

NOVAS BACTÉRIAS PATOGENICAS PARA O INTESTINO DO HOMEM

Luiz Rachid TRABULSI (1), Maria Regina Ferraz FERNANDES (2)
e Maria Elisa ZULIANI (2)

RESUMO

Foi apresentada parte da experiência dos Autores com 29 amostras de enterobactérias que causam cêrato-conjuntivite experimental no cobaio: *E. coli* 028a28c:B18 (6 amostras), *E. coli* 032 (1 amostra), *E. coli* 0124:B17 (4 amostras), cultura 193T-64 (9 amostras), cultura 185T-64 (8 amostras) e cultura 412-DEC-66 (1 amostra). Com exceção de uma amostra da *E. coli* 028a28c:B18 e outra da *E. coli* 0124:B17, tôdas foram isoladas de pacientes com enterite, crianças e adultos. Um paciente adulto estudado (portador da *E. coli* 032) apresentou nível ascendente de aglutininas homólogas no sôro. O comportamento bioquímico nas provas mais comumente usadas foi variável, mas nenhuma das amostras descarboxilou a lisina (método de Falkow). A sensibilidade a antibióticos (método da diluição em tubo) foi a esperada para as enterobactérias em geral, chamando a atenção, porém, que as 29 amostras foram sensíveis a concentrações de 0,75 a 6,2 µg/ml de Hetacilina.

A pesquisa sistemática das bactérias estudadas nas fezes de 89 crianças normais e de 104 com diarréia simultaneamente com a de shigelas, salmonelas e colibacilos enteropatogênicos revelou os seguintes resultados: tais enterobactérias foram encontradas em 2 (2,24%), shigelas e salmonelas em 1 (1,12%) e colibacilos enteropatogênicos em 4 (4,48%) dos normais; entre os diarréicos 13 (8,64%) apresentaram shigela, 15 (9,74%), *E. coli* enteropatogênica e 9 (5,84%) as bactérias em estudo.

Os resultados foram discutidos dando-se ênfase a importância destas enterobactérias como causa de enterite na criança e no adulto.

INTRODUÇÃO

Este trabalho tem por finalidade apresentar parte de nossa experiência com algumas enterobactérias que causam cêrato-conjuntivite experimental no cobaio, idêntica àquela provocada por culturas virulentas de *Shigella*. Aparentemente, e conforme veremos em seguida, tôdas são enteropatogênicas, podendo causar infecção intestinal tanto na criança como no adulto. A maioria corresponde a tipos sorológicos de colibacilos já

classificados, e, sem exceção, apresentam comportamento bioquímico que seria característico do grupo *Escherichia*. Entretanto, algumas são menos ativas do que a *E. coli* típica e, em virtude dêste fato e da atividade patogênica, tem havido discordância quanto à posição das mesmas dentro da família *Enterobacteriaceae*. SZTURM-RUBINTEN & col.¹⁶ denominaram "Parashigella" as variedades por elas estudadas e STENZEL¹⁵

Departamento de Microbiologia e Imunologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (Diretor: Prof. Dr. Carlos da Silva Lacaz)

(1) Professor-Assistente Docente de Microbiologia e Imunologia, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo; Professor Catedrático de Microbiologia e Imunologia da Faculdade de Ciências Médicas e Biológicas de Botucatu, São Paulo

(2) Bolsistas da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo

bem como MANOLOV⁹ advogaram a inclusão de algumas no gênero *Shigella*.

Na exposição que ora fazemos, não discutiremos problemas de taxonomia e de nomenclatura, mesmo porque somos de opinião que outros estudos são necessários antes de se classificar tais bactérias. Assim, elas serão mencionadas pelas designações mais correntes, provisórias ou não.

Tanto quanto sabemos as seguintes enterobactérias possuem a capacidade de causar cétrato-conjuntivite experimental no cobaio: *E. coli* 028a28c:B18¹⁵, *E. coli* 032²¹, *E. coli* 042²¹, *E. coli* 0124:B17^{14, 17}, cultura 193T-64²⁰, cultura 185T-64²⁰, cultura 412-DEC-66³ e dois tipos de "Parashigella"^{10, 16}.

Em trabalhos a serem publicados, demonstraremos que a cultura 193T-64 é idêntica a *E. coli* 0136:K78(B22)⁴ colibacilo isolado de pacientes com enterite por SAKASAKI & NAMIOKA¹² e que a cultura 185T-64, não apresenta relações antigênicas com qualquer dos colibacilos até então classificados¹⁹; a cultura 412-DEC-66, tem antígeno O semelhante ou idêntico ao da *E. coli* 0144³.

Nossa experiência não se estende a todas as bactérias mencionadas, pois embora venham sendo sistematicamente pesquisadas em nosso laboratório há algum tempo, até agora só encontramos a *E. coli* 028a28c:B18, a *E. coli* 0124:B17, a *E. coli* 032, e obviamente, aquelas descritas por nós (culturas 185T-64, 193T-64 e 412-DEC-66). Dêste modo relataremos apenas os resultados referentes a estas, recomendando ao leitor interessado a bibliografia citada com relação às demais.

A freqüência com que temos encontrado estas bactérias nas fezes de pacientes adultos e de crianças com enterite, bem como a escassez de dados na literatura a respeito da maioria delas, justificam a apresentação que ora fazemos. Esperamos que os dados aqui fornecidos possam ser de utilidade no diagnóstico e mesmo no tratamento das infecções causadas por êstes microrganismos, os quais, considerados em conjunto, aparentemente são mais importantes como causa de enterite do que várias enterobactérias patogênicas clássicas.

MATERIAL E MÉTODOS

Tôdas as culturas estudadas foram isoladas em nosso laboratório, com exceção de 3 amostras da *E. coli* 028a28c:B18, recebidas para identificação da Clínica Infantil do Ipiranga, por intermédio do Dr. Jaime Murahovyschi. As provas bioquímicas foram realizadas de acôrdo com as recomendações do Comitê de Enterobactérias² e de EDWARDS & EWING¹, a descarboxilação da lisina sendo verificada no meio de Falkow. As provas de fermentação de carboidratos foram observadas durante 15 a 30 dias. Os soros O e OK foram preparados de acôrdo com KAUFFMANN⁸ e os antígenos O determinados por provas de aglutinação quantitativas. Os antígenos K foram determinados quantitativamente ou por aglutinação em lâmina. A técnica para inoculação de cobaios (prova da cétrato-conjuntivite) foi a mesma descrita por TRABULSI¹⁸. As provas de sensibilidade a antibióticos foram realizadas pelo método da diluição em tubo, de modo geral, seguindo-se as recomendações de GROVE & RANDALL⁷. Consideramos sensíveis as amostras cujo crescimento foi impedido por concentrações inferiores a 12,5 µg/ml e resistentes, as que proliferam em concentrações de 25 µg/ml ou superiores.

Para avaliarmos a prevalência das bactérias mencionadas em normais e diarreicos, estudamos pela coprocultura 243 crianças, de vários grupos etários, entre setembro de 1965 e julho de 1966. Destas, 89 não apresentavam manifestações intestinais no momento da colheita das fezes e 154 eram portadoras de diarreia de intensidade variável. As fezes foram colhidas por "swab" anal e transportadas para o nosso laboratório em solução conservadora. A sementeira foi feita diretamente em meios de MacConkey e SS e após enriquecimento em Tetracionato, em Ágar verde brilhante e Ágar sulfito de bismuto. Para fins de comparação pesquisamos em todas as crianças estudadas, além das bactérias em questão os colibacilos enteropatogênicos clássicos, shigelas e salmonelas.

RESULTADOS

Nas Tabelas I, II e III encontram-se os dados principais sobre as amostras estuda-

das. Apresentaremos, a seguir, os resultados completos obtidos em cada um dos grupos:

há 2 dias e 4 evacuações diárias. Provas de aglutinação realizadas no 3.º dia de infecção e 2 semanas mais tarde revelaram

TABELA I

Número, origem das amostras e patogenicidade para o olho do cobaio da *E. coli* 028a28c:B18, *E. coli* 032, *E. coli* 0124:B17 e das culturas 193T-64, 185T-64 e 412-DEC-66

Culturas	N.º de amostras	F e z e s				N.º de amostras patogênicas para o olho do cobaio
		Normais	Doentes com diarreia			
			Adultos	Crianças		
				> 1 ano	< 1 ano	
<i>E. coli</i> 028a28c:B18	6	1	0	3	3	6
<i>E. coli</i> 032	1	—	1	—	—	1
<i>E. coli</i> 0124:B17	4	1	2	1	—	4
Cultura 193T-64	9	0	5	1	3	9
Cultura 185T-64	8	0	2	6	—	8
Cultura 412-DEC-66	1	—	—	1	—	1

E. coli 028a28c:B18 — Estudamos 6 amostras, 5 isoladas de pacientes com sintomas de enterite e uma de criança sem perturbação intestinal, no momento da coprocultura. Os portadores sintomáticos apresentavam diarreia com 5 a 10 evacuações diárias. Dêstes, 3 tinham 3 a 6 meses de idade, uma, 1 ano e outra, 4 anos. Todas as amostras causaram cétrato-conjuntivite no cobaio. O comportamento bioquímico foi uniforme nas provas utilizadas (Tabela I) chamando a atenção a fermentação rápida da lactose e a não produção de gás em glicose. Proliferaram mais ou menos do mesmo modo em SS e Mac Conkey, formando colônias vermelhas. A maioria das amostras foi sensível ao Cloranfenicol, Tetraciclina e Neomicina e resistentes à Estreptomina. As 6 foram sensíveis a Hetacilina (Tabela III). Uma apresentou resistência múltipla (Estreptomina, Cloranfenicol e Tetraciclina). As concentrações inibitórias mínimas das amostras sensíveis variaram de 0,37 a 3,1 µg/ml.

E. coli 032 — Encontramos até agora apenas uma amostra. Foi isolada das fezes de uma paciente adulta com diarreia

título ascendente de anticorpos homólogos no sôro (1.^a < 1:4; 2.^a 1:256). A cultura cresceu satisfatoriamente em SS, formando colônias da côr do meio, como também em Mac Conkey. Bioquimicamente (Tabela III) foi muito pouco ativa, não fermentando quaisquer dos carboidratos, com exceção da glicose, onde produziu gás. Foi sensível a Hetacilina, Cloranfenicol, Tetraciclina e Neomicina e resistente à Estreptomina. As concentrações inibitórias mínimas foram de 3,1 a 6,2 µg/ml. Como as demais, causou cétrato-conjuntivite típica no cobaio.

E. coli 0124:B17 — Foram estudadas 4 amostras. Três foram isoladas de pacientes com diarreia e uma de criança de 4 anos sem perturbações intestinais, no momento da coprocultura. Dos portadores sintomáticos, um tinha 1 ano e 2 meses, e os dois outros em torno de 42 anos. Não obtivemos dados com relação às características da diarreia. Com exceção de uma amostra que formou colônias de tamanho reduzido em SS, o crescimento neste meio foi satisfatório. As características bioquímicas podem ser vistas na Tabela II. A lactose foi fermentada en-

tre 6 e 9 dias por tôdas as amostras. Uma amostra apresentou movimento em 48 horas e as 3 outras foram imóveis. Três amostras foram submetidas a provas de sensibilidade, o crescimento de tôdas sendo impedido por concentrações de 0,37 a 3,1 $\mu\text{g/ml}$ de Hetacilina, Estreptomicina, Cloranfenicol, Tetraciclina e Neomicina. Tôdas causaram cétrato-conjuntivite quando inoculadas em cobaio.

Cultura 193T-64 — Foram estudadas 9 amostras, tôdas isoladas de pacientes com sintomas de enterite. Cinco tinham entre 22 e 64 anos, um, cinco anos e 3, 5 meses. O número de evacuações por dia variou de 3 a 4 até 20, alguns pacientes apresentando sangue e catarro nas fezes. Três contavam história de diarréia com duração superior a um mês. Tôdas as amostras cresceram de maneira semelhante em SS e Mac Conkey, formando colônias da côr dos meios

e causaram cétrato-conjuntivite no cobaio. As características bioquímicas (Tabela II) foram homogêneas, com exceção do comportamento em salicina; êste carboidrato não foi fermentado por 7 amostras e fermentado depois de 5 dias por duas. As 9 amostras foram sensíveis à Hetacilina, 7 a Neomicina, 6 ao Cloranfenicol e Tetraciclina e apenas 3 à Estreptomicina (Tabela III). O crescimento das amostras sensíveis foi impedido por concentrações de 0,37 a 3,1 $\mu\text{g/ml}$, com exceção de uma que só o foi por 12,5 $\mu\text{g/ml}$, de Tetraciclina. Ocorreram os seguintes modelos de resistência múltipla: Estreptomicina e Cloranfenicol (1 amostra), Estreptomicina e Tetraciclina (2 amostras), e Estreptomicina, Cloranfenicol, Tetraciclina e Neomicina (1 amostra).

Cultura 185T-64 — Foram estudadas 8 amostras, tôdas isoladas das fezes de pacientes com manifestações de enterite. Duas fo-

TABELA II

Características bioquímicas das amostras de *E. coli* 028a28c:B18, *E. coli* 032, *E. coli* 0124:B17 e das culturas 193T-64, 185T-64 e 412-DEC-66

Culturas	<i>E. coli</i> 028a28c:B18	<i>E. coli</i> 032	<i>E. coli</i> 0124:B17	Cultura 193T-64	Cultura 185T-64	Cultura 412-DEC-66
N.º de amostras ..	6	1	4	9	8	1
Indol	+	-	+	+	+	-
VM	+	+	+	+	+	+
VP	-	-	-	-	-	-
Citrato (Simmons)	-	-	-	-	-	-
H ₂ S	-	-	-	-	-	-
Urease	-	-	-	-	-	-
Fenil-alanina	-	-	-	-	-	-
Gelatina	-	-	-	-	-	-
Lisina	-	-	-	-	-	-
Movimento	-	-	- ou +	-	-	-
Glicose (gás)	-	+	+	+	+	+
Lactose	+	-	(+)	-	(+) ou -	+
Sacarose	-	-	-	-	-	(+)
Salicina	-	-	-	(+) ou -	+ (+) ou -	-
Manitol	+	-	+	+	+	+
Adonitol	-	-	-	-	-	-
Inositol	-	-	-	-	-	-
Crescimento em SS	+	+	+	+	+	+

+ = Prova positiva em 1 a 2 dias

(+) = Prova positiva depois de 2 dias

- = Prova negativa. Os carboidratos foram observados durante 15-30 dias

ram provenientes de adultos (27 e 54 anos) e uma de criança cuja idade não nos foi fornecida. As cinco restantes foram isoladas de crianças com idade variando de 1 a 5 anos. O número de evacuações variou de 4 a 15 por dia. Tôdas as amostras cresceram satisfatoriamente em Mac Conkey e SS, formando colônias lactose negativas. As colônias das 5 amostras que fermentaram a lactose, apresentaram papilas vermelhas depois de 4 a 5 dias em meio de Mac Conkey deixado à temperatura ambiente. Estas papilas eram compostas de células que fermentavam a lactose em 24 horas. Aliás, fenômeno semelhante foi observado em colônias de outras destas enterobactérias, mas o mesmo não foi investigado em detalhes. Entretanto, linhagens puras dos dois tipos de colônias provenientes de uma amostra da cultura 185T-64 não apresentaram outras diferenças bioquímicas, e foram igualmente patogênicas para o ôlho do cobaio. O comportamento bioquímico das 8 amostras foi homogêneo, exceto em relação à lactose e salicina (Tabela II). A primeira não foi fermentada por 3 amostras e foi fermentada entre 3 e 5 dias pelas cinco restantes. A salicina não foi fermentada por 1 amos-

tra e 7 acidificaram o meio entre 2 e 8 dias. Tôdas as amostras causaram cétrato-conjuntivite no cobaio. Quanto ao antibiograma, as 8 amostras foram sensíveis à Hetacilina e à Neomicina, 7 à Tetraciclina e ao Cloranfenicol e apenas 3 à Estreptomina (Tabela III). Apenas 1 amostra apresentou resistência múltipla (Cloranfenicol e Tetraciclina). O crescimento das amostras sensíveis foi impedido por concentrações de 0,75 a 1,5 µg/ml dos antibióticos utilizados.

Cultura 412-DEC-66 — Apenas uma amostra foi isolada até o momento. O portador era uma criança de 2 anos e 6 meses com diarreia, apresentando 10 evacuações por dia. O crescimento da cultura foi discretamente impedido em SS, as colônias sendo vermelhas neste meio e em Mac Conkey. De tôdas as amostras patogênicas para o ôlho do cobaio, esta foi a mais próxima da *E. coli* típica, bioquimicamente (Tabela III). A lactose foi fermentada em 24 horas e a sacarose depois de 4 dias. Foi resistente à Estreptomina e sensível a concentrações de 0,75 a 6,2 µg/ml dos demais antibióticos.

TABELA III

Sensibilidade a antibióticos das amostras de *E. coli* 028a28c:B18, *E. coli* 032, *E. coli* 0124:B17, culturas 193T-64, 185T-64 e 412-DEC-66

Culturas	<i>E. coli</i> 028a28c:B18	<i>E. coli</i> 032	<i>E. coli</i> 0124:B17	Cultura 193T-64	Cultura 185T-64	Cultura 412-DEC-66	% S
N.º de amostras ..	6	1	3	9	8	1	29
Hetacilina	S	S	S	S	S	S	100
Estreptomina	S (1) R (5)	R	S	S (3) R (6)	S (3) R (5)	S	37,9
Cloranfenicol	S (5) R (1)	S	S	S (6) R (3)	S (7) R (1)	S	79,3
Tetraciclina	S (5) R (1)	S	S	S (6) R (3)	S (7) R (1)	S	79,3
Neomicina	S	S	S	S (7) R (2)	S	S	89,3

S = sensível (crescimento impedido por 12,5 µg ou menos do antibiótico por ml)
R = resistente (crescimento presente em 25 µg ou mais por ml do antibiótico)

Prevalência das culturas nas fezes de crianças normais e diarréicas

Verifica-se na Tabela IV que somente uma amostra da *E. coli* 028a28c:B18 e outra da *E. coli* 0124:B17 foram encontradas em crianças sem manifestações intestinais no momento da coprocultura. As demais foram encontradas apenas nas fezes de crianças com enterite. É de se destacar que, nas 154 crianças com diarréia estas bactérias ocorreram na freqüência de 5,84%, freqüência esta superior a encontrada para salmonelas e relativamente próxima da observada para shigelas.

TABELA IV

Freqüência de isolamento de *E. coli* enteropatogênica, *Shigella*, *Salmonella* e de enterobactérias causadoras de cérato-conjuntivite experimental no cobaio, das fezes de crianças normais e diarréicas na cidade de São Paulo

	Normais (89)	Diarréicas (154)
<i>Shigella flexneri</i> ..	1	9
<i>Shigella sonnei</i> ...	0	3
<i>Shigella boydii</i>	0	1
Total	1 (1,12%)	13 (8,64%)
<i>Salmonella</i>	1 (1,12%)	
<i>E. coli</i> 026:B6	1	4
<i>E. coli</i> 055:B5	0	2
<i>E. coli</i> 0111:B4 ...	1	3
<i>E. coli</i> 0119:B14 ..	1	4
<i>E. coli</i> 0127:B8 ...	0	2
<i>E. coli</i> 0128:B12 ..	0	0
Total	4 (4,48%)	15 (9,74%)
<i>E. coli</i> 0124:B17 ..	1	1
<i>E. coli</i> 028a28c:B18	1	3
Cultura 185T-64 ..	0	3
Cultura 193T-64 ..	0	1
Cultura 412-DEC-66	0	1
Total	2 (2,24%)	9 (5,84%)

DISCUSSÃO

A rigor ainda não dispomos de dados definitivos sobre a enteropatogenicidade de todas as bactérias aqui descritas e, por esta razão, poderia parecer prematura a idéia de as considerarmos como agentes patogêni-

cos para o intestino do homem. Do mesmo modo, também poderia parecer inadequado incluímos neste trabalho a *E. coli* 0124:B17, uma vez que este microrganismo é considerado enteropatogênico há bastante tempo¹. Justificamos sua inclusão porque a característica que o coloca ao lado das demais enterobactérias em estudo só recentemente foi descoberta^{14, 17}. Argumento semelhante poderia ser citado a favor da inclusão da *E. coli* 028a28c:B18, mas, de modo geral, esta bactéria, ao contrário da outra, não é colocada entre os colibacilos enteropatogênicos clássicos¹⁸. Deste modo, não haveria, contradição em aceitá-la como novo germe enteropatogênico.

Quanto à ação patogênica para o intestino do homem, várias são as evidências que indicam serem tais bactérias capazes de causar infecções intestinais. Entre estas, estão a capacidade de causar cérato-conjuntivite no cobaio, alguns estudos experimentais no homem e várias observações clínico-epidemiológicas. A cérato-conjuntivite experimental do cobaio as aproximam bastante das shigelas, pois, além do processo ser igual sob o ponto de vista clínico^{15, 16, 17}, segue-se à infecção imunidade local cruzada relativamente duradoura^{6, 9, 14, 16, 20}. A identidade dos processos causados pelos dois grupos de bactérias e, em particular, a imunidade local cruzada, sugerem mecanismos patogênicos bastante próximos, se não idênticos, e assim seria de se supor atividade semelhante ao nível do intestino do homem. Entretanto, verificações de FORMAL & col.⁴, a respeito de uma cultura híbrida, obtida no laboratório, por conjugação entre *Shigella* e *E. coli*, capaz de causar cérato-conjuntivite no cobaio, mas, incapaz de lesar o intestino do animal, na mesma intensidade que a amostra inicial de *Shigella*, sugere a necessidade de se averiguar se os dois grupos de microrganismos possuem o mesmo poder invasor. Este fato, evidentemente, não invalida a enteropatogenicidade dos germes em discussão, mesmo porque SAKASAKI & NAMIOKA¹² e RÉDEY & CSIZMAZIA¹¹ demonstraram que a ingestão, por voluntários, respectivamente da *E. coli* 0136:B22 e da *E. coli* 0143, acompanhou-se de manifestações de enterite infecciosa. Além disto, observações epidemiológicas e clínicas sugerem enteropatogenicidade, tanto para a criança como para o adulto^{9, 10, 11, 13, 15}. Podemos

acrescentar aos dados da literatura, os do presente trabalho. Das 29 amostras estudadas, 27 foram isoladas de indivíduos com perturbações intestinais e um paciente adulto investigado desenvolveu anticorpos homólogos no soro em título relativamente elevado (1:256). Somem-se a estes fatos, que é grande o número de coproculturas realizadas em indivíduos normais em nosso laboratório e que a freqüência destas bactérias nas fezes das crianças com diarreia foi bem superior à observada nas crianças normais (Tabela IV). Tal conjunto de evidências não parece deixar dúvidas quanto ao poder enteropatogênico destas bactérias, tanto para a criança como para o adulto. Aliás, neste particular, elas também se aproximam das shigelas, diferindo acentuadamente dos colibacilos enteropatogênicos clássicos. Embora não tenhamos a intenção de discutir sua classificação desejamos salientar a inconveniência de se deixar algumas delas, como a *E. coli* 0124:B17 entre os colibacilos mencionados, pois a enteropatogenicidade dos mesmos é estritamente vinculada à criança e, em particular, à criança com menos de 6 meses de idade.

As provas bioquímicas realizadas (Tabela II) tão somente tendo-se em vista o reconhecimento prático destas enterobactérias, não permitem conclusões quanto as características que seriam peculiares a cada tipo ou a todos em conjunto, uma vez que é pequeno o número de amostras estudadas. Não obstante, observando-se os resultados obtidos com cada um dos tipos, encontram-se sempre particularidades que combinadas podem permitir suspeitar-se da presença dos mesmos. Estas dizem respeito a produção de gás em glicose, a descarboxilação da lisina, a fermentação da lactose e sacarose, a produção de indol, a motilidade e no caso da *E. coli* 032, a fermentação do manitol. Merece especial destaque, o fato de tôdas as culturas não descarboxilarem a lisina. Os resultados por nós obtidos com as provas realizadas são concordantes com os mencionados por STENZEL¹⁵ e SERENY¹⁴ para a *E. coli* 028a28c:B18 e a *E. coli* 0124:B17, respectivamente.

Quanto à sensibilidade a antibióticos (Tabela III) os resultados podem ser considerados como os esperados para as enterobactérias em geral, sendo de se notar, porém,

a ocorrência de resistência múltipla em várias amostras. Além disto, devemos ressaltar que as 29 amostras foram sensíveis à Hetacilina, observação esta que poderá ter significado na classificação destas bactérias, uma vez que as shigelas, ao contrário dos colibacilos, só excepcionalmente apresentam resistência a este antibiótico²². Outro antibiótico satisfatoriamente ativo foi a Neomicina e em segundo plano o Cloranfenicol e a Tetraciclina.

Tendo-se em vista a freqüência relativamente elevada destas enterobactérias nas infecções intestinais do adulto e da criança tornam-se desnecessários alguns comentários sobre o isolamento e identificação das mesmas. Inicialmente deve-se ter em mente que elas crescem em Mac Conkey e SS (Tabela II), formando colônias da cor dos meios ou vermelhas, segundo fermentem ou não a lactose. Dêste modo, colônias das duas variedades e de ambos os meios devem ser transferidas e submetidas a provas bioquímicas e sorológicas, as últimas em lâminas e tubos, do mesmo modo como se faz para os colibacilos enteropatogênicos. Empregamos em nosso laboratório soros OK polivalentes, os quais facilitam sobremaneira a detecção das culturas para estudos posteriores.

No estado atual dos nossos conhecimentos não podemos ainda estabelecer critérios seguros para o reconhecimento destes germes.

Tomando por base nossa experiência atual acreditamos que em rotina seria mais prudente considerar-se determinada amostra de enterobactéria idêntica a uma das mencionadas, quando houvesse concordância entre provas bioquímicas, provas quantitativas de aglutinação e provas de patogenicidade para o olho do cobaio. Muitas são idênticas ou semelhantes a tipos de *Shigella*, pelo menos com relação ao antígeno O¹ e trabalhos em andamento em nossos laboratórios demonstram que algumas delas possuem antígenos estreitamente relacionados ou idênticos aos de outras enterobactérias não patogênicas para o olho do cobaio. Estas foram, porém, bioquimicamente diferentes das patogênicas. É possível que para o futuro possamos nos guiar apenas pelos exames bioquímico e sorológico, pois até agora não houve discordância entre os resultados destes e a capacidade de causar cétrato-conjuntivite experimental no cobaio.

SUMMARY

New enteric bacteria pathogenic for man

Part of the Authors experience with 29 enterobacteria strains capable of causing experimental kerato-conjunctivitis in the guinea pig has been presented. The 29 strains were distributed as follow: *E. coli* 028a28c:B18 (6 strains), *E. coli* 032 (1 strain), *E. coli* 0124:B17 (4 strains), culture 193T-64 (9 strains), culture 185T-64 (8 strains) and culture 412-DEC-66 (1 strain). With exception of 1 strain of the *E. coli* 028a28c:B18 and another one of the *E. coli* 0124:B17 all of them were isolated from patients with symptoms of enteritis, both children and adults. An adult patient studied (carrier of the *E. coli* 032 strain) showed an increasing titer of homologous agglutinins in serum. The biochemical reactions given by all the strains in tests, more frequently used in the identification of the enteric organisms was not homogeneous but none of the 29 strains was able to decarboxylate lysine (Falkow method). The sensitivity to antibiotics by the tube test dilution method was the one expected for the enteric bacteria in general but it is interesting to notice that the 29 strains were sensitive to 0.75 to 6.2 µg/ml of Hetacilin.

The prevalence of these bacteria, *Shigella*, *Salmonella* and enteropathogenic *E. coli* in the feces of 89 children without intestinal disturbances and in the feces of 153 with symptoms of enteritis was investigated. In the first group the carrier rate was of 1.12 per cent for *Shigella* and *Salmonella*, 4.48 per cent for enteropathogenic *E. coli* and of 2.24 per cent for the described bacteria; among the children of the second group these bacteria were found in 5.84 per cent, *Shigella* in 8.64 per cent and enteropathogenic *E. coli* in 9.74 per cent of the cases. The results were discussed with emphasis on the importance of the described bacteria as a cause of enteritis in adults and children.

AGRADECIMENTOS

A Johnson & Johnson do Brasil e ao Instituto de Estudos e Pesquisas em Gastrenterologia de São Paulo pelo auxílio financeiro prestado e aos Laboratórios Bristol-Labor-

terápica pelo fornecimento dos antibióticos utilizados.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. EDWARDS, P. R. & EWING, W. H. — *Identification of Enterobacteriaceae*. 2nd ed. Atlanta, Georgia, Burgess, 1962.
2. ENTEROBACTERIACEAE SUBCOMMITTEE — Report of the Enterobacteriaceae Subcommittee of the nomenclature committee of the International Association of Microbiological Societies. *Intern. Bull. Bact. Nomen. Tax.* 8:17-23, 1958.
3. FERNANDES, M. R. F. & TRABULSI, L. R. — A new *Escherichia coli* serotype causing experimental kerato-conjunctivitis in the guinea-pig (Culture 412-DEC-66). (Preliminary report). *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 9:62, 1967.
4. FERNANDES, M. R. F. & TRABULSI, L. R. — Trabalho a ser publicado.
5. FORMAL, S. B.; LABREC, E. H.; KENT, T. H. & FALKOW, S. — Abortive intestinal infection with an *Escherichia coli-Shigella flexneri* hybrid strain. *J. Bact.* 89: 1374-1382, 1965.
6. GEKKER, V. D. & BELAIA, Iv. A. — Immunity in experimental dysenteric kerato-conjunctivitis. *J. Microb. Epidem. Immunol.* 29:351-356, 1958.
7. GROVE, D. C. & RANDALL, W. — *Assay methods of antibiotics. A laboratory manual*. Antibiotics monographs no. 2. New York, Medical Encyclopedia, 1955.
8. KAUFFMANN, F. — *Enterobacteriaceae*. Copenhagen, Ejnar Munksgaard, 1954.
9. MANOLOV, D. G. — A new species of Bacterium of the genus *Shigella* organisms. *J. Microb. Epidem. Immunol.* 29-II:1979-1982, 1958.
10. PIECHAUD, D. & SZTURM-RUBINSTEN, S. — Syndrome intestinal mortel dû a une "Parashigella" sérotype 208. *Presse Méd.* 73:1697-1698, 1965.
11. RÉDEY, B. & CSIZMAZIA, F. — The detection of unknown enteric pathogens by conjunctival infection of guinea-pigs. *Acta Microbiol. Acad. Sci. Hung.* 7:11-18, 1960.
12. SAKASAK, R. & NAMIOKA, S. — Studies on a new *Escherichia coli* type: 0136:K 78 (B22). *Japan J. Exp. Med.* 27:411-416, 1957.
13. SEELIGER, H. — Ein wenig bekannter *Escherichia* Typ als wahrscheinliche Ursache

- ruhrähnlicher Erkrankungen. *Z. Hyg. Infektionsch.* 135:526-535, 1952.
14. SERÉNY, B. — Biochemical reactions and virulence of *E. coli* 0124:K72 (B17). *Acta Microbiol. Acad. Sci. Hung.* 10:11-18, 1963.
15. STENZEL, W. — *Sh. schottensii* und *Sh. manolovii* — zwei Untergruppe D zu stellende provisorische *Shigella* typen. *Z. Hyg. Infektionschr.* 148:433-444, 1962.
16. SZTURM-RUBINSTEN, S.; PIÉCHAUD, D. & CHARPAK, M. — *Shigella, Alkalescens-Dispar*: souches intermédiaires. *Ann. Inst. Pasteur* 106:122-126, 1964.
17. TRABULSI, L. R. — *Cérato-conjuntivite experimental do cobaio, por enterobactérias. Aspectos etiológicos e sorológicos.* Tese de Docência-Livre. São Paulo, 1964.
18. TRABULSI, L. R. — Experimental keratoconjunctivitis of the guinea-pig by enterobacteria. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 7:16-23, 1965.
19. TRABULSI, L. R. & FERNANDES, M. R. F. — Trabalho a ser publicado.
20. TRABULSI, L. R.; ZULIANI, M. E. & SER-RANO, 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.
21. VÖRÖS, S.; RÉDEY, B. & CSIZMAZIA, F. — Antigenic structure of a new enteropathogenic *E. coli* strain. *Acta Microbiol. Acad. Sci. Hung.* 11:125-129, 1964.
22. ZULIANI, M. E. & TRABULSI, L. R. — Trabalho a ser publicado.

Recebido para publicação em 31/10/1966.