

## ENTEROPATOGENICIDADE E COMPORTAMENTO BIOQUÍMICO DO COLIBACILO 0136:K78(B22)

Maria Regina Fernandes de TOLEDO<sup>(1)</sup> e Luiz Rachid TRABULSI<sup>(2)</sup>

### RESUMO

O colibacilo 0136:K78(B22) isolado e descrito por SAKASAKI & NAMIOKA em 1957, no Japão, foi encontrado nas fezes de 13 pacientes com enterite, entre adultos (a maioria) e crianças, não tendo sido encontrado nas fezes de 200 indivíduos normais. As 13 amostras causaram ceratoconjuntivite experimental no cobaio e apresentaram comportamento bioquímico intermediário ao de *Shigella* e *Escherichia*: produziram gás em glicose, não fermentaram a lactose, não decarboxilaram a lisina e foram imóveis. Parte utilizou e parte não utilizou o citrato de Christensen e o acetado de sódio. Os resultados são discutidos, os Autores advogando a inclusão do colibacilo 0136:K78(B22) entre as enterobactérias capazes de causar infecção intestinal na criança e no adulto, bem como a realização de estudos no sentido de esclarecer sua posição e a de outras enterobactérias semelhantes, dentro da família *Enterobacteriaceae*.

### INTRODUÇÃO

O colibacilo 0136:K78(B22) foi isolado e descrito por SAKASAKI & NAMIOKA, em 1967, no Japão<sup>6</sup>. As seis amostras estudadas haviam sido isoladas de crianças com enterite, e a ingestão de uma delas por voluntário adulto, foi seguida de manifestações de enterite e de aumento do título de anticorpos homólogos no soro. Em vista destes fatos, os Autores consideraram a *E. coli* 0136:K78(B22), um colibacilo enteropatogênico.

Em 1964, TRABULSI & col.<sup>10</sup> isolaram das fezes de um paciente adulto com disenteria severa, uma amostra de *E. coli*, incapaz de fermentar a lactose e capaz de causar ceratoconjuntivite experimental no cobaio, idêntica à causada por culturas de *Shigella*. Esta amostra foi designada cultura 193T-64. Posteriormente, FERNANDES & TRABULSI<sup>5</sup> demonstraram que a cultura 193T-64

possuía os antígenos 0136 e K78(B22), sendo, portanto, antigênicamente idêntica ao colibacilo 0136:K78(B22), descrito por SAKASAKI & NAMIOKA<sup>6</sup>.

O presente trabalho tem por finalidade apresentar um resumo da história clínica de 13 pacientes portadores do colibacilo 0136:K78(B22), descrever as características bioquímicas das amostras isoladas, sua atividade patogênica para o olho do cobaio, bem como os resultados de estudo sobre a pesquisa da bactéria nas fezes de 200 indivíduos normais.

### MATERIAL E MÉTODOS

Nos últimos 4 anos, a *E. coli* 0136:K78(B22) foi pesquisada nas fezes de vários pacientes com enterite e sistematicamente

Trabalho do Departamento de Microbiologia e Imunologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (Prof. Carlos da Silva Lacaz)

- (1) Bolsista da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo. Endereço atual: Instituto de Biologia da Universidade de Campinas, São Paulo, Brasil
- (2) Professor de Bacteriologia, do Departamento de Microbiologia e Imunologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, Brasil

nas fezes de 200 pessoas normais do aparelho digestivo, incluindo-se crianças de todas as idades e adultos. A pesquisa foi feita por semeadura das fezes em meio de Mac Conkey e de ágar SS. Após incubação das placas por 24 horas, 10 a 15 colônias lactose negativas e positivas eram transferidas para ágar inclinado e, em seguida, submetidas a aglutinação em lâmina e em tubo, usando-se soros OK e O, preparados contra a amostra padrão da *E. coli* 0136:K78(B22). Em alguns casos, a identidade das amostras com a cultura padrão foi determinada por provas de absorção cruzada. Em seguida às provas sorológicas, as amostras eram submetidas às provas bioquímicas, usadas de rotina em nosso laboratório.

Para determinação das características bioquímicas das amostras identificadas como *E. coli* 0136:K78(B22), todas foram inoculadas nos meios recomendados por EDWARDS & EWING<sup>3</sup> e pelo Comitê de Enterobactérias<sup>4</sup>, realizando-se, ainda, a prova do acetato de sódio e da beta-galactosidade (ONPG)<sup>1</sup>.

A atividade patogênica para o olho do cobaio foi determinada inoculando-se 0,1 ml de uma suspensão da amostra, preparada pela adição de 1 ml de solução fisiológica ao crescimento de um tubo de ágar inclinado incubado a 37°C por 18-20 horas. Foram usados cobaios albinos, pesando em torno de 200 a 250 g e mantidos em dieta normal. Após a inoculação, os animais foram observados por 2 a 3 semanas. Culturas da secreção ocular foram realizadas por semeadura em placa de Mac Conkey, as colônias sendo identificadas por aglutinação em lâmina, usando-se soro OK.

#### RESULTADOS

Dos pacientes com enterite investigados, o colibacilo 0136:K78(B22) foi isolado das fezes de 13, incluindo-se o primeiro estudado (portador da cultura 193T-64). A idade destes pacientes, bem como as principais manifestações por eles relatadas, encontram-se na Tabela I. Verifica-se que a maioria era constituída por adultos, variando a intensidade das manifestações.

Quanto aos indivíduos normais, a *E. coli* 0136:K78(B22) não foi encontrada nas fezes de nenhum.

Os resultados das provas bioquímicas são apresentados na Tabela II. De modo geral, o comportamento das 13 amostras foi bastante homogêneo. Deixou de ser, apenas, nas provas de utilização do citrato de Christensen, do acetato de sódio e de fermentação da salicina e ramnose. É de se notar que todas as amostras foram imóveis, não fermentaram a lactose, não descarboxilaram a lisina e não possuíam beta-galactosidade. As 13 amostras proliferaram irrestritamente em SS.

Quanto à patogenicidade para o olho do cobaio, as 13 amostras determinaram ceratoconjuntivite severa, idêntica em todos os aspectos à determinada por culturas virulentas de *Shigella*. Em todos os casos, demonstrou-se a amostra inoculada, em grande quantidade, na secreção ocular do animal.

#### DISCUSSÃO

Os dados apresentados neste trabalho apóiam e, de certo modo, ampliam os relatos por SAKASAKI & NAMIOKA<sup>6</sup>, com relação à capacidade do colibacilo 0136:K78(B22) em causar infecção intestinal. Conforme vimos, a bactéria somente foi encontrada em pacientes com manifestações de enterite, todas as amostras tendo sido capazes de determinar ceratoconjuntivite no cobaio, uma característica que, sem dúvida, está relacionada com enteropatogenicidade nas enterobactérias<sup>11</sup>. Em adição, ficou demonstrado que o colibacilo 0136:K78(B22) ocorre tanto em crianças como em adultos, neste particular diferindo dos colibacilos enteropatogênicos clássicos.

O colibacilo 0136:K78(B22) não tem sido incluído entre os colibacilos enteropatogênicos<sup>3</sup>. Os resultados relatados por SAKASAKI & NAMIOKA<sup>6</sup>, bem como os nossos, sem dúvida nenhuma, justificam aceitá-lo como um germe enteropatogênico. Entretanto, a sua enteropatogenicidade não pode e não deve ser considerada idêntica ou semelhante a dos colibacilos enteropatogênicos clássicos. A atividade enteropatogênica da quase totalidade destes é limitada ao recém-nascido e,

TABELA I

Idade e manifestações relatadas pelos pacientes portadores da *E. coli* 0136:K78(B22)

Número de amostras	Idade do paciente	Manifestações relatadas
193T-64	64 anos	Diarréia há 24 horas; 18 evacuações; sangue e catarro nas fezes, dores abdominais, vômitos e febre.
193TI-64	5 anos	Diarréia há 24 horas.
116-65	5 meses	Diarréia, 10 evacuações por dia e vômitos.
11373-65	24 anos	Diarréia há 1 mês, catarro nas fezes.
1367-65	2 anos	Diarréia há 5 meses, 6 a 8 evacuações por dia; sangue e catarro nas fezes.
1402-65	22 anos	Diarréia há 10 dias, 3 evacuações por dia, catarro nas fezes, dores abdominais e náuseas.
292-65	5 meses	Diarréia, 6 evacuações por dia.
1392-65	26 anos	"Diarréia crônica", 2-6 evacuações por dia, catarro nas fezes, dores abdominais, cefaléia, náuseas e anorexia.
13.991-66	5 anos	Diarréia há 24 horas: sangue e catarro nas fezes.
544-67	50 anos	Diarréia há 5 dias; 2 a 3 evacuações por dia, catarro nas fezes, cefaléia e anorexia.
1691-67	15 anos	Diarréia há 6 dias, 2-3 evacuações por dia, dores abdominais, cefaléia, anorexia, vômitos e febre.
165T-68	29 anos	Diarréia há 2 dias, 3 evacuações por dia, sangue e catarro nas fezes.
1007-68	7 anos	Diarréia.

com uma exceção<sup>11</sup>, não causam ceratoconjuntivite no cobaio.

As características bioquímicas da bactéria são extremamente interessantes, dado o seu comportamento intermediário ao dos grupos *Shigella* e *Escherichia*. Tal fato é bem exemplificado pelos resultados das provas de utilização do citrato de Christensen e do acetato de sódio, as duas provas que melhor diferenciam os dois grupos mencionados<sup>2, 8, 9</sup>. Conforme vimos, parte das

amostras utilizam e parte das amostras não utilizam os dois sais orgânicos. Além disto, é digno de nota que todas as amostras deixaram de fermentar a lactose, não descarboxilaram a lisina e foram imóveis. Aliás, no que diz respeito à fermentação da lactose, as amostras por nós estudadas diferem das descritas por SAKASAKI & NAMIOKA, uma vez que as suas fermentaram o carboidrato tardiamente, isto é, após seis dias de incubação, em média<sup>6</sup>. De qualquer maneira, tais proprie-

TABELA II

Características bioquímicas das 13 amostras do colibacilo 0136:K78(B22)

Provas	Amostras												
	193T-64	193TI-64	116-65	11373-65	1367-65	1402-65	292-65	1392-65	13991-66	544-67	1691-67	1655-68	1007-68
Indol .....	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
VM .....	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
VP .....	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Citrato (Simmons) .....	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
H <sub>2</sub> S (TSI) .....	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Fenil-alanina .....	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Urease .....	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
KCN .....	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Lisina .....	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Arginina .....	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ornitina .....	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Malonato .....	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Citrato (Ch) .....	-	+ <sup>4</sup>	-	+ <sup>4</sup>	-	+	-	-	-	-	+ <sup>6</sup>	+	-
Acetato .....	+	-	-	-	-	+ <sup>5</sup>	+ <sup>5</sup>	-	-	-	-	+ <sup>2</sup>	-
Gelatinase .....	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Glicose (gás) .....	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Lactose .....	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sacarose .....	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Manitol .....	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Dulcitol .....	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Salicina .....	-	+ <sup>5</sup>	+ <sup>21</sup>	-	-	+ <sup>8</sup>	-	+ <sup>4</sup>	-	-	+ <sup>10</sup>	-	-
Adonitol .....	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Inositol .....	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sorbitol .....	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Maltose .....	+	+	+ <sup>3</sup>	+	+ <sup>5</sup>	+	+	+ <sup>3</sup>	+ <sup>6</sup>	+	+	+	+
Xilose .....	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Ramnose .....	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+
Arabinose .....	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Trehalose .....	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Celobiose .....	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Glicerol .....	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Rafinose .....	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ONPG .....	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Crescimento em SS .....	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

dades bioquímicas e também o seu poder patogênico apontam definitivamente a necessidade de estudos sobre a posição desta bactéria e outras semelhantes dentro da Família

*Enterobacteriaceae*. É interessante lembrar que não obstante a inclusão oficial destes germes no grupo *Escherichia*<sup>3</sup>, já foi tentada a inclusão de algumas no grupo *Shi-*

*gella*<sup>7</sup> e para SZTURM-RUBISTEN<sup>8</sup> elas constituía um grupo a parte, por ela denominada "Parashigella". A situação torna-se mais complexa quando verificamos que muitas delas possuem antígenos O idênticos aos encontrados em determinados tipos sorológicos de *Shigella*<sup>3</sup>.

#### SUMMARY

##### *Intestinal pathogenicity and biochemical characteristics of E. coli 0136:K78(B22)*

*E. coli* 0136:K78(B22) serotype, first isolated and described by SAKASAKI & NAMIOKA, in Japan, in 1957, was isolated from the feces of 13 patients with enteritis, both children and adults. The bacteria was not found in the feces of 200 normal individuals. The 13 isolated strains were able to determine experimental kerato-conjunctivitis in the guinea-pig and presented biochemical behaviour intermediate to *Shigella* and *Escherichia*; they produced gas in glucose, did not ferment lactose, did not decarboxilate lysine and were non-motile. Some strains did utilize and some did not utilize sodium acetate and Christensen's citrate. The results are discussed, emphasis being made on the need of considering *E. coli* 0136:K78(B22) a bacteria capable of causing intestinal infection both in children and adults and in further studies to solve the position of this and other similar bacteria into the *Enterobacteriaceae* family.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. CARPENTER, P. K.; LAPAGE, S. P. & STEEL, K. J. — *Biochemical Identification of Enterobacteriaceae*. In GIBBS, B. M. & SKINNER, F. A. — Identification methods for microbiologists. London, Academic Press, 1966, pp. 21-33.
2. COSTIN, I. D. — Utilization of sodium acetate by *Shigella* and *Escherichia*. *J. Gen. Microbiol.* 41:23-27, 1965.
3. EDWARDS, P. R. & EWING, W. H. — *Identification of Enterobacteriaceae*. 2nd.ed. Atlanta, Burgess, 1962.
4. ENTEROBACTERIACEAE SUBCOMMITTEE — Report of the Enterobacteriaceae Subcommittee of the nomenclature committee of the International Association of Microbiological Societies. *Int. Bull. Bact. Nomencl. Tax.* 8:17-23, 1958.
5. FERNANDES, M. R. F. & TRABULSI, L. R. — Antigenic identity of culture 193T-64 and *E. coli* 0136:K78(B22). *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 11:101-103, 1969.
6. SAKASAKI, R. & NAMIOKA, S. — Studies on a new *Escherichia coli* type 0136:K78(B22). *Japan. J. Exp. Med.* 27:411-416, 1957.
7. STENZEL, W. — *Sh. scholtensii* und *Sh. manolovii* — zwei Untergruppe D zu stellende provisorische *Shigella* typen. *Z. Hyg. Infektionschr.* 148:433-444, 1962.
8. SZTURM-RUBINSTEN, S.; PLÉCHAUD, D. & CHARPAK, M. — *Shigella*, Alkalescens-Dispar: souches intermédiaires. *Ann. Inst. Pasteur (Paris)* 106:122-126, 1964.
9. TRABULSI, L. R. & EWING, W. H. — Sodium acetate medium for the differentiation of *Shigella* and *Escherichia* cultures. *Publ. Health Lab.* 20:137, 1962.
10. TRABULSI, L. R.; ZULIANI, M. E. & SERRANO, J. A. — On two new enterobacteria pathogenic to the guinea-pig eye (Cultures 185T-64 and 193T-64). *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 7:241-246, 1965.
11. TRABULSI, L. R.; FERNANDES, M. R. F. & ZULIANI, M. E. — Novas bactérias patogênicas para o intestino do homem. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 9:31-39, 1967.

Recebido para publicação em 7/4/1969.