

ESTUDIO SEROLOGICO DEL GRUPO COLIFORME
(TRIBU **ESCHERICHEAE** BERGEY, 1948)
SEGUN EL ESQUEMA DE KAUFFMANN-KNIPSCHILDT-VAHLNE*

Por GERARDO VARELA
y JORGE OLARTE,
del Instituto de Salubridad y
Enfermedades Tropicales

El Grupo Coliforme (**Eschericheae** Bergey, 1948) presenta gran interés tanto desde el punto de vista médico como del sanitario.

Es bien conocido el papel que los Colis desempeñan en los métodos oficiales usados en el control sanitario de leches y sus derivados, aguas, bebidas gaseosas, etc., e igualmente su patogenicidad en procesos infecciosos humanos como cistitis, pielitis, apendicitis, peritonitis, enteritis, y en diversos padecimientos de los animales.

La posición taxonómica de los microorganismos que lo constituyen, basada exclusivamente en reacciones bioquímicas, es inadecuada y deficiente por dos razones fundamentales: primera, por tratarse de organismos cuyas características bioquímicas no son constantes, y segunda, por no establecer una individualización entre tipos completamente diferentes por su origen y por sus propiedades patógenas y tóxicas.

Numerosos trabajos encaminados al conocimiento de la composición antigénica del Grupo Coli, llevaron a sus autores a la conclusión de que los métodos serológicos no eran aplicables al estudio y clasificación del mismo. La literatura respectiva ha sido revisada por Kauffmann (1946) y sus colaboradores.

Es de interés recordar los trabajos de Theobald Smith realizados en 1927, quien demostró la existencia de una sustancia capsular poco

* Este trabajo fué realizado con la ayuda económica de la Dirección de Cooperación Interamericana de Salubridad Pública.

antigénica, relacionada con el poder patógeno, presente en ciertas cepas de *Colis* aislados de terneros con diarrea. Los cultivos de Smith exhibieron algunos fenómenos inmunológicos que lo llevaron a conclusiones erróneas acerca de la serología de este grupo de bacterias, como lo ha demostrado Kauffmann recientemente.

CUADRO 1

Theobald Smith, 1927

AGLUTINACIONES

Suero	a	b
Anti-a	1 x 20	1 x 20.480
Anti-b	Negativa	1 x 20.480

PROTECCION

Anti-a	Positiva	Positiva
Anti-b	Negativa	Positiva

a: cepa madre (recientemente aislada).

b: cepa hija (obtenida después de varios subcultivos).

En una serie de investigaciones orientadas en forma completamente diferente, Kauffmann y Perch (1943), Kauffmann (1944, 1946), Knipschildt (1945), Vahlne (1945), Sjöstedt (1946), Ewersen (1946) y otros, lograron conocer las diversas características de los diferentes antígenos que forman la estructura serológica completa del Grupo Coli, e iniciaron el estudio de sus propiedades tóxicas, capacidad hemolítica y necrotizante, encontrando cierta relación entre determinados tipos serológicos y patogenicidad.

Los cultivos del Grupo Coli exhiben tres clases de antígenos; somáticos "O", de superficie "K", y flagelares "H".

Los antígenos K presentan diferencias físico-químicas, y se encuentran unos en la cápsula y otros en la superficie de la bacteria o en alguna estructura no capsular. Su presencia inhibe o impide la aglutinación "O". Esta propiedad, estudiada por Kauffmann (1944), es común a todos los antígenos "K", y fué la que impidió a los investigadores que lo procedieron conocer el verdadero comportamiento serológico de los Colis. Según su grado de resistencia al calentamiento, se distinguen tres categorías de antígenos "K", denominados L, A y B. Tomamos de Vahlne (1945) el siguiente:

CUADRO 2

DIFERENCIAS ANTIGENICAS DESPUES DEL CALENTAMIENTO
A 100°C. POR 1 HORA

Antígeno A	Antígeno B	Antígeno L
Antigénico	No antigénico	No antigénico
O inaglutinable	O aglutinable	O aglutinable
Absorbe	Absorbe	No absorbe

Estas tres categorías de antígenos K no se presentan simultáneamente en una misma bacteria, existiendo 3 clases diferentes de cultivos. Los antígenos L y B son termolábiles y se encuentran en la superficie del cuerpo bacteriano, comportándose en forma semejante al antígeno Vi de la Salmonelas. El antígeno A es termoestable, y pertenece a una estructura capsular.

Los antígenos somáticos u "O" son resistentes al tratamiento por el calor (1000°C. durante 2½ horas), al alcohol etílico al 50% y al ácido clorhídrico normal. Se comportan químicamente como glucolípidos, correspondiendo a los llamados antígenos de Boivin, altamente antigénicos. Muestran especificidad de grupo.

Los antígenos flagelares H, estudiados por Vahlne (1945), se encuentran en los flagelos y son fijados por el formol.

Combinando la especificidad de los tres antígenos O, K y H, encontrados en el Grupo Coli, Kauffmann, Knipschildt y Vahlne (Kauffmann, 1946) han establecido un esquema antigénico-diagnóstico, por medio del cual es posible clasificar estos organismos, en grupos por los antígenos O, y en especies o tipos por los K y H. En adelante llamaremos a este esquema KKV.

En el Centro de Salmonelas de México del Instituto de Salubridad y Enfermedades Tropicales, hemos iniciado una serie de trabajos, basados en los estudios mencionados de Kauffmann y sus colaboradores, encaminados a esclarecer el papel patógeno que el Grupo Coli presenta en el hombre y los animales, especialmente en aquellas enfermedades cuyo síntoma dominante es la diarrea o algún otro tipo de alteración del aparato digestivo.

MATERIALES Y METODOS

Estudiamos 429 cultivos del Grupo Coliforme (*Escherichiae* Bergey, 1948), de la siguiente procedencia: 46 de materias fecales de niños con enteritis, 23 del contenido intestinal de *Rattus norvegicus*

de la ciudad de México; 324 de materias fecales humanas, tomadas sin selección, y 36 cepas aisladas de mantequillas en el Laboratorio de Bacteriología de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, I.P.N.

La determinación de la actividad bioquímica y el estudio serológico somático se llevaron al cabo según técnicas usadas anteriormente (Varela y Olarte, 1949; Olarte y Varela, 1949).

Se practicaron las siguientes pruebas bioquímicas: glucosa, lactosa, sacarosa, indol, rojo de metilo, acetil-metil-carbinol, citrato, ácido sulfhídrico y gelatina.

Los cultivos estudiados fueron clasificados, bioquímicamente, según Bergey (1948), y serológicamente según el esquema antigénico-diagnóstico KKV (Kauffmann, 1946; Varela y Olarte, 1949).

Un segundo grupo de 135 cultivos de Coliformes tomado de la siembra en medio de Endo de los cuprocultivos que se hacen rutinariamente en nuestro Laboratorio, fue también estudiado serológica y bioquímicamente.

RESULTADOS

De 157 cultivos del género **Escherichia** aislados de la mantequilla, 152 y 34 respectivamente, o sea 97%, pudieron ser clasificados según el esquema KKV.

De 23 cultivos de **Escherichia** aislados del contenido intestinal de ratas, sólo 8 (34.8%) fueron aglutinados por los sueros de grupo del esquema KKV.

El 52% de los cultivos de **Aerobacter** y el 48.9% de **Klebsiella**, de origen fecal humano, mostraron antígenos somáticos del esquema KKV.

CUADRO 3

PORCENTAJE DE **ESCHERICHEAE** (BERGEY) AGLUTINADOS POR LOS SUEROS "O" DEL ESQUEMA KKV.

Origen	Género	Nº de cultivos estudiados (429)	Nº de cultivos aglutinados (302)	% de cultivos aglutinados
Humano	<i>Escherichia</i>	157	152	96.8
	<i>Aerobacter</i>	123	64	52.0
	<i>Klebsiella</i>	90	44	48.9
Mantequilla	<i>Escherichia</i>	36	34	97.0
Ratas	<i>Escherichia</i>	23	8	34.8

Los grupos serológicos de mayor incidencia, fueron los 3, 4, 8, 9, 18 y 23, independientemente del género u origen de los cultivos estudiados. Los grupos 9 y 8 fueron los más frecuentes.

Como puede verse en el Cuadro 4, no se encontró ninguna relación entre las propiedades bioquímicas y la estructura antigénica somática de 79 cultivos de coliformes de origen humano (OlarTE y Varela, 1949).

DISCUSION Y CONCLUSIONES

Kauffmann (1944) comprobó la existencia de 58 grupos "O" diferentes, habiendo incluido sólo 20 en su esquema original. Knipschildt (1945) demostró 52 grupos adicionales, de los cuales sólo 5 presentaron cierta frecuencia, por lo que el esquema serológico diagnóstico KKV ha sido integrado únicamente con los 25 grupos "O" que muestran mayor incidencia.

En el presente estudio hemos encontrado que el 97% de **Escherichia**, aislada del intestino del hombre y de la mantequilla, posee antígenos de grupo del esquema KKV.

En contraste con estos resultados, sólo unos cuantos organismos (34.8%) del género **Escherichia**, aislados del intestino de **Rattus norvegicus**, fueron aglutinados por los sueros "O" del esquema KKV, perteneciendo seguramente a otros grupos serológicos aún no estudiados. Esto nos hace pensar que por medio del método serológico será posible llegar a establecer una diferencia o individualización de los miembros del Grupo Coliforme, según la especie animal que parasiten o su "habitat", y probablemente podremos distinguir, también antigénicamente, las especies patógenas de las saprofitas, problema que la bacteriología médica no ha logrado resolver.

Las cepas de **Escherichia** cultivadas de la mantequilla, pudieron proceder de contaminación humana durante la elaboración y manejo de este producto, habiendo sido aglutinadas casi en su totalidad por los sueros de grupo del esquema KKV.

Los trabajos originales de Kauffmann (1944) y Knipschildt (1945) fueron realizados con organismos citrato-negativos del Grupo Coliforme. Vahlne (1945) reportó posteriormente que cultivos citrato-positivos del género **Aerobacter** poseen estructura antigénica completa, idéntica a la de algunos de aquellos coliformes citrato-negativos, lo que fué confirmado, en cuanto a la fracción somática, por Varela y Olarte (1949). De los cultivos de **Aerobacter** y **Klebsiella** de origen fe-

cal humano, estudiados por nosotros, alrededor del 50% fueron aglutinados a alto título por los sueros "O" del esquema KKV.

Los grupos serológicos 3, 4, 8, 9, 18 y 23 fueron lo más frecuentemente encontrados en los 3 géneros **Escherichia**, **Aerobacter** y **Klebsiella**, tanto de origen fecal humano como de las mantequillas. Los grupos 9 y 8 mostraron la mayor incidencia.

CUADRO 4

RELACION DE 302 CULTIVOS DE **ESCHERICHEAE** SEGUN EL GRUPO ANTIGENICO (KKV), GENERO (BERGEY) Y ORIGEN

Grupo antigénico KKV	Porcentaje	Escherichia			Aerobacter	Klebsiella
		Humanos (147)	Mantequillas (34)	Ratas (8)	Humanos (68)	Humanos (45)
1	3.6	8	0	0	2	1
2	3.0	8	0	0	1	0
3	5.6	10	5	0	1	1
4	7.0	17	1	0	2	1
5	3.6	7	1	0	1	2
6	1.0	2	0	0	1	0
7	4.3	5	1	2	4	1
8	13.2	14	3	1	14	8
9	19.9	16	11	0	22	11
10	1.3	1	1	0	2	0
11	3.0	0	6	0	1	2
12	3.3	5	0	2	1	2
13	5.6	8	1	0	4	4
14	1.0	0	0	1	1	1
15	2.3	3	1	2	0	1
16	0.7	2	0	0	0	0
17	0.7	2	0	0	0	0
18	7.6	11	1	0	6	5
19	2.6	3	2	0	1	2
20	1.3	3	0	0	0	1
21	2.0	6	0	0	0	0
22	1.0	2	0	0	1	0
23	4.0	10	0	0	1	1
24	0.3	0	0	0	1	0
25	2.0	4	0	0	1	1

No existe aparentemente ninguna relación entre las propiedades bioquímicas del Grupo Coliforme y su estructura antigénica. Siendo las primeras caracteres altamente variables de este Grupo, que ofrecen tan sólo una determinación imprecisa de tipos, en tanto que la estructura antigénica se ha mostrado constante y altamente específica, tanto de Grupo como de Tipo, es evidente que cualquier estudio que

pretenda aclarar los problemas relativos al Grupo Coliforme deberá someterse al criterio serológico, siguiendo los lineamientos trazados por Kauffmann, Knipschildt y Vahlne en el esquema antigénico que hemos mencionado.

BIBLIOGRAFIA

- Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, 6th. Ed., 1948. The Williams and Wilkins Company, Baltimore.
- EWERSTEN, H. W., 1946.—"Dyreexperimentelle Undersogelser over Colibacillernes Patogenitet af Effekten af Coliserum". Nyt. Nordisk Forlag, Arnold Busck, Copenhagen.
- KAUFFMANN, F. and B. PERCH, 1943.—"Ueber die Coliflora desgesunden Menschen". Acta Path. et Microb. Scand., 20:201-20.
- KAUFFMANN, F., 1944.—"Zur Serologie der Coli-Gruppe". Acta Path. et Microb. Scand., 21:20-45.
- KAUFFMANN, F., 1946.—"The Serology of the Coli-Gruppe". Review, Jour. Immunol., 57:71-100.
- KNIPSCHILDT, H. E., 1945.—"Undersogelse over Coligrupperes Serologimed særligt Henblik paa Kapselformerne". Nyt Nordisk Forlag, Arnold Busck, Copenhagen.
- OLARTE, J. y G. VARELA, 1949.—Estudio serológico del Grupo Coliforme (*Escherichiae*, Bergey 1948) según el esquema de Kauffman-Knipschildt-Vahlne. II. Determinación de Grupos "O" en 429 cultivos de origen fecal. Rev. Inst. Salub. Enfs. Trops., 10:141-145.
- SJOSTEDT, S., 1946.—"Pathogenicity of certain serological types of B. coli". Gleeurpska Univ. Bokhandeln, Lund.
- SMITH, TH., 1927.—Studies on pathogenic B. coli from bovine sources. J. Exper. Med., 46, 141-154.
- VAHLNE, G., 1945.—"Serological typing of the Colón Bacteria". Gleeurpska Univ. Bokhandeln, Lund.
- VARELA, G. y J. OLARTE, 1949.—Estudio serológico del Grupo Coliforme (*Escherichiae*, Bergey 1948) según el esquema de Kauffmann-Knipschildt-Vahlne. I. Clasificación de 79 cultivos de origen fecal. Rev. Inst. Salub. Enfs. Trops., 10:47-52.

Nota: Los autores expresan su agradecimiento al profesor Kauffmann, de Copenhagen, Dinamarca, quien suministró las técnicas y la colección tipo usadas en el presente trabajo. Igualmente a los señores Fidel Mata y Oscar Flores, Pasantes de Q.B.P., por su colaboración técnica.