. Engl. J. Med. 296: 1210, 1977.
3. Goldschmidt M.C., Dupont H.L.: Enteropathogenic *Escherichia coli*: lack of correlation of serotype with pathogenicity. J. Infect. Dis. 133: 153, 1976.
4. Toledo M.R., M. do Carmo A., Murahovski J., Ramos S., Trabulsi L.: Enteropathogenic *Escherichia coli* serotypes and endemic diarrhea in infants. Infect. Immun. 39: 586, 1983.

- ⁵ Lynch B., Prado V., Reyes H.: Etiología Microbiana de la diarrea aguda con deshidratación en lactantes chilenos. I parte. VII Congreso Latinoamericano de Microbiología, Buenos Aires, Argentina, 1977.
- ⁶ Prado V., Reyes H., Lynch B.: Etiología Microbiana de la diarrea aguda ismple en lactantes chilenos. II parte. VII Congreso Latinoamericano de Microbiología, Buenos Aires, Argentina, 1977.
- ⁷ Zacarías J., Spencer E., Prado V. et al.: Recuperación fecal de Rotavirus y otros enteropatógenos en lactantes menores de un año con diarrea aguda. Rev. Chile Ped. 53: 111, 1982.
- ⁸ Figueroa G.: Estudio de prevalencia de serotipos enteropatógenos de E. coli en deposiciones de niños que habitan una población suburbana de Santiago. Rev. Chile Ped. 51: 225, 1980.
- ⁹ Robins-Browne R.M., Levine M.M., Rowe B. and Gabriel E.M.: Failure to detect conventional enterotoxins in classical enteropathogenic (serotyped) Escherichia coli strains of proven pathogenicity. Infect. Immun. 38: 798, 1982.
- ¹⁰ Levine M.M., Nalin D.R., Kornick R.B., Bergquist E.J., Waterman D.H., Young C.R. and Sotman S.: Escherichia coli strains that cause diarrhea but do not produce heat-labile or heat-stable enterotoxins and are non invasive. Lancet 1: 1119, 1978.
- ¹¹ Cravioto A., Gross R.J., Scotland S.M., Rowe B.: An adhesive factor found in strains of Escherichia coli belonging to the traditional infantile Enteropathogenic serotypes. Cur Microbiol. 3: 95, 1979.
- ¹² Moon H.W., Whipp S.C., Argenzio A., Levine M.M. and Gianella R.A.: Attaching and Effacing Activities of Rabbit and Human Enteropathogenic Escherichia coli in Pig and Rabbit Intestines. Infect. Immun. 41: 1340, 1983.
- ¹³ Edwards P.R. and Ewing W.H.: Identification of Enterobacteriaceae. 3rd. ed. Burgess Publishing Co., Minneapolis, Minn. 1972.
- ¹⁴ García M.J., Maldonado A., Lagos R., Valenzuela M., Avendaño A. et al.: Primer aislamiento en Chile de Campylobacter fetus subespecie jejuni y Yersinia enterocolitica desde deposición de niños menores de dos años de edad con diarrea aguda. Boletín I.S.P. de Chile 22: 23, 1981.