

ESTUDOS SOBRE A *E. COLI* 0111:B4. II — ATIVIDADE COLICINOGENICA

Maria Elisa ZULIANI (1) e Luiz Rachid TRABULSI (2)

RESUMO

Foi investigada a atividade colicínogênica de 327 amostras da *E. coli* 0111:B4, pelo método de ABBOTT & SHANNON. Destas, 55 eram imóveis e 272 pertenciam ao tipo 0111a111b:B4:H2. Para o estudo das 136 primeiras amostras, foram utilizadas 50 amostras indicadoras. Destas, foram selecionadas as sensíveis, em número de 11, completando-se o estudo das demais amostras. Apenas 26,09% das amostras produziram colicícinas ativas contra qualquer uma das amostras indicadoras.

Os modelos de atividade são apresentados e os resultados discutidos.

INTRODUÇÃO

Demonstramos, em trabalho anterior⁵, que dos tipos sorológicos da *E. coli* 0111:B4 que ocorrem em nosso meio, predomina a *E. coli* 0111a111b:B4:H2. De fato este tipo representou em torno de 78% de 350 amostras da *E. coli* 0111:B4, por nós investigadas. Por outro lado, o estudo de suas características bioquímicas, não foi de auxílio em subdividi-lo porque, das 272 amostras encontradas, 251 apresentaram o mesmo comportamento no grande número de provas utilizadas. Diante da evidente importância epidemiológica da *E. coli* 0111a111b:B4:H2, resolvemos investigar sua atividade colicínogênica com o objetivo principal de verificar se a colinotíпия poderia ser de algum valor em sua subdivisão. Como as amostras imóveis do mesmo grupo antigênico foram relativamente freqüentes⁵ as incluímos também no estudo.

MATERIAL E MÉTODOS

1) Amostras

Determinamos a atividade colicínogênica de 272 amostras da *E. coli* 0111a111b:B4:H2 e de 55 amostras da *E. coli* 0111a111b:B4:I

(imóvel), isoladas de crianças com diarreia, entre 1963 e 1968. A identificação sorológica destas amostras foi descrita em trabalho anterior⁵. Todas foram mantidas em tubos de ágar nutriente, fechados com rolha de cortiça parafinada, em temperatura ambiente e protegidos da luz.

Foram usadas como amostras indicadoras as seguintes:

a) 20 amostras de *E. coli* 0111a111b:B4 recentemente isoladas (amostras n.ºs 281 a 300).

b) 15 amostras indicadoras de atividade colicínogênica em *Shigella sonnei* recebidas da Inglaterra, através da Dra. P. Carpenter, do "Public Health Laboratory — Colindale". (Amostras 2, 56, 17, 2M, 56/56, R1, R6, 2/7, 2/64, 2/15, R5, Row, M19 e 38).

c) 6 amostras de *Shigella sonnei* isoladas em nosso meio (*Sh.* 32, *Sh.* 33, *Sh.* 34, *Sh.* 37, *Sh.* 38 e *Sh.* 40).

d) 6 amostras de outros tipos de *Escherichia coli* sendo: uma da *E. coli* 0125:B15 (125), duas da *E. coli* 055:B5 (55-1 e 55-2) e duas da *E. coli* 0119:B14 (119-1 e 119-2) e uma *E. coli* K₁₂ (K12).

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

(1) Professor-Assistente-Doutor do Departamento de Microbiologia e Imunologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, Brasil

(2) Professor de Bacteriologia do Departamento de Microbiologia e Imunologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, Brasil

e) Amostras de outras enterobactérias incluindo uma de *Salmonella typhi*, uma de *Salmonella typhi-murium* e uma de *Providencia*.

Depois de estudarmos as 136 primeiras amostras de *E. coli* 0111a111b:B4:H2 e imóveis, selecionamos as indicadoras que nos pareciam mais promissoras e completamos os estudos das 191 amostras restantes. Permaneceram como indicadoras:

- 1) Amostra 293 (*E. coli* 0111a111b:B4:H2)
- 2) Amostra 300 (*E. coli* 0111a111b:B4:H2)
- 3) Amostra 2 (*Shigella sonnei*)
- 4) Amostra 56 (*Shigella sonnei*)
- 5) Amostra 17 (*Shigella sonnei*)
- 6) Amostra 2/15 (*Shigella sonnei*)
- 7) Amostra Row (*E. coli*)
- 8) Amostra 119-2 (*E. coli* 0119:B14)
- 9) Amostra Sh. 33 (*Shigella sonnei*)
- 10) Amostra 125 (*E. coli* 0125:B15)
- 11) Amostra K12 (*E. coli* K₁₂)

2) Método

Foi empregado o de ABBOTT & SHANNON¹.

A cultura a ser investigada era semeada a partir de um caldo de 24 horas sobre o diâmetro de uma placa de ágar-sangue de cavalo, com o auxílio de uma tira de papel de filtro de 1 cm de largura. O preparo da placa de ágar-sangue era feito da seguinte maneira: sobre uma camada solidificada de ágar nutriente Oxoid, de aproximadamente 2 mm de altura, eram derramados 20 ml de ágar nutriente Oxoid, con-

tendo sangue de cavalo a 5%. A tampa de todas as placas era revestida com papel de filtro. Uma vez semeada, a placa era incubada durante 48 horas a 37°C. Após o período de incubação eram colocadas algumas gotas de clorofórmio sobre o papel de filtro, deixando-se a placa invertida por 30 minutos. A seguir, raspava-se o crescimento com a borda de uma lâmina de microscopia estéril, removendo-se um pouco do ágar em uma das extremidades do diâmetro semeado. Era adicionado, por mais 45 minutos, clorofórmio. Terminado este período o papel de filtro era removido deixando-se a placa entreaberta, durante 30 minutos aproximadamente, para a evaporação completa do clorofórmio. A partir de um caldo recente (3 horas) eram semeadas as amostras indicadoras com uma alça de platina de 3 mm de diâmetro. A semeadura era feita cruzando-se perpendicularmente o diâmetro originalmente semeado. Tendo semeado todas as amostras indicadoras incubava-se por 24 horas a 37°C. A leitura era feita observando-se, no cruzamento da amostra indicadora com a em investigação, sensibilidade total, representada pela ausência de crescimento; sensibilidade parcial, pela presença de formas de resistência e resistência, que se exprimia pelo crescimento ininterrupto da amostra indicadora.

RESULTADOS

Verifica-se na Tabela I que somente 71 amostras (26,10%) do tipo 0111a111b:B4:H2 e 16 (29,09%) das imóveis, produziram colicinas ativas contra qualquer uma das amostras indicadoras.

TABELA I

Número de amostras de *E. coli* 0111a111b:B4:H2 e 0111a111b:B4:I produtoras de colicinas ativas contra qualquer uma das amostras indicadoras

Tipos sorológicos	N.º amostras	Amostras ativas		Amostras inativas	
		N.º	%	N.º	%
<i>E. coli</i> 0111a111b:B4:H2	272	71	26,10	201	73,90
<i>E. coli</i> 0111a111b:B4:I	55	16	29,09	39	70,91
T o t a l	327	87	26,60	240	73,40

Os eventuais colicinotipos são apresentados nas Tabelas II e III. Nota-se que aproximadamente 50% das amostras ativas do tipo 0111a111b:B4:H2 se restringem a dois colicinotipos. Com relação ao tipo 0111a111b:

B4:I, observou-se praticamente o mesmo fenômeno, pois das 16 amostras ativas, nove apresentaram o mesmo modelo de atividade sobre as amostras indicadoras.

TABELA II

Colicinotipos da *E. coli* 0111a111b:B4:H2

Amostras indicadoras	293	300	2	56	17	2/15	Row	119-2	Sh.33	125	K12	Total
Colicinotipos												
1	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	19
2	—	—	—	+	+	—	+	—	+	—	+	15
3	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—	4
4	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—	+	4
5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	3
6	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	3
7	+	+	—	+	+	—	+	—	+	—	+	3
8	+	+	—	+	+	—	+	—	+	—	+	3
9	—	—	—	—	—	—	+	+	—	—	—	2
10	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—	2
11	—	—	—	+	—	—	+	—	+	—	+	2
12	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—	1
13	—	—	—	—	—	—	+	—	—	+	—	1
14	—	—	+	—	+	—	—	—	—	—	—	1
15	—	—	+	+	—	—	+	—	+	—	+	1
16	+	—	—	—	—	+	+	—	—	+	—	1
17	+	+	+	+	+	—	—	+	+	+	+	1
18	+	—	—	+	+	—	—	—	+	+	—	1
19	+	+	—	—	—	—	+	—	—	+	—	1
20	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	1
21	+	+	+	+	+	—	+	—	—	+	—	1
22	—	—	—	+	+	—	+	—	+	—	+	1

+ = Atividade colicinogênica
— = Sem atividade colicinogênica

71

TABELA III

Colicinotipos da *E. coli* 0111a111b:B4:I

Amostras indicadoras	293	300	2	56	17	2/15	Row	119-2	Sh.33	125	K12	Total
Colicinotipos												
1	—	—	—	+	+	—	+	—	+	—	+	9
2	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—	+	4
3	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—	1
4	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	1
5	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	1

+ = Atividade colicinogênica
— = Sem atividade colicinogênica

16

DISCUSSÃO

É evidente, pelos resultados obtidos, que a colinotipia não foi um método satisfatório para a divisão da *E. coli* 0111a111b:B4:H2 e da *E. coli* 0111a111b:B4:I, pois o número de amostras ativas foi extremamente baixo e na realidade, seu eventual valor é comparável ao das provas bioquímicas⁵. Naturalmente, estes resultados só podem ser válidos para as amostras indicadoras por nós selecionadas. Devemos lembrar, porém, que a seleção abrangia número relativamente grande de amostras, estando entre elas aquelas que poderiam ser consideradas as mais adequadas para estudo desta natureza³. Assim, é possível, que seja mesmo baixa a atividade colicinogênica dos tipos sorológicos da *E. coli* 0111:B4, o que está em desacôrdo com os resultados referidos recentemente por CARRIA & OLA². Segundo estes Autores, é alto o número de amostras colicinogênicas entre os colibacilos enteropatogênicos, incluindo os do grupo 0111:B4. Os Autores trabalharam, porém, com pequeno número de amostras, tôdas provenientes de um só hospital.

Por outro lado, KUDLAY & col.⁴ referem que entre muitas amostras de colibacilos do grupo 0111 sômente 10,7% mostram atividade colicinogênica. De maneira interessante encontraram relação inversa entre colicinogenia e lisogenia, no sentido de que as amostras lisogênicas raramente eram colicinogênicas. A possível influência da lisogenia nos resultados obtidos por nós, está sendo investigada.

SUMMARY

Studies on E. coli 0111:B4. II — Colicinogenic activity

The colicinogenic activity of 327 strains of *E. coli* 0111:B4 was determined by the me-

thod of ABBOTT & SHANNON. Of the 327 strains, 55 were non-motile (*E. coli* 0111:B4:I) and 272 belonged to serotype 0111a111b:B4:H2. For the study of the first 136 strains, 50 indicators strains were utilized. After this, the eleven sensitive strains were selected and the study of the others strains was completed. Only 26.60% of the strains tested produced colicins actives against one or more of the indicators strain (Table I).

The activity patterns are shown (Tables II and III) and the results discussed.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. ABBOTT, J. D. & SHANNON, R. — A method for typing *Shigella sonnei*, using colicins production as a marker. *J. Clin. Path.* 11:71-77, 1958.
2. CARRIA, M. A. & OLA, F. N. — Actividad colicinogênica y espectro de colicino-sensibilidad de *Escherichia coli* enteropatôgenos aislados de procesos diarreicos agudos de lactantes. *Rev. Lat.-Amer. Microbiol. Parasitol.* 9:49-58, 1967.
3. FREDERICQ, P. — Colicins. *Ann. Rev. Microbiol.* 11:7-22, 1957.
4. KUDLAY, D. G.; PETROVSKAYA, V. G. & TASHPULATOV, R. Y. — Episomic determinants of heredity in the Enterobacteriaceae. In COX, B. S. & HUIZINGA, J. — *Heredity and Variability of Micro-organisms*. Amsterdam, Excerpta Medica Foundation, 1962, pp. 15-18.
5. ZULIANI, M. E. & TRABULSI, L. R. — Estudos sobre a *E. coli* 0111:B4. I — Tipos sorológicos e comportamento bioquímico. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 11:250-257, 1969.

Recebido para publicação em 27/3/1969.