

Bactérias enteropatogênicas em lactentes de um bairro de Manaus-Amazonas (*)

Loreny Gimenes Giugliano (**)
Rodolfo Giugliano (**)
M.^a de Fátima S. Pinheiro (**)

Resumo

Foram realizadas culturas de fezes de aproximadamente 10% dos lactentes de uma população urbana de Manaus-Amazonas. No momento da coleta 32,50% das crianças se encontravam com diarreia e 69,44% apresentavam história anterior da enfermidade. Das crianças diarreicas foram isolados uma cepa de *Shigella sonnei* e 5 diferentes sorogrupos de *Escherichia coli* enteropatogênica. Das crianças sem diarreia isolaram-se 3 amostras de *Salmonella* sp e 5 diferentes sorogrupos de *E. coli* enteropatogênica. As cepas de *Shigella sonnei* e *E. coli* enteropatogênicas apresentaram resistência múltipla quando submetidas ao teste de susceptibilidade à antimicrobianos.

INTRODUÇÃO

A doença diarreica é a causa mais importante de morbidade e mortalidade nos países em desenvolvimento, particularmente nos grupos de menor idade e nas comunidades de condições econômicas e sociais precárias (Estudios y estrategias necesarios para reducir la morbilidad y la mortalidad por infecciones entéricas, 1975).

As taxas de morbidade e mortalidade por diarreias são altas no primeiro ano de vida e quando acompanhadas de desnutrição (Puffer & Serrano, 1974).

As enfermidades infecciosas e parasitárias constituem em conjunto uma pesada carga social e econômica que resulta em vidas humanas truncadas e em gastos consideráveis de assistência médica e hospitalar.

Parte da inabilidade para lutar contra este problema é em geral a falta de conhecimento do agente etiológico da doença diarreica. Até

o momento não existem meios específicos de prevenir esta enfermidade a não ser aqueles a longo prazo de saneamento ambiental. Segundo DuPont (1975) para se reduzir ao mínimo a mortalidade e a morbidade por infecções entéricas urge obter-se informações sobre 3 pontos principais: a etiologia da diarreia aguda, os aspectos nutricionais das infecções entéricas e as incógnitas sobre os problemas e recursos de cada região.

O objetivo principal do trabalho foi a determinação dos agentes etiológicos das diarreias agudas e sua frequência em lactentes de uma população urbana da Amazônia.

MATERIAL E MÉTODOS

Foi escolhido para estudo o bairro Coaroado (Manaus) com uma população de aproximadamente 15.000 habitantes (1) de baixo nível sócio-econômico e que não dispunha de água encanada, luz ou esgoto. De maio a junho de 1976 foram estudadas 77 crianças, de 0 a 1 ano de idade, o que corresponde a aproximadamente 10% da população nessa faixa etária, segundo a estrutura populacional brasileira. Através de um mapa, foram sorteadas quadras a serem visitadas onde as amostras de fezes dos lactentes foram coletadas. As mães ou acompanhantes foram inqueridas sobre o comportamento intestinal das crianças e a administração de antibióticos.

COLETA DE AMOSTRAS — Todas as crianças receberam tubos de ensaio contendo solução conservadora de fezes (Clurman), espátulas estéreis de madeira e um frasco plásti-

(*) — Este trabalho foi realizado com apoio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq.), Projeto nº 2017/201 do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA).

(**) — Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus.

(***) — Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia e Hospital de Moléstias Tropicais, Manaus.

(1) — Baseados em dados fornecidos pela Superintendência de Campanha de Saúde Pública (SUCAM).

co de boca larga para a colheita das fezes. As mães foram instruídas sobre como efetuar a colheita das fezes e no dia imediatamente posterior, as amostras eram recolhidas e conduzidas ao laboratório.

EXAME BACTERIOLÓGICO DAS FEZES — Após a chegada ao laboratório as fezes eram homogenizadas e semeadas em MacConkey Agar, Salmonella-Shigella Agar (SS Agar), Hektoen Enteric Agar e Tetrathionate Broth. Os métodos de identificação bioquímica e sorológica, dos germes isolados foram os recomendados por Edwards & Ewing (1972).

EXAME PARASITOLÓGICO DAS FEZES — As amostras de fezes colhidas em frascos plásticos foram submetidas ao exame parasitológico pelo método da flutuação em sulfato de zinco segundo Faust et al. (1939).

TESTE DE SUSCEPTIBILIDADE A DROGAS — As bactérias enteropatogênicas isoladas foram submetidas ao teste de susceptibilidade a drogas pelo método do disco descrito por Bauer et al. (1966). As seguintes drogas da Difco Laboratories (Detroit Michigan USA) foram utilizadas: Ampicilina (10 mcg), Cefaloridina (30 mcg), Cloranfenicol (30 mcg), Colimicina (10 mcg), Carbenicilina (50 mcg), Estreptomina (10 mcg), Gentamicina (10 mcg), Kanamicina (30 mcg), Novobiocina (30 mcg), Neo-

micina (30 mcg), Nitrofurantoina (300 mcg), Ác. Nalidíxico (30 mcg), Polimixina (300 u), Sulfadiazina (300 mcg) e Tetraciclina (30 mcg).

RESULTADOS

Das 77 crianças examinadas 25 (32,50%) se encontravam com diarreia no momento da coleta das fezes, sendo que 2 (8,0%) estavam recebendo antibiótico (cloranfenicol).

A tabela I mostra a distribuição das crianças por faixa etária e sintomatologia gastrointestinal. Consideramos crianças normais aquelas que não apresentavam episódio diarreico no momento da colheita das fezes.

BACTERIOLÓGICO — A tabela II mostra os números e respectivas porcentagens de germes enteropatogênicos isolados nas 77 culturas de fezes realizadas. Nas culturas de fezes de crianças diarreicas foram isoladas 7 (28%) amostras de *Escherichia coli* enteropatogênica e 1 (4%) amostra de *Shigella sonnei*. Das crianças que se encontravam sem sintomatologia gastrointestinal 3 (5,76%) portavam *Salmonella sp* e 6 (11,53%) *E. coli* enteropatogênica.

PARASITOLÓGICO — Foram realizados 72 exames parasitológicos das crianças em estudo, sendo que 23 (31,94%) se encontravam com diarreia e as demais 49 (68,05%) se apresentavam normais, ou seja sem sintomatologia gastrointestinal. Na tabela III estão colocados os resultados obtidos.

TABELA I

Números e porcentagens de crianças em 3 diferentes faixas etárias distribuídas segundo sintomatologia gastrointestinal.

Sintomatologia Gastrintestinal	0-2 meses		3-6 meses		7-11 meses		Total	
	N.º	%	N.º	%	N.º	%	N.º	%
Normais	22	28,50	14	18,20	16	20,80	52	67,50
Diarréicas	7	9,10	8	10,40	10	13,00	25	32,50
Total	29	37,60	22	28,60	26	33,80	77	100,00

TABELA II

Enteropatógenos isolados em 25 casos de crianças diarréicas e 52 casos de crianças normais.

Bactérias enteropatógenicas isoladas	Crianças diarréicas		Crianças normais	
	N.º	%	N.º	%
<i>Shigella sonnei</i>	1	4,00
<i>Salmonella sp</i>	3	5,76
<i>E. coli</i> 026:B6	1	4,00
<i>E. coli</i> 086:B7	1	4,00	2	3,84
<i>E. coli</i> 0111:B4	1	4,00	1	1,92
<i>E. coli</i> 0119:B14	1	4,00
<i>E. coli</i> 0126:B16	3	12,00	1	1,92
<i>E. coli</i> 0127:B8	1	1,92
<i>E. coli</i> 0128:B12	1	1,92
Total	8	32,00	9	17,28

TABELA III

Parasitas intestinais encontradas em 23 casos de crianças diarréicas e 49 casos de crianças normais.

Parasitas Intestinais	Crianças diarréicas		Crianças normais	
	N.º	%	N.º	%
<i>Giardia lamblia</i>	2	8,70	5	10,20
<i>Ascaris lumbricoides</i>	1	4,30	1	2,00
<i>Ancilostoma sp</i>	1	2,00
Total	3	13,00	7	14,20

DETERMINAÇÃO DO COMPORTAMENTO DAS BACTÉRIAS ENTEROPATOGÊNICAS FRENTE A DROGAS ANTIMICROBIANAS — A cepa de *Shigella sonnei* isolada de crianças diarréicas se apresentou resistente aos seguintes antimicrobianos: ampicilina, cefaloridina, cloranfenicol, te-

traciclina, sulfadiazina, novobiocina e estreptomina. As 3 cepas de *Salmonella sp* isoladas de crianças normais se mostraram resistentes à novobiocina e uma também apresentou resistência à cefaloridina e sulfadiazina.

Das 13 cepas de *E. coli*, 6 foram isoladas de crianças normais e 7 de crianças diarréicas, sendo que todas apresentaram resistência múltipla como mostra a tabela IV. Duas *E. coli* isoladas de crianças diarréicas e 3 isoladas de crianças normais foram resistentes a 10 antimicrobianos concomitantemente.

DISCUSSÃO

A doença diarréica em Manaus, assim como em outras cidades de países em desenvolvimento, é a maior causa de morbidade e mortalidade em crianças de pouca idade.

Em nosso estudo em crianças de 0 a 1 ano de idade, escolhidas ao acaso, em um bairro de Manaus, verificou-se que 32,50% se encontravam com diarréia no momento da coleta e 69,44% apresentavam história anterior da enfermidade, o que evidencia a alta incidência de enterites na população. Estudos realizados em lactentes de São Paulo e Recife mostram a incidência de diarréia variando entre 11,6% a 60,8% de acordo com a idade e atendimento neonatal (Puffer & Serrano, 1974).

A incidência de episódios diarréicos entre 0 a 3 meses de idade foi elevada, o que talvez seja devido ao fato de que 6,9% das mães somente amamentavam seus filhos nessa fase da vida (Shirmpson & Giugliano, 1976). O fato do aleitamento natural proteger os lactentes das infecções entéricas já é bem conhecido (Béhar, 1976; Mata & Wyatt, 1971; Mellander *et al.*, 1959).

Nas culturas de fezes das crianças diarréicas apenas 32% dos prováveis agentes etiológicos foram determinados. Este era um resultado esperado, uma vez que somente por estudos bacteriológicos a porcentagem de determinação dos prováveis agentes etiológicos varia de 20 a 40% (Sack, 1975).

A etiologia da diarréia pode ser esclarecida em maior número de casos quando se leva a efeito estudos sobre a produção de enterotoxinas e propriedade invasiva da *E. coli*. (Guerrant *et al.*, 1975).

TABELA IV

Números e respectivas porcentagens das cepas de *E. coli* enteropatogênicas resistentes a diferentes antimicrobianos.

Antimicrobianos	Crianças Normais		Crianças Diarréicas		Total	
	N.º	%	N.º	%	N.º	%
Ampicilina	4	57,14	4	66,66	8	61,53
Ác. Nalidíxico
Cefaloridina	4	57,14	6	100,00	10	76,92
Cloranfenicol	6	85,71	5	83,33	11	84,61
Colimicina
Carbenicilina	3	42,85	3	50,00	6	46,15
Estreptomicina	6	85,71	5	83,33	11	84,61
Gentamicina
Kanamicina	4	57,14	3	50,00	7	53,84
Novobiocina	7	100,00	6	100,00	13	100,00
Nitrofurantoina
Neomicina	4	57,14	3	50,00	7	53,84
Polimixina
Sulfametoxazol +						
Trimetoprim
Sulfadiazina	5	71,42	6	83,33	10	76,92
Tetraciclina	6	85,71	5	83,33	11	84,61

Das amostras de fezes das crianças diarréicas foram isolados uma cepa de *S. sonnei* e 5 diferentes sorogrupos de *E. coli* enteropatogênica, que foram os germes mais freqüentemente isolados, concordando com os achados em San Salvador, El Salvador (Bloch, 1975); Jamaica (Back & Brooks, 1962); Cali, Colombia (Newell *et al.*, 1976).

Não houve nítida prevalência entre os sorogrupos de *E. coli* enteropatogênica encontrados, ao contrário do que se observa nos estudos de Newell *et al.* (1976) e Nadkarni & Lawande (1974) onde os grupos sorológicos mais freqüentes foram respectivamente o 026:B6 e 0128. Nos estudos realizados em Be-

lém (Brasil) os sorogrupos mais encontrados foram 0119:B14 em 1971 e 1972, 0111:B4 em 1973 (Lins, 1976). Nenhum caso de salmonelose ou infecção mista foi encontrado entre as crianças diarréicas.

Nas culturas de fezes dos lactentes sem sintomatologia clínica intestinal, encontramos 3 (5,76%) casos de *Salmonella* sp e 6 (11,53%) casos de *E. coli* enteropatogênica de 5 sorogrupos diferentes. A porcentagem de portadores foi muito elevada quando comparada com resultados obtidos em outras áreas. No Ceilão e na Inglaterra foram encontradas respectivamente 4% e 0,25% de crianças portadoras de *Salmonella* sp. *E. coli* enteropatogê-

nica foi isolada das fezes de 2,42% de um grupo de crianças clinicamente normais, abaixo de 5 anos de idade, na Inglaterra. (Citado por Cooper & Johnson, 1973).

A múltipla resistência encontrada nas cepas de *E. coli* e *Shigella sonnei* indica o uso indiscriminado de drogas. Como as *E. coli* enteropatogênicas para lactentes pertencem a flora normal do adulto, o uso abusivo de antibióticos pela população pode levar à seleção de cepas resistentes a diversos antibióticos. Isto pode causar grandes problemas, uma vez que as *E. coli* não só são capazes de causar doenças diarréicas, mas também outras enfermidades assim com infecções urinárias, septicemias, etc.

Não houve diferença significativa entre o espectro de resistência das cepas isoladas de crianças normais e diarréicas.

Entre as crianças diarréicas 8,70% e 4,30% se encontravam infectadas, respectivamente, por *Giardia lamblia* e *Ascaris lumbricoides*, contudo os parasitas parecem não ter grande importância como causa de diarreia em crianças (John *et al.*, 1971). Entre as crianças sem sintomatologia gastrointestinal, 10,2% estavam infectadas por *Giardia lamblia* e 2,00% por *Ascaris lumbricoides* e *Ancilostoma sp.*

O fato das crianças entre 0 e 1 ano de idade se apresentarem infectadas por estes parasitas evidencia o alto grau de contaminação do ambiente, uma vez que é sobre esta faixa etária que recaem em geral os maiores cuidados da família. Esta observação concorda com os achados de Pinheiro *et al.* (1976), obtidos no mesmo bairro, onde 85,1% da população se encontravam parasitados por Helminthos e Protozoários.

CONCLUSÃO

Foi encontrada alta incidência de diarreia no primeiro ano de vida numa população urbana de Manaus. Os agentes etiológicos mais freqüentes foram as *E. coli* enteropatogênicas, não havendo nítida prevalência entre os sorogrupos encontrados.

Somente 32% dos prováveis agentes etiológicos foram determinados pelas coproculturas, o que indica a necessidade premente de estudar a incidência de bactérias enteropatogênicas e invasivas, parasitas intestinais causadores de diarreia e principalmente os reovirus-like que tem sido recentemente apontados como causadores de gastroenterites infantis (Medina *et al.*, 1976).

As bactérias enteropatogênicas se apresentaram com múltipla resistência aos antimicrobianos, indicando o uso abusivo de drogas, provavelmente pela auto-medicação, o que é uma conduta extremamente perigosa.

SUMMARY

Bacteriological studies were carried out on approximately 10% of the infants of a poor urban population in Manaus - Amazonas. One third of the infants had diarrhoea at the time of faeces collection. One strain of *Shigella sonnei* and five different serogroups of enteropathogenic *E. coli* were isolated from the faeces of the infants with diarrhoea. Three strains of *Salmonella sp.* and five different serogroups of pathogenic *E. coli* were isolated in the faeces of infants without diarrhoea. The strains of *Shigella sonnei* and pathogenic *E. coli* showed multiple resistance to antimicrobial drugs.

BIBLIOGRAFIA CITADA

- BACK, E.H. & BROOKS, S.E.H.
1962 — The pattern of infantile gastro-enteritis in Jamaica, *W. Indian Med. J.*, 11: 179-187.
- BAUER, A.W.; KIRBY, W.M.M.; SHERRIS, J.C. & TURCK, M.
1966 — Antibiotic susceptibility testing by standardized single disk method, *Am. J. Clin. Path.*, 45(4):493-496.
- BÉHAR, M.
1976 — Importância da alimentação e da nutrição na patogenia e prevenção dos processos diarréicos, In: *Bolm. Epid. SESP*, 8(5):41-51.
- BLOCH, M.
1975 — Infecciones por bacilos gram negativos: importancia de su estudio, *Rev. Inst. Invest. Med.*, 4(2):149-214.
- COOPER, A.C.D. & JOHNSON, R.H.
1973 — The bacteria and parasites found in Batswana children with acute gastro-enteritis, *S. Afr. Med. J.*, 47:1705-1707.

- DUPONT, H.L.
 1975 — Estudios necesarios para enriquecer el conocimiento de las infecciones entericas y reducir sus consecuencias en terminos de morbilidad y mortalidad, **Boln. Of. Sanit. Pan-Am.**, 78(4):346-349.
- EDWARDS, P.R. & EWING, W.H.
 1972 — Identification of Enterobacteriaceas 3 rd ed Minneapolis Minnesota, USA, 362 p.
- ESTUDIOS y estrategias necesarios para reducir la morbilidad y la mortalidade por infecções entéricas.
 1975 — Apud — In: **Boln. Of. Sanit. Pan-Am.**, 78(4):281-291.
- FAUST, E.C.; SAWITZ, W.; TOBIE, J.; ADON, V.; PERES, C.F. & LINCICOME, D.R.
 1939 — Comparative efficiency of various technics for the diagnosis of protozoa and helminths in fezes, **J. Parasit.**, 25: 241-262.
- GUERRANT, R.L.; MOORE, R.A.; KIRSCHENFELD, P.M. & SANDE, M.A.
 1975 — Role of toxigenic and invasive bacteria in acute diarrhea of childhood, **New Engl. J. Med.**, 293(12):567-573.
- JOHN, T.J.; MONTGOMERY, E. & JAYABAL, P.
 1971 — The prevalence of intestinal parasitism and its relation to diarrhoea in children, **Indian Pediat.**, 8:137.
- LINS, Z.C.
 1976 — Patologia Tropical na Amazônia: recentes aquisições In: Doenças Infecciosas e Parasitárias 6.^a ed., Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, p. 1053-1070.
- MATA, L.J. & WYATT, R.G.
 1971 — Host resistance to infection. In: Symposium, the uniqueness of human milk, **Am. J. Clin. Nutr.**, 24, 976-986.
- MEDINA, A.T.; WYATT, R.G.; MEBUS, C.A.; UNDERDAHL, N.R. & KAPIKIAN, A.Z.
 1976 — Diarrhea caused in gnotobiotic piglets by the reovirus-like agent of human infantile gastroenteritis, **J. Infect. Dis.**, 133(1):22-27.
- MELLANDER, C.; VAHLQUIST, B. & MELLBIN, T.
 1959 — Breast feeding and artificial feeding clinical, serological and biochemical study in 402 infants with a survey of the literature; the Norrbotten study, **Acta Paediat.**, 48 SS 116, 1-108.
- NADKARNI, M.S. & LAWANDE, R.V.
 1974 — Enteropathogenic *Escherichia coli* and neonatal diarrhoea, **Indian J. Med. Sci.**, 28(10):431-436.
- NEWELL, K.W.; DOVER, A.S.; CLEMMER, D.I.; D'ALESSANDRO, A.; DUEÑAS, A.; GRACIÁN, M. & LEBLANC, D.R.
 1976 — Las enfermedades diarreicas de la infancia en Cali, Colombia, Diseño e informe resumido de um estudio sobre los agentes patogenos aislados, **Boln. Of. Sanit. Pan-Am.**, 81(1):28-43.
- PINHEIRO, M.F.S.; VASCONCELOS, J.C. & WENDELL, D.E.
 1976 — Contribuição ao estudo de parasitas intestinais em dois bairros de Manaus-Amazonas, **Acta Amazonica**, 6(1):67-73.
- PUFFER, R.R. & SERRANO, C.V.
 1974 — Interrelacion de varios factores que intervienen en la mortalidad infantil, **Boln. Of. Sanit. Pan-Am.**, 67(6):509-533.
- SACK, R.B.
 1975 — Human diarrheal disease caused by enterotoxigenic *Escherichia coli*, **A. Rev. Microbiol.**, 29:333-353.
- SHRIMPTON, R. & GIUGLIANO, R.
 1977 — Nutrição em lactentes de um bairro de Manaus - Amazonas. **Acta Amazonica** 7(2) : 247-253.