

## A PROPOSITO DE TRES BROTES EPIDEMICOS PRODUCIDOS POR KLEBSIELLA OXYTOCA \*

Dr. M.<sup>a</sup> TERESA JIMENEZ DE ANTA Y LOSADA  
(Barcelona)

### INTRODUCCION

#### I) GENERO KLEBSIELLA

Las primeras investigaciones sobre este género se remontan a 1880, año en que KLEBS dio una descripción aproximada de estos bacilos del «grupo mucoso», de donde el nombre genérico *Klebsiella*.

Sin embargo, las primeras descripciones precisas se deben a FRIEDLÄNDER, quien en 1882 aisló un bacilo capsulado —conocido como bacilo de Friedländer— de las vías respiratorias de pacientes con neumonía. En el mismo año, un germen de características similares fue aislado por VON FRISCH y más tarde por PUCCINI, el bacilo del rinoscleroma.

Las investigaciones de TALAMON y de FRAENKEL (1883-1886) sobre el Neumococo, permitieron diferenciar a éste del bacilo de Friedländer, germen con el que en parte había sido confundido.

En 1896, Abel describe otro germen

de características similares al bacilo del rinoscleroma y al de Friedländer, el bacilo del ozena, aunque la similitud existente entre estos tres gérmenes ya había sido demostrada por PALTAUF y EISELBERG en 1886.

El bacilo de Friedländer está íntimamente relacionado con la variedad *aerógenes* de *Enterobacter*, siendo ambos identificados como el mismo germen durante mucho tiempo. En 1885, ESCHERICH describió el *Bacterium lactis aerogenes* como no móvil, germen que posteriormente se denominó *Bact. aerogenes* y que en 1900 fue incluido en el género *Aerobacter* por BEIJERINCK. Los términos *Bacterium*, *Aerobacter* y *Klebsiella aerogenes* fueron aplicados en las sucesivas generaciones a los bacilos coliformes con reacción de Voges-Proskauer positiva, fuesen móviles o no. Más tarde, algunos bacteriólogos definieron a *Aerobacter aerogenes* como un microorganismo móvil, lo que contribuye a añadir más confusión a la ya existente. Finalmente, HORMAECHE y EDWARDS

\* Premio de "Epidemias y Epizootias" (en honor del Académico Dr. F. Salvá Campillo) de la convocatoria anual 1977. Lema: WYSSOKOWITSCH.

contribuyeron a disipar el confusionismo existente al incluir en el género *Enterobacter* a las formas móviles de la variedad *aerogenes*, quedando pues pertenecientes al género *Klebsiella* únicamente las formas inmóviles.

#### A) Hábitat y acción patógena

Los gérmenes de este grupo están muy extendidos en la naturaleza. Se les ha aislado del suelo (JAKOWSKY), aire, polvo y agua (GORY). Según DUMAS son relativamente frecuentes en la leche y derivados.

Esta amplia distribución en el medio exterior explica el que sean huéspedes habituales, comensales, del hombre y de los animales, siendo particularmente frecuentes en el tracto digestivo y vías aéreas superiores.

En 1892, NETTER mostró su importancia como agente patógeno siendo difícil demostrar si se trata de infecciones exógenas o de la exaltación de la virulencia de una bacteria pre-existente. En la mayor parte de casos, probablemente se trate de invasores secundarios como en las afecciones pulmonares por estos gérmenes en pacientes con bronquiectasias y otras enfermedades respiratorias crónicas.

También se ha asociado al género *Klebsiella* con lesiones supurativas de diversas partes del organismo: abscesos hepáticos, meningitis, otitis, sinusitis, osteomielitis, etc. Igualmente pueden producir septicemias, particularmente frecuentes en recién nacidos y enfermos crónicos graves. También a

semejanza de otras enterobacterias del grupo de los coliformes, pueden producir infecciones de las vías urinarias del hombre.

La neumonía por bacilo de Friedländer constituye aproximadamente el 3 % de las neumonías bacterianas agudas, siendo su capacidad invasora muy parecida a la del neumococo.

*K. ozenae* y *K. rhinoscleromatis* se consideran causantes de enfermedades crónicas de las vías respiratorias superiores: *K. ozenae* se ha aislado de la nariz de pacientes con ozena, atrofia progresiva de la mucosa nasal, caracterizada por su fetidez y *K. rhinoscleromatis* de pacientes afectos de rinoscleroma, granuloma destructivo de la nariz y de la faringe.

#### B) Clasificación del género *Klebsiella*

Todavía no existe en realidad una determinación oficial de la determinación taxonómica del grupo *Klebsiella*. No obstante, puede suponerse que existen por lo menos dos subgrupos claramente diferenciables: *K. pneumoniae* por un lado y *K. rhinoscleromatis* por otro. No están de acuerdo los diversos autores en cuáles son los límites para una definición de *K. pneumoniae* así como en si se ha de considerar como un grupo autónomo de elevada variedad biotípica.

COWAN propuso en 1960 una amplia subdivisión de *K. pneumoniae*, que llegó a pesar de la exclusión de las cepas oxitocum del grupo *Klebsiella*, a una clasificación de la especie

cn: *K. aerogenea*, *K. pneumoniae* «sensu stricto», *K. edwardsii*, variedad *edwardsii* y *K. edwardsii*, variedad *atlantica*; *K. rhinoscleromatis* y *K. ozenae* son consideradas por COWAN como dos especies independientes dentro del género.

BASCOMB y cols. en 1971, dividen al género *Klebsiella* en 6 subgrupos: I (*K. aerogenes*; *K. oxytoca*; *K. edwardsii*), II (*K. pneumoniae*), III (*K. «unnamed group»*), IV (*K. ozenae*), V (*E. aerogenes*), VI (*K. rhinoscleromatis*) volviendo a considerar a *Enterobacter aerogenes* dentro del género *Klebsiella*, del que había sido separado por HORMAECHE y EDWARDS en 1960.

En nuestro trabajo hemos adoptado, dentro del confusionismo existente, la clasificación de EWING (que divide al género *Klebsiella* en *K. pneumoniae*, *K. pneumoniae* biotipo *oxytoca*, *K. ozenae* y *K. rhinoscleromatis*), debido a su simplicidad y al hecho de que las distintas especies y biotipos por él consideradas, pueden ser diferenciadas sin ambigüedad por sus caracteres bioquímicos.

### C) Morfología y caracteres de cultivo

En los productos patológicos, los gérmenes de este género se presentan en forma de bacilos cortos ( $1-2 \times 0,3$ ), pero se pueden encontrar formas largas, siendo según DUMAS, este polimorfismo uno de los elementos para el diagnóstico morfológico. Los bacilos se ven englobados por una cápsula voluminosa, pudiendo abarcar una sola varios gérmenes cuando éstos se agrupan en cadenas cortas, lo que no es excepcional.

En los cultivos el polimorfismo se ve acentuado pudiéndose observar al lado de formas típicas, bacilos delgados y largos, formas cocoides, diplobacilos, cadenas más o menos largas y formas filamentosas.

Son todos ellos inmóviles, pero se han descrito formas móviles transitorias en los cultivos recientes (Cado), siendo los gérmenes ciliados durante 4 ó 5 horas y desapareciendo los cilios al desarrollarse la cápsula. Transcurridas 24 horas los gérmenes han recuperado ya su aspecto habitual. Se colorean fácilmente por los colorantes a base de anilina y no se tiñen por el método de Gram y presentan una neta coloración bipolar tanto en los cultivos como en los productos patológicos.

En los cultivos en medios sólidos, las formas capsuladas dan colonias voluminosas y mucosas con tendencia a confluir. En medios líquidos, se observa un anillo viscoso en la parte superior que aparece en 24.048 horas, así como un depósito mucoso en el fondo del tubo. En el medio de EMB las colonias aparecen de color rosado y a veces están centradas por un punto violáceo.

En los cultivos en medios sólidos, las formas capsuladas dan colonias voluminosas y mucosas con tendencia a confluir. En medios líquidos, se observa un anillo viscoso en la parte superior que aparece en 24.048 horas, así como un depósito mucoso en el fondo del tubo. En el medio de EMB las colonias aparecen de color rosado y a veces están centradas por un punto violáceo.

### D) Caracteres bioquímicos

Desde el punto de vista bioquímico, las principales características del gé-

nero *Klebsiella*, aparte de variaciones que luego citaremos, son según LE MINOR las siguientes:

- Fermentación de la glucosa con producción de gas.
- Fermentación de la lactosa.
- Fermentación de la sacarosa.
- Fermentación del manitol.
- Fermentación de la salicina.
- Fermentación del adonitol.
- Fermentación del inositol.
- Fermentación variable del dulcitol.
- Reacción de Voges - Proskauer (+).
- Utilización del citrato de sodio.
- Crecimiento en presencia de KCN.

- Utilización del malonato de sodio.
- Decarboxilación de la lisina.
- No transformación de la fenilalanina en ácido fenil-pirúvico.
- No producción de indol.
- Reacción del rojo de metilo (—).
- No producción de SH<sub>2</sub>.
- No existencia de gelatinasa.

Como en todos los grupos lactosa (+), se pueden encontrar cepas de *Klebsiella* que acidifiquen tardíamente los medios lactosados, debido a que poseen beta-galactosidasa muy activa, pero no galactopermeasa.

Los caracteres bioquímicos particulares de *K. ozenae* y *K. Rhinoscleromatis* son, también según LE MINOR, los referidos a continuación:

	<i>K. rhinoscleromatis</i>	<i>K. ozenae</i>	<i>K. pneumoniae</i>
Gas en glucosa	—	variable	+
L. D. C.	—	variable	+
Citrato (Simons)	—	variable	+
Ureasa	—	variable	+
R. M.	+	+	—
V. P.	—	—	+
Malonato	+	—	—

Así vemos que *K. rhinoscleromatis* es constantemente anaerógena, no produce, no posee lisina-decarboxilasa ni ureasa y no utiliza el citrato en el medio de Simons. *K. ozenae*, si bien es aerógena y ureasa + (con carácter variable) también está desprovista la LDC

y no produce acetoína, distinguiéndose de *K. rhinoscleromatis* por su incapacidad de transformar el malonato. Por el contrario, *K. pneumoniae* posee los caracteres generales del género, ya indicados.

Podemos decir que si bien *K. rhi-*

*noscleromatis* posee caracteres bien definidos, *K. ozenae*, se comporta como intermedio entre las *K. rhinoscleromatis* y las *K. pneumoniae* típicas.

En nuestro trabajo, para establecer el diagnóstico diferencial entre las distintas especies, hemos seguido el esquema propuesto por FIFE, EWING y DAVIS, que añaden al citado de LE MINOR la producción de indol y la presencia de gelatinasa, caracteres ambos muy importantes para poder individualizar a *K. oxytoca*; igualmente, dichos autores consideran también el test del KCN un carácter diferencial importante ya que mientras es constantemente positivo para *K. pneumoniae* y *K. oxytoca* puede ser negativo en *K. ozenae* y *K. rhinoscleromatis*.

### E) Caracteres antigénicos

Las *Klebsiella* poseen tres tipos de antígenos: antígeno mucoso M, antígeno capsular K y antígeno somático O.

Según KAUFFMAN, es probable que el antígeno M sea serológicamente idéntico al antígeno K.

Las formas R, sin antígeno O, son frecuentes en el género *Klebsiella*.

Se han podido determinar en este género 5 antígenos O y 72 antígenos capsulares K. En la práctica la identificación antigénica se reduce a la búsqueda del antígeno K, ya que aparte del mayor número de tipos capsulares que somáticos, el antígeno capsular es termoestable 2 horas a 100° C por lo que para buscar el antígeno O es ne-

cesario obtener formas no capsulares por pases sucesivos en caldo biliar. Por otra parte ya hemos citado que son frecuentes las formas que no poseen antígeno O.

No parece haber relación de la virulencia con el tipo capsular, si bien en las infecciones urinarias son particularmente frecuentes los tipos capsulares 8, 9 y 10 mientras que en las afecciones respiratorias son más frecuentes los tipos 1 y 2.

En cuanto a la relación de los tipos capsulares con las distintas especies, están de acuerdo los distintos autores en que si bien *K. pneumoniae* se puede distribuir prácticamente en todos los tipos capsulares, *K. ozenae* generalmente pertenece al tipo 4 y eventualmente a los tipos 1, 3, 5 y 6 mientras que *K. rhinoscleromatis* pertenece casi exclusivamente al tipo 3.

Es interesante señalar aquí que se han podido determinar parentescos antigénicos precisos entre los géneros *Klebsiella* y *Escherichia* (Kauffman). Así se ha identificado por dicho autor los antígenos capsulares 10 de *Klebsiella* y 39 de *Escherichia*, 7 de *Klebsiella* y 55 de *Escherichia*, 8 de *Klebsiella* y 34 de *Escherichia*, y 11 de *Klebsiella* y 37 de *Escherichia*. De la misma manera se han relacionado también los antígenos somáticos de los dos géneros, pudiendo demostrar KAUFFMAN que el tipo 3:11 (*Klebsiella*) tiene el mismo antígeno somático O que el 9:37 (*Escherichia*) mientras que los antígenos capsulares 11 y 37 no son más que parcialmente semejantes.

## II) KLEBSIELLA OXYTOCA

La denominación de *Klebsiella oxytoca* fue propuesta por LAUTROP en 1956 para designar el *Bacillus oxytocus perniosus* (Wyssokowitsch) que fue aislado de la leche cortada en el laboratorio de Flügge y citado por el mismo FLÜGGE en su libro «Die Mikroorganismen» (1886). Este microorganismo es estudiado posteriormente por WOODHEAD (1891) y MIGULA (1900), quien en su libro «System der Bakterien» propone la denominación de *Bacterium oxytocom* (FLÜGGE) siendo adoptada por MATZUCHITA (1902) en su libro «Bakteriologische Diagnostik».

En 1909, MAC CONKEY describe 8 cepas de *B. oxytocom* (aisladas en heces, suelo y queso) caracterizadas por la formación de indol y por la presencia de gelatinasa.

En 1920, CASTELLANI y CHALMERS incluyen a este microorganismo en la familia *Enterobacteriaceae* con el nombre de *Escherichia oxytocus*.

En 1932, HILDA HAY realiza un estudio sobre el *Bacillus mucosus capsulatus* (bacilo de Friedländer) y menciona 3 cepas del llamado *B. oxytocom*, capaces de fermentar un elevado número de azúcares y de producir indol, no citando si realizó o no el test de licuación de la gelatina.

En la primera edición del «Manuel of Determinative Bacteriology» de BERGEY, en 1923, aparece como *Aerobacter oxytocom*.

En 1938, MALCOM aísla de la leche y de heces de bóvidos 71 cepas de *B. oxytocom* caracterizándolas por la

producción de indol, reacción del rojo de metilo (—), reacción de Voges-Proskauer (+), utilización del citrato de Koser (+), fermentación del inositol (+) y movilidad (—); de las 71 cepas estudiadas, 47 licuaron la gelatina.

BROOKE, en 1951 y KAUFFMANN en 1956 describen también cultivos de *Klebsiella* capaces de licuar la gelatina y de producir indol. También HENRIKSEN, en 1954, integra a estos microorganismos no móviles e indolígenos dentro del concepto de *Klebsiella*.

LAUTROP, en 1956, observó que las cepas de *Klebsiella* que forman indol suelen licuar la gelatina aunque sea de una forma retardada, proponiendo la separación de un «grupo oxytocom» con el criterio fundamental de la licuación de la gelatina, sugiriendo la terminología ya citada de *Klebsiella oxytoca*.

Los cultivos de *Klebsiella* indol (+) y gelatina (+) fueron mencionados también por ORSKOV en 1955 y 1957 y por HORMAECHE y MUNILLA en 1957.

HUGH, en 1959, realiza un estudio bioquímico de 19 cepas aisladas de la región orofaríngea en un examen de 523 enfermos. Este autor obtuvo un resultado positivo en todas las cepas para los tests de V.P. indol, citrato de Simmons, KCN, reducción de nitratos a nitritos, catalasa, LDC y fermentación de adonitol, arabinosa, dextrosa, inositol, lactosa, maltosa, manitol, ramnosa, salicina, sorbitol, sacarosa, trehalosa y xilosa. Asimismo obtuvo un re-

sultado uniformemente negativo para los tests de producción de SH<sub>2</sub>, movilidad, y FDA, mientras que los resultados fueron variables para la fermentación del dulcitol, licuación de la gelatina, reacción del rojo de metilo y desdoblamiento de la urea.

En 1963, EWING considera que *K. oxytoca* debe ser considerada como una variedad o biotipo de *K. pneumoniae*, continuando con esta misma opinión en sus posteriores comunicaciones en 1966 y 1967, siendo comparado el mismo punto de vista por FIFE y DAVIS en 1965.

COWAN y cols. en 1960, elaboran una clasificación del género *Klebsiella* en la que excluyen del mismo a *K. oxytoca*.

El primer autor que, a raíz de los resultados de una investigación propia, opina que *K. oxytoca* debe constituir una especie nueva dentro del género *Klebsiella*, es KALUZEWSKI, en 1967, considerando como criterio principal la formación de indol. A esta misma concepción tienden las comunicaciones de KORTH en 1969, de SONTA-JAKIMCZYK en 1969 y de STENZEL en 1972.

En la última edición del libro EDWARDS y EWING «Identification of Enterobacteriaceae», en 1972, los autores continúan considerando que *K. oxytoca* no reúne los requisitos necesarios para ser considerada una especie aparte, clasificándola como una variedad de *K. pneumoniae*.

RICHARD, en 1973, realiza un estudio bioquímico antigénico de 70 cepas de *K. oxytoca*, aceptando el punto de vista de EWING pero considerando

que esta opinión podría ser revisada más adelante.

En 1974, PREAC-MURSIC opina que a pesar de observar en sus investigaciones que existen unas características bioquímicas definidas para estos gérmenes quedan todavía muchos puntos por aclarar y no emite por tanto ninguna opinión acerca de la posición taxonómica de *K. oxytoca*.

Vemos pues que existe un gran confusiónismo sobre este microorganismo, ya que mientras algunos autores lo excluyen totalmente del género *Klebsiella*, otros lo clasifican como una subespecie de *K. pneumoniae* y hay por último quien considera que debe ser considerado como una especie aparte dentro del género *Klebsiella*.

Dejando aparte su posición taxonómica en lo que prácticamente todos los autores están de acuerdo es en que es una bacteria con características bien delimitadas y los estudios realizados en estos últimos años han demostrado que este germen presenta un interés creciente en patología humana.

## ESTUDIO EPIDEMIOLOGICO

A comienzos de 1970 nos llamó la atención en nuestros exámenes de rutina, el aislamiento de 3 cepas de *Klebsiella* con las características bioquímicas propias de *K. pneumoniae* pero que eran indol positivas. Como posteriormente pudimos comprobar que además licuaban lentamente la gelatina, se sentó el diagnóstico provisional de

*Klebsiella oxytoca*, practicándose más tarde una serie de reacciones bioquímicas que confirmaron el diagnóstico.

En el primer Symposium Internacional de Microbiología de Infecciones Bacterianas celebrado en el Consejo Superior de Investigaciones Científicas de Madrid en octubre de 1972, denunciábamos por primera vez la presencia de *K. oxytoca*, presentando en forma de nota previa el estudio de 63 cepas de orígenes diversos.

Con posterioridad a esta fecha, hemos continuado aislando nuevas cepas de *K. oxytoca* hasta un total de 114, cuyo estudio ha constituido el presente trabajo.

## D) MATERIAL

Hemos realizado este estudio sobre un total de 114 cepas de *K. oxytoca*, aisladas de 108 enfermos (92 niños y 16 adultos) y de 6 portadores, procedentes de diversas salas de dos Instituciones hospitalarias distintas, la Casa Provincial de Maternidad y el Hospital Clínico y Provincial de Barcelona.

Los productos patológicos a partir de los que se aislaron las cepas (tabla n.º 1 y 2) fueron de naturaleza diversa, si bien es de destacar que la mayoría de aislamientos en niños correspondieron a hemocultivos.

TABLA n.º 1

ENFERMOS			
Producto	Niños	Adultos	Total
Hemocultivo	65	3	68
Hemocultivo + LCR	3	0	3
Hemocultivo + Absceso	1	0	1
Hemocultivo + Catéter	1	0	1
LCR	5	0	5
Orina	12	10	22
Pus ótico	1	0	1
Líqu. amniótico	1	0	1
Líqu. diálisis	0	2	2
Líqu. ascítico	1	1	2
Frotis faríngeo	2	0	2
Total	92	16	108

TABLA n.º 2

PORTADORES			
<i>Producto</i>	<i>Niños</i>	<i>Adultos</i>	<i>Total</i>
Frotis faríngeo	0	1	1
Frotis subungueal	0	3	3
Frotis nasal	0	2	2
Total	0	6	6

## II) ESTUDIO BACTERIOLOGICO

Las cepas aisladas han sido caracterizadas desde el punto de vista bioquímico por 38 reacciones, con los resultados siguientes:

### A) Propiedades bioquímicas

#### 1. CARACTERES CONSTANTES

Todas las cepas estudiadas poseen las características propias de la familia *Enterobacteriaceae*: tipo respiratorio aerobio-anaerobio facultativo, reduc-

ción de los nitratos, fermentación de la glucosa, producción de catalasa y no producción de oxidasa.

Hemos obtenido un resultado positivo en todas las cepas para la producción de beta-galactosidasa, ureasa, lisina-decarboxilasa, reacción de Voges-Proskauer, producción de indol, utilización del citrato y del malonato de sodio, crecimiento en CNK, producción de gas en glucosa, proteólisis de la gelatina, fermentación del mucato y de diversos azúcares y alcoholes (lactosa, sacarosa, ramnosa, arabinosa, maltosa, rafinosa, celobiosa, xilosa, salicina, manitol, adonitol e inositol).

TABLA n.º 3

CARACTERES BIOQUIMICOS DE LAS *K. OXYTOCA* AISLADAS

	N.º de cepas		%	
	+	(+)	+	(+)
Gas en glucosa	114	0	100	0
Lactosa	109	5	95,6	4,4
$\beta$ -Galactosidasa	114	0	100	0
KCN	114	0	100	0
VP	114	0	100	0
RM	16	0	14,1	0
Mucato	108	6	94,7	5,3
Malonato	114	0	100	0
Citrato (Simmons)	114	0	100	0
Ureasa	112	2	98,2	1,8
Indol	114	0	100	0
Gelatinasa	98	16	86	14
LDC	114	0	100	0
ODC	0	0	0	0
ADH	0	0	0	0
FDA	0	0	0	0
SH2	0	0	0	0
Salicina	114	0	100	0
Sacarosa	114	0	100	0
Manitol	114	0	100	0
Adonitol	112	2	98,2	1,8
Inositol	114	0	100	0

+ : En 24-48 horas.

(+) : Tardío.

TABLA n.º 4

CLASIFICACION DEL GENERO *KLEBSIELLA* EN TIPOS BIOQUIMICOS

RICHARD (1973)

	<i>Biotipos</i>							
	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>c</i>	<i>d</i>	<i>Da</i>	<i>Db</i>	<i>Dc</i>	<i>Dd</i>
Dulcitol	—	—	—	—	+	+	+	+
Sorbosa	—	—	+	+	—	—	+	+
d Tartrato	+	—	+	—	+	—	+	—

Los resultados han sido negativos en todas las cepas para el estudio de la movilidad, producción de SH<sub>2</sub>, fenilalanina-desaminasa, ornitina-decarboxilasa, arginina-dehidrolasa y desoxirribonucleasa.

## 2. CARACTERES VARIABLES Y TIPADO BIOQUÍMICO

Se han obtenido respuestas variables frente a las siguientes reacciones bioquímicas:

- Reacción del rojo de metilo (16 cepas + y 98 —).
- Fermentación de la sorbosa (113 cepas + y 1 —).
- Fermentación del dulcitol (48 cepas + y 66 —).
- Fermentación del d-tartrato (92 cepas + y 22 —).

Los resultados obtenidos en la identificación bioquímica de género y especie, quedan reflejados en la tabla n.º 3.

El estudio del catabolismo del d-tartrato, del dulcitol y de la sorbosa nos ha permitido distribuir a las cepas aisladas en biotipos, siguiendo la clasificación propuesta por RICHARD (18) en 1973 (tabla n.º 4), encontrando los siguientes biotipos: biotipo c (62 cepas), biotipo Dc (30 cepas), biotipo Dd (18 cepas), biotipo d (3 cepas) y biotipo b (1 cepa) (tabla n.º 5).

TABLA n.º 5

BIOTIPOS DE *K. OXYTOCA* AISLADOS

<i>Biotipo</i>	<i>N.º de cepas aisladas</i>	<i>%</i>
a	0	0
b	1	0,9
c	62	54,4
d	3	2,6
Da	0	0
Db	0	0
Dc	30	26,3
Dd	18	15,8

## B) Tipado capsular

El tipado capsular de las cepas aisladas, mediante la reacción de Neufeld,

**DISTRIBUCION EN EL TIEMPO DE LOS BIOTIPOS DE K. OXYTOCA AISLADOS**

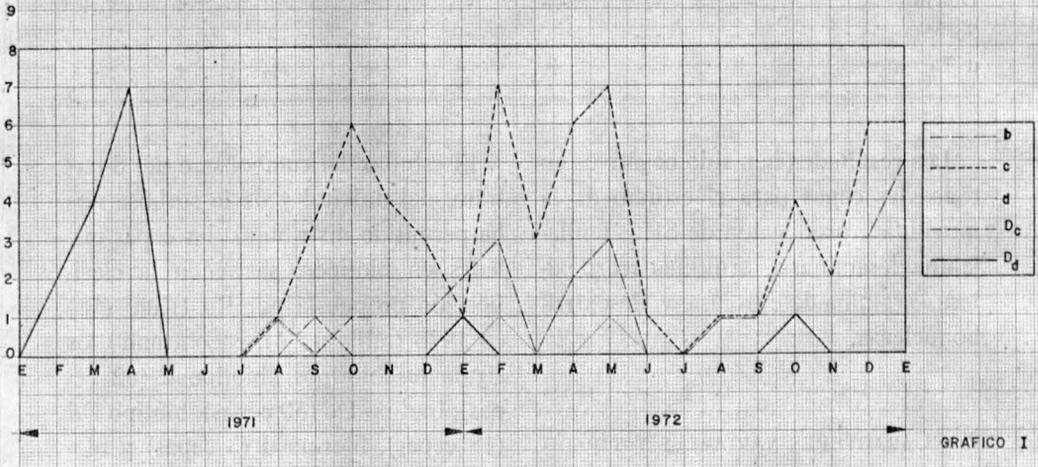


GRAFICO I

**DISTRIBUCION DE LOS BIOTIPOS DE K. OXYTOCA AISLADOS EN LA CASA PROVINCIAL DE MATERNIDAD**

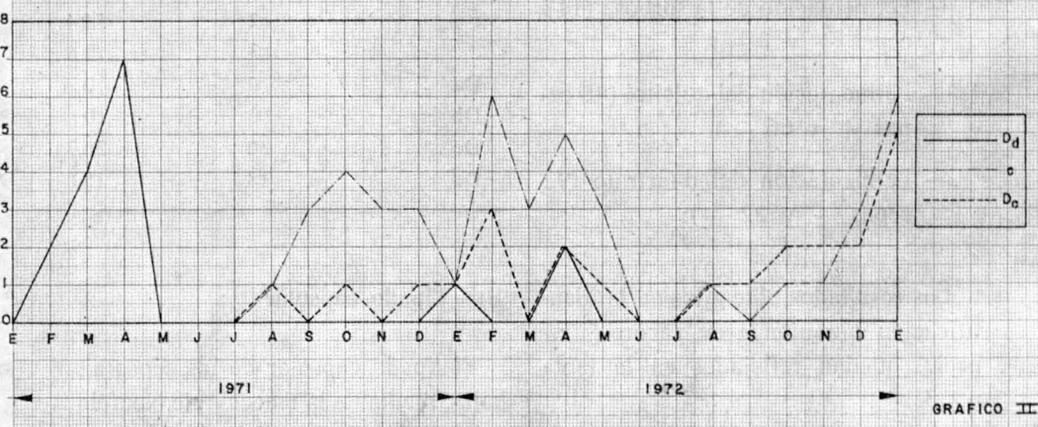


GRAFICO II

TABLA n.º 6

TIPOS CAPSULARES DE LAS  
*K. OXYTOCA* AISLADAS

Tipado capsular	N.º de cepas	%
9	1	0,9
16	1	0,9
17	3	2,6
18	3	2,6
20	1	0,9
21	5	4,4
21-31	1	0,9
26	14	12,3
27	1	0,9
35	2	1,7
36-9	1	0,9
40-19	2	1,7
43	38	33,4
47	3	2,6
56	2	1,7
59	13	11,4
68	3	2,6
71-41	1	0,9
72	1	0,9
nc	18	15,8

nc: no capsulado

nos ha permitido observar los resultados reflejados en la tabla n.º 6.

Considerando conjuntamente los serotipos y biotipos hallados, se observa que las 96 cepas capsuladas se distribuyen en 25 variedades de *K. oxytoca* (tabla n.º 7), siendo de destacar el marcado predominio de la 43 c (38 cepas), seguida por la 59 Dd (13 cepas) y la 26 Dc (10 cepas).

## III) ESTUDIO EPIDEMIOLOGICO

La clasificación en biotipos y serotipos nos ha permitido obtener datos epidemiológicos de gran interés en las dos Instituciones estudiadas.

## A) Distribución en el tiempo

Si se distribuyen en el tiempo los biotipos aislados (tabla n.º 5), hemos podido observar (gráfico I) que los casos se presentaron a lo largo de 1971 y 1972 existiendo de enero a mayo de 1971 un predominio absoluto del biotipo Dd, mientras que a partir de julio de 1971 el biotipo que predominó fue el c, seguido del Dc, presentándose los biotipos b, d y Dd en forma de casos esporádicos.

## B) Distribución en el espacio

## 1. CASA PROVINCIAL DE MATERNIDAD

En el gráfico II hemos distribuido en el tiempo los distintos biotipos de *K. oxytoca* aislados en esta Institución, observándose claramente que en este período difundieron 3 biotipos que dieron lugar a 3 grupos de casos de distinta importancia numérica, que se presentaron en 3 departamentos distintos de la Institución: Enfermería de Primera Infancia (59 cepas), Enfermería de Recién Nacidos (19 cepas) e Instituto Provincial de Prematuros (5 cepas).

TABLA n.º 7

VARIEDADES DE *K. OXYTOCA* AISLADAS

<i>Tipos capsulares</i>	<i>Biotipos</i>	<i>N.º de cepas</i>	<i>Tipos capsulares</i>	<i>Biotipos</i>	<i>N.º de cepas</i>
9	Dd	1	36-9	c	1
16	b	1	40-19	Dc	2
17	c	1	43	c	38
	d	2			
18	c	1	47	c	1
	Dc	2			
20	Dd	1	56	c	1
				d	1
21	Dc	5	59	Dd	13
21-31	c	1	68	Dc	1
				Dd	2
26	c	4	71-41	Dc	1
		Dc			
27	Dc	1	72	Dc	1
35	c	2	NC	c	12
				Dc	5
				Dd	1

a) En la *Enfermería de Primera Infancia* (tabla n.º 8) se aislaron en total 59 cepas de *K. oxytoca* (5 de ellas procedentes de portadores), distribuidas en 3 biotipos: c, Dc y Dd.

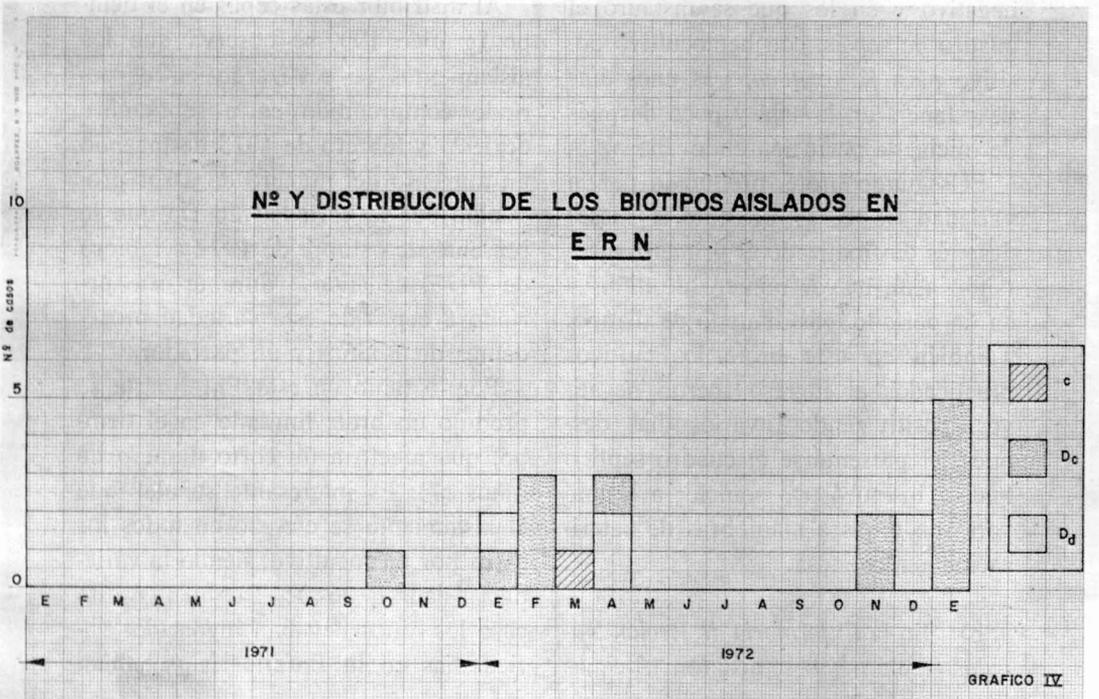
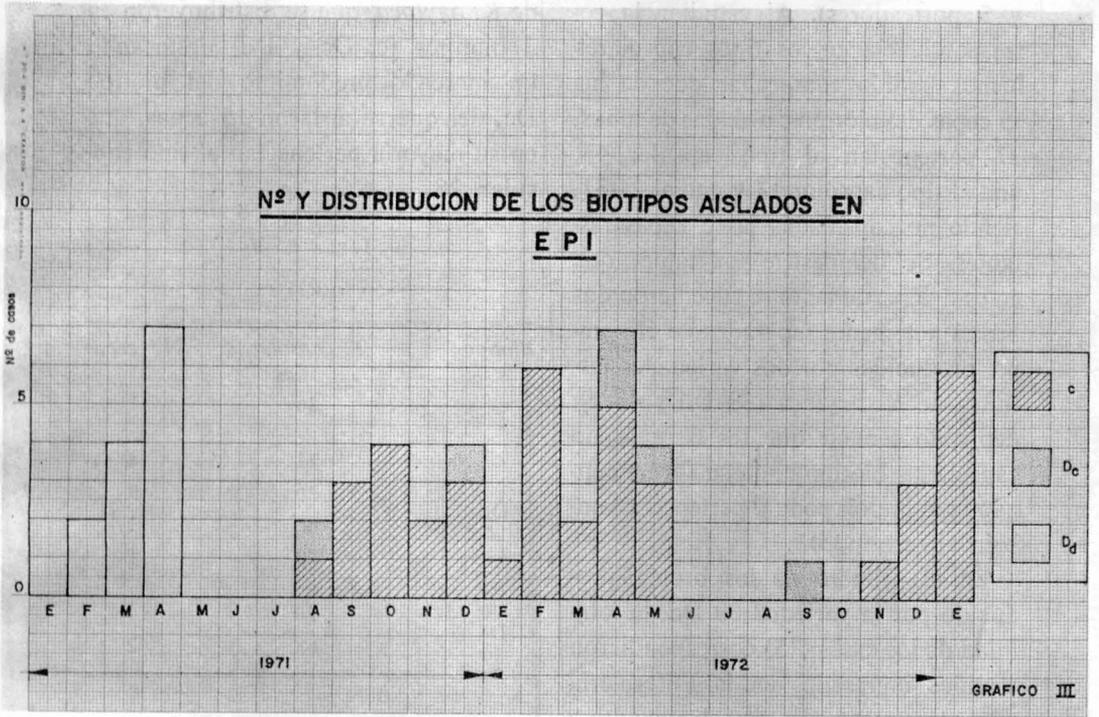
En el gráfico III se puede observar claramente que de enero a mayo de 1971 se detectó un aumento limitado del número de casos (13 cepas) producidos por el biotipo Dd, correspondiendo todos ellos al tipo capsular 59.

Igualmente se aprecia en el gráfico, que de julio de 1971 a febrero de 1973 se produjo un importante aumento de casos producidos por el biotipo c, aislandose en total 40 cepas (35 niños

TABLA n.º 8

## EPI

<i>Biotipo</i>	<i>T. capsular</i>	<i>N.º cepas</i>
c	17	1
	21-31	1
	43	30
	nc	8
Dc	18	1
	21	1
	26	1
	40-19	2
	68	1
Dd	59	13



y 5 portadores). Al estudiar la correspondencia en los tipos capsulares hemos podido comprobar que de las 35 cepas del biotipo c aisladas de niños, 27 pertenecían al tipo capsular 43, una al tipo capsular 17 y una al 21-31, siendo no capsuladas las 6 cepas restantes. Se demuestra por tanto, que en este departamento se sucedieron dos brotes netamente separados en el tiempo, producidos por dos variedades distintas de *K. oxytoca* (59 Dd y 43 c), debiendo señalar que las 6 cepas no capsuladas biotipo c, en su forma capsulada hubieron podido pertenecer también al serotipo 43.

En el primero de los brotes, producido por la variedad 59 Dd, la totalidad de los casos (13) correspondieron a niños ingresados en la Enfermería por otros procesos, con hemocultivo negativo y en los que se instauró el cuadro de sepsis, con hemocultivo positivo para *K. oxytoca*, tras unos días de estancia en la sala y poco después de iniciar la perfusión endovenosa.

El segundo brote, producido por la variedad 43 c, se presentó 4 meses después de finalizado el primero, afectando a un mayor número de niños y en un período más dilatado de tiempo. También en este brote los cultivos practicados al ingreso fueron negativos, positivizándose varios días después, al presentarse el cuadro séptico que se instauró tras someter a la mayoría de niños a maniobras de cateterización endovenosa.

b) En la *Enfermería de Recién Nacidos* (tabla n.º 9) se aislaron 19 cepas

de *K. oxytoca*, que se distribuyeron en 3 biotipos (c, Dc y Dd) destacando un marcado predominio del biotipo Dc, del que se aislaron 15 cepas, que en su mayoría pertenecían al tipo capsular 26.

TABLA n.º 9

## ERN

Biotipo	T. capsular	N.º cepas
c	26	1
Dc	21	4
	26	9
	nc	1
	72	1
Dd	20	1
	68	2

Al distribuir estas cepas en el tiempo (gráfico IV), se observa que los aislamientos se realizaron en el período comprendido entre septiembre de 1971 y febrero de 1973 destacando un aumento del número de casos producido por la variedad 26 Dc que se presentó de octubre de 1972 a febrero de 1973, aislándose durante este período 8 cepas de esta variedad procedentes de 7 niños y un portador.

Por lo tanto en esta Enfermería se produjo un brote limitado en el tiempo, que afectó a un corto número de niños (7). Es interesante señalar que el aislamiento se efectuó en todos los casos por urinocultivo, siendo la variedad aislada la 26 Dc. También en este caso los niños llevaban ingresados varios días en la Enfermería y habían

**Nº Y DISTRIBUCION DE LOS BIOTIPOS AISLADOS EN**  
**I P P**

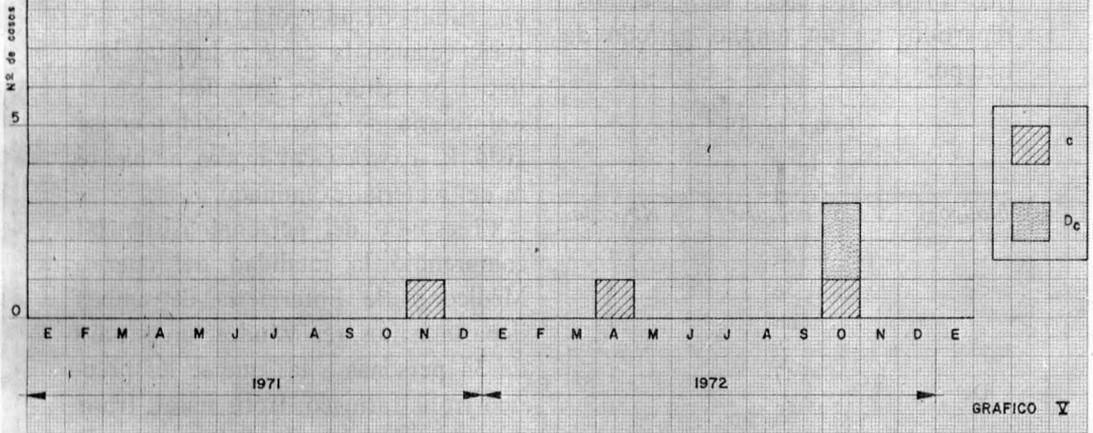


GRAFICO V

**Nº Y DISTRIBUCION DE LOS BIOTIPOS AISLADOS**  
**EN EL H C P**

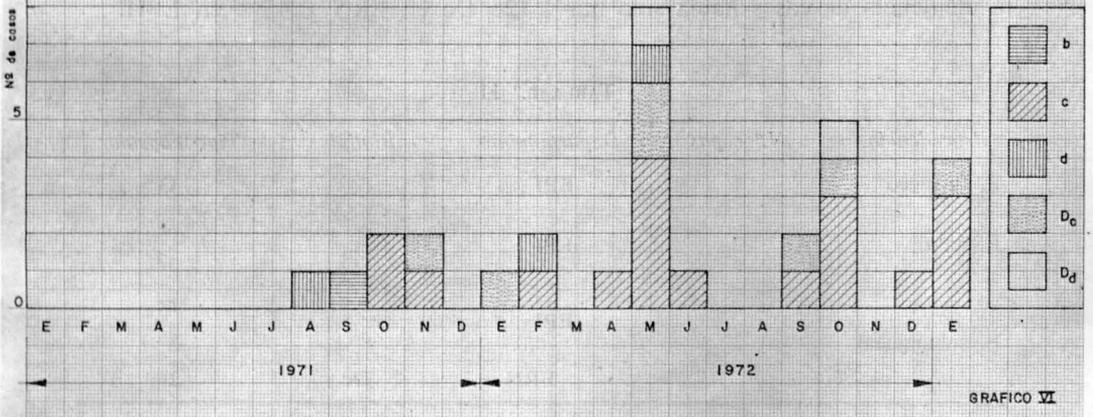


GRAFICO VI

sido negativos los primeros cultivos practicados.

c) En el *Instituto Provincial de Prematuros* (tabla n.º 10) se aislaron únicamente 5 cepas de *K. oxytoca* distribuidas en 2 biotipos y varios tipos capsulares, pudiendo comprobar (gráfico V) que los casos se presentaron repartidos en un amplio período de tiempo.

TABLA n.º 10  
I.P.P.

Biotipo	T. capsular	N.º cepas
c	43	1
	56	1
	nc	1
Dc	47	1
	nc	1

Ante la frecuencia de los aislamientos efectuados y la posibilidad de que se tratase de infecciones intrahospitalarias por determinados tipos de *K. oxytoca*, realizamos un amplio control del medio ambiente, del material y del personal asistencial de las salas donde la incidencia de casos había sido ma-

yor, es decir en la Enfermería de Primera Infancia y en la Enfermería de Recién Nacidos.

El estudio del medio ambiente y del material de ambos departamentos totalizó 123 muestras, dando como resultado el aislamiento en la Enfermería de Primera Infancia de *K. oxytoca* de una cánula de un equipo de perfusión, perteneciendo la cepa aislada al biotipo c y siendo no capsulada; en la Enfermería de Recién Nacidos no se aisló *K. oxytoca* del medio ambiente ni del material examinado.

El estudio del personal asistencial comprendió la totalidad del cuerpo Médico y de Enfermería de ambos departamentos, realizándose un estudio de 34 personas a las que se les practicó frotis faríngeo, frotis nasal, frotis anal y frotis subungueal. La existencia de portadores quedó demostrada al aislarse cinco cepas de *K. oxytoca* del personal asistencial de la Enfermería de Primera Infancia y una cepa de la Enfermería de Recién Nacidos (tabla n.º 11), coincidiendo los tipos bioquímicos y capsulares con los predominantes en cada una de las enfermerías (26 Dc en ERN y 43 c en EPI).

TABLA n.º 11

Procedencia	N.º cepas	Departamento	Biotipo	Tipo capsular
F. faríngeo	1	EPI	c	43
F. nasal	2	EPI	c	nc
				43
F. subungueal	3	EPI	c	nc
			c	43
		ERN	Dc	26

TABLA n.º 12

## NIÑOS

<i>Biotipo</i>	<i>T. capsular</i>	<i>Procedencia</i>	<i>N.º de cepas</i>
	18	RN	1
	26	LACT	1
	35	LACT	2
c	36,9	RN	1
	43	RN	1
	47	RN	1
	NC	RN	2
	17	RN	2
d	71,41	LACT	1
Dc	NC	RN	2
Dd	NC	LACT	1

## ADULTOS

<i>Biotipo</i>	<i>T. capsular</i>	<i>Procedencia</i>	<i>N.º de cepas</i>
	26	MED B	1
	26	MED C	1
	43	MED A	1
c	43	MED B	1
	43	MED C	2
	43	UTR	1
	NC	MED A	1
	NC	MED B	1
b	16	MED C	1
d	56	MED A	1
	18	UTR	1
Dc	27	UTR	1
	47	UTR	1
	NO	MED A	1
Dd	9	MED A	1

## 2. HOSPITAL CLÍNICO Y PROVINCIAL

En esta Institución se aislaron en total 31 cepas de *K. oxytoca* en el transcurso de un amplio período de tiempo (gráfico VI) y distribuidas en 5 biotipos: b, c, d, Dc y Dd.

Es de destacar que si bien se aprecia un predominio del biotipo c, las cepas pertenecen a distintos tipos capsulares (tabla n.º 12), además de proceder de Servicios hospitalarios diversos: Clínica Médica A, Clínica Médica B, Clínica Médica C, Unidad de Trasplante Renal y Servicio de Pediatría (Sala de Recién Nacidos y Sala de Lactantes).

Vemos pues que los casos se presentaron esporádicamente en un período dilatado de tiempo y en diversos Servicios hospitalarios, perteneciendo las cepas aisladas a biotipos y serotipos diversos. Sin embargo, teniendo en cuenta que la mayoría de enfermos llevaban ingresados varios días en el Hospital y habían sido sometidos a maniobras de cateterización, es probable que en su mayoría se tratara de infecciones intrahospitalarias, probablemente a partir de portadores de biotipos y serotipos diversos.

## IV) DISCUSION

En general podemos decir que los caracteres bioquímicos de nuestras cepas concuerdan con los obtenidos por otros autores (7, 9, 12, 15, 16, 17, 18, 19 y 20), observando únicamente como diferencia en nuestro estudio un

porcentaje más elevado de licuación de la gelatina que los autores citados.

El tipado capsular mediante la reacción de Neufeld, ha puesto de manifiesto que *K. oxytoca* presente una distribución en tipos capsulares muy amplia, coincidiendo estos resultados con las experiencias de otros autores (9, 10).

El tipado capsular y bioquímico de las cepas de *K. oxytoca* estudiadas nos ha proporcionado datos epidemiológicos de gran interés, permitiéndonos individualizar 3 brotes intrahospitalarios importantes producidos por las variedades 59 Dd, 43 c y 26 Dc, así como seguir al cadena de infección en sentido retrógrado hasta el origen de la misma pudiendo detectar la existencia de portadores.

Es de destacar el hecho de que la mayoría de aislamientos hayan correspondido a hemocultivos, poniéndose de manifiesto la importancia de *K. oxytoca* como germen oportunista en la producción de sepsis. Asimismo es importante señalar el que en la mayoría de casos en que el germen se aisló por hemocultivo, los enfermos portaban perfusión endovenosa, habiendo sido negativos los cultivos practicados antes de la implantación del catéter, quedando pues demostrado una vez más el alto riesgo de infecciones en los casos de instrumentalización endovenosa, y debiendo insistir por tanto en la necesidad de observar unas rigurosas normas de asepsia en la técnica de aplicación de catéteres y sondas, así como en los cuidados de su mantenimiento.

La denominación de *Klebsiella oxytoca* fue propuesta por LAUTROP (12) en 1956 para designar al *Bacillus oxytocus perniosus* que fue aislado por primera vez por WYSSOKOWITSCH en el laboratorio Flügge y citado por este último (8) en 1886. La primera descripción detallada de este microorganismo se debe a MAC CONKEY (13) en 1909 y quien la denomina *Bacterium oxytocom* (Flügge), término propuesto anteriormente por MIGULA (14).

En la actualidad hay opiniones divergentes por parte de los diversos autores respecto a la posición taxonómica de *K. oxytoca*. Así, si bien COWAN (3) lo excluye del género *Klebsiella*, la mayoría están de acuerdo en situarlo dentro del mismo, pero mientras que unos lo consideran como una variedad bioquímica o biotipo de *K. pneumoniae* (4, 5, 6, 7), otros (10, 11, 20) opinan que posee caracteres bioquímicos lo suficientemente definidos como para constituir una especie aparte. Nosotros creemos que si bien en el confuso de opiniones sobre su posición taxonómica definitiva no han quedado establecidas netamente

sus características de especie, lo que sí es evidente es que se trata de un germen bien individualizado, reflejado no solamente en sus características morfológicas, bioquímicas y antigénicas, sino también en su extraordinaria facilidad oportunista, siendo capaz de producir procesos patológicos graves, especialmente en pacientes hospitalarios sometidos a cateterismos, tal como hemos visto en nuestras investigaciones, constituyendo un nuevo grupo de infecciones hospitalarias por una variedad bien delimitada de bacilos gram negativos.

## V) RESUMEN

Se realiza un estudio bioquímico y antigénico de 114 cepas de *K. oxytoca* aisladas en su mayoría por hemocultivos. Se clasifican en tipos bioquímicos y capsulares y a la luz de los resultados obtenidos se realiza un estudio epidemiológico, demostrándose la existencia de tres brotes epidémicos intrahospitalarios por las variedades de *K. oxytoca* 59 Dd, 43 c y 26 Dc.

## BIBLIOGRAFIA

1. ALES REINLEIN, J. M., SASTRE CASTILLO, A., VALLEJO GALBETE, J.: Sensibilidad "in vitro" de los bacilos gram negativos a los antibióticos. La Gentamicina en infecciones respiratorias de pacientes con neumopatías crónicas. *Antib. y Quimiot.*, 5, 221. 1971.
2. ALES REINLEIN, J. M., VIDAL MASSÓ, CACHÓN GARCÍA, F.: Sensibilidad de los bacilos gram negativos a los antimicrobianos. *Rev. Clin. Esp.*, 120, 97. 1971.
3. COWAN, S. T., STEEL, K. J., SHAW, C.: A classification of the *Klebsiella* group. *J. Gen. Microbiol.*, 23, 601. 1960.
4. EWING, W. H.: An outline of nomenclature for the family Enterobacteriaceae. *Intern. Bull. Bact. Nomencl. Taxon.*, 13, 95. 1963.
5. EWING, W. H.: Enterobacteriaceae: taxonomy and nomenclature CDC publication. Communicable Disease Center, Atlanta, Georgia, 1966.

6. EWING, W. H.: Revised definitions for the family Enterobacteriaceae, tribes and genera. National Communicable Disease Center, Atlanta, Georgia, 1967.
7. FIFE, M. A., EWING, W. H., DAVIS, R. B.: The biochemical reactions of the tribe *Klebsielleae*. C.D.C. Publication. Communicable Disease Center, Atlanta, Georgia, 1965.
8. FLUGGE, C.: Die Mikroorganismen. Leipzig, 1886.
9. HUGH, R.: Oxytoca group organisms isolated from oropharyngeal region. *Canad. J. Microbiol.*, 5, 251. 1959.
10. KALUZEWSKI, S.: Taxonomic position of the indole positive strains of *Klebsiella*. *Exp. Med. Microbiol.*, 19, 350. 1967.
11. KORTH, H., ORSKOV, I., PULVERER, G.: Farbstoffbildende *Klebsiella*-Stämme. *Zbl. Bakt. I. Abt. Orig.*, 211, 105. 1969.
12. LAUTROP, H.: Gelatin liquefyng *Klebsiella* strains (*Bacterium oxytoca*) Flüge. *Acta. Path. Microbiol. Scand.*, 39, 375. 1956.
13. MAC CONKEY, A.: Further observations on the differentiation of lactose-fermenting bacilli with special reference to those of intestinal origi. *J. Hy-G.*, 9, 86. 1909.
14. MIGULA, W.: System der Bakterien. Jena, 1900.
15. ORSKOV, I.: The biochemical properties of *Klebsiella* (*Klebsiella-Aerogenes*) Strains. *Acta. Path. Microbiol. Scand.*, 37, 353. 1955.
16. ORSKOV, I.: Biochemical types in the *Klebsiella* group. *Acta. Path. Microbiol. Scand.*, 40, 155. 1957.
17. PREAC MURSIC, V., METZ, H.: Zur biochemical differentialdiagnostik der *Klebsiella*-gruppe. *Zbl. Bakt. Hy-G., I. Abt. Orig.*, A 226, 63. 1974.
18. RICHARD, C.: Etude antigenique ot biochemique de 500 souches de *Klebsiella*. *Ann. Biol. Clin.*, 31, 205. 1973.
19. SONTA-JAKIMCZYK, D.: Intestinal infections in infants due to *Klebsiella oxytoca*. *Pediatr. Pol.*, 45. 1959. 1970.
20. STENZEL, W., BURGER, H., MANNHEIM, W.: Zur systematic und differentialdiagnostik der *Klebsiella*- gruppe mit besonderer berücksichtigung der sogenannten oxytocaum 0 typen. *Zbl. Bakt. Hy-G., I. Abt. Orig.*, A 219. 1972.