

ESTUDOS SÔBRE A *E. COLI* 0111:B4. III — SENSIBILIDADE “*IN VITRO*” À SULFADIAZINA E A SEIS ANTIBIÓTICOS

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

RESUMO

Determinou-se a sensibilidade “*in vitro*” de 347 amostras de *E. coli* 0111a111b:B4, isoladas entre 1963 e 1968, à sulfadiazina, estreptomina, tetraciclina, cloranfenicol, kanamicina, cefalotina e à hetacilina. Das 347 amostras, 270 pertenciam ao tipo 0111a111b:B4:H2, 9 ao tipo 0111a111b:B4:H12, 55 eram imóveis (0111a111b:B4:I) e, em 13, o antígeno H não foi determinado (0111a111b:B4:H-). O método usado foi o da diluição em placa, as concentrações das drogas variando entre 1 e 100 $\mu\text{g/ml}$ para as primeiras 246 amostras e entre 1 e 1000 $\mu\text{g/ml}$ para as restantes 101. Considerou-se como resistentes as amostras que proliferavam em 10 $\mu\text{g/ml}$ ou mais dos antibióticos e em 100 $\mu\text{g/ml}$ ou mais de sulfadiazina. O número médio de amostras resistentes foi de 88,76, 90,20, 76,08, 61,09, 61,67, 28,53 e 33,42% com relação à sulfadiazina, estreptomina, tetraciclina, cloranfenicol, kanamicina, cefalotina e hetacilina, respectivamente. Somente 10 amostras sensíveis a qualquer uma das drogas foram encontradas. Também, foi extremamente baixo o número de amostras resistentes a uma só droga (9 à sulfadiazina, 4 à tetraciclina, 3 à estreptomina e 1 à kanamicina). Nenhuma amostra com resistência exclusiva ao cloranfenicol, cefalotina ou hetacilina foi encontrada. A maioria das amostras foi resistente a 4, 5, 6 e 7 drogas, 55 das últimas tendo sido encontradas. O número das amostras resistentes à sulfadiazina e à estreptomina foi bastante elevado desde 1963 (90% em média das amostras). O número de amostras resistentes à tetraciclina, kanamicina e cloranfenicol aumentou intensamente a partir de 1963, atingindo as cifras de 97,72, 95,45 e 88,63% em 1968 com relação às 3 drogas, respectivamente. O número das resistentes à cefalotina e à hetacilina, embora relativamente elevado, não sofreu modificações nos 5 anos de estudo. O grande aumento no número de amostras resistentes à tetraciclina, cloranfenicol e kanamicina, foi consequência da seleção de amostras resistentes às 3 drogas e mais à sulfadiazina e à estreptomina. Estas amostras ocorreram numa frequência de 17,07% em 1963, passando a representar mais de 80% de todas as amostras isoladas em 1967 e 1968. Os níveis de resistência a cada uma das drogas variaram, com exceção dos da sulfadiazina. A *E. coli* 0111a111b:B4:H12, ao contrário das demais amostras, foi resistente somente a duas drogas. Os resultados são discutidos.

INTRODUÇÃO

Entre as bactérias que causam enterite infantil, uma das mais importantes é a *E. coli* 0111:B4. Em nosso meio, esta bactéria representa 60% dos colibacilos enteropatogê-

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

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

nicos, ocorrendo em crianças diarreicas com uma frequência bastante superior a de *Salmonella* e idêntica ou superior a de *Shigella*^{4,5}. Por outro lado, vem se verificando ultimamente grande aumento no número de amostras de enterobactérias resistentes a drogas, em particular daquelas simultaneamente resistentes a várias drogas. Em trabalho recente⁶ e em outros em andamento, demonstramos intensa seleção de amostras de *Shigella* e de outros Gram-negativos simultaneamente resistentes a sulfadiazina, estreptomicina, tetraciclina, cloranfenicol e a kanamicina. Paralelamente ao aumento do número destas amostras, houve diminuição daquelas resistentes somente a uma droga, sendo extremamente raras ou não se encontrando amostras com resistência exclusiva a um só antibiótico.

No presente trabalho relatamos os resultados de estudos realizados com 347 amostras de *E. coli* 0111:B4, quanto a resistência e seus níveis a sulfadiazina e a seis antibióticos de largo espectro.

MATERIAL E MÉTODOS

Amostras: Foram estudadas 347 amostras, todas pertencendo ao subgrupo 0111a

111b:B4. Das 347 amostras, 270 possuíam o antígeno H2 (0111a111b:B4:H2), 9 o antígeno H12 (0111a111b:B4:H12), 55 eram imóveis (0111a111b:B4:I) e em 13 o antígeno H não foi determinado (0111a111b:B4:H-). Ao exame bioquímico, foi possível verificar-se que uma amostra imóvel comportava-se de maneira idêntica a *E. coli* 0111a111b:B4:H12 e todas as restantes, bem como aquelas cujos antígenos H não foram caracterizados comportavam-se de maneira idêntica a *E. coli* 0111a111b:B4:H2⁷. Com exceção de 9 amostras imóveis, gentilmente enviadas pela Dra. Diva Montenegro, do Hospital Pedro II do Recife, as restantes foram isoladas em São Paulo, entre 1963 e 1968. Até o momento do estudo, foram mantidas em tubos de ágar nutriente, fechados com rólha de cortiça parafinada, em temperatura ambiente e protegidas da luz.

Determinação da sensibilidade — Para avaliação da sensibilidade aos antibióticos e à sulfadiazina empregamos o método da diluição em placa.

1) *Drogas empregadas e seus diluentes* — Encontram-se na Tabela I.

TABELA I

Drogas empregadas e diluentes

Droga	Origem	Diluentes
Hetacilina (H) (sal potássico)	Laborterápica-Bristol	Tampão fosfato pH 8
Sulfato de neomicina	Squibb & Sons	Água destilada
Sulfato de kanamicina (K)	Laborterápica-Bristol	Água destilada
Cefalotina (Ce)	Lilly	Alcool metílico e água destilada
Cloranfenicol (C)	Lepetit	Alcool metílico e tampão fosfato pH 6
Sulfato de estreptomicina (E)	Fontoura Wyeth	Água destilada
Oxitetraciclina (T)	Laborterápica-Bristol	Alcool metílico e tampão fosfato pH 4,5
Sulfadiazina (Su)	A/S Syntetic	Hidróxido de sódio 1 N e água destilada

2) *Soluções estoques* — As soluções estoques dos antibióticos e da sulfadiazina eram preparadas quinzenalmente e conservadas no congelador a -20°C , distribuídas em porções de 5 ml. Estas soluções continham 10 mg da base de cada droga por ml.

3) *Preparo das placas* — As placas eram preparadas no mesmo dia do uso. Utilizamos o DST Agar-Base-Oxoid como meio de cultura, para os antibióticos. Já as placas para a sulfadiazina eram preparadas com Agar Lab-Lemco-Oxoid contendo sangue hemolizado de cavalo a 5%¹.

Na Tabela II encontram-se as quantidades dos ingredientes necessárias à obtenção da concentração desejada em cada placa.

mos uma placa testemunho da viabilidade das amostras, contendo apenas o meio de cultura. Os resultados eram lidos após 20 horas de incubação a 37°C .

Considerou-se como concentração inibitória aquela que impediu o crescimento do germe. Até a amostra n.º 246, fizemos as determinações de sensibilidade usando as seguintes concentrações: 100, 50, 20, 10, 5 e 1 $\mu\text{g/ml}$. A partir da amostra de n.º 247 usamos as concentrações mencionadas e mais as seguintes: 200, 500 e 1000 $\mu\text{g/ml}$.

Foram consideradas resistentes as amostras que proliferaram em 10 $\mu\text{g/ml}$ ou mais dos antibióticos e em 100 $\mu\text{g/ml}$ ou mais da sulfadiazina.

TABELA II

Quantidades da solução estoque e de meio de cultura para se obter a concentração desejada da droga

Solução estoque (ml)	Diluição da solução estoque (ml)	Meio de cultura (ml)	Concentração final da droga ($\mu\text{g/ml}$)
2	não diluída	18,0	1000
1	não diluída	19,0	500
0,4	não diluída	19,6	200
2	diluída a 1/10	18,0	100
1	diluída a 1/10	19,0	50
0,4	diluída a 1/10	19,6	20
2	diluída a 1/100	18,0	10
1	diluída a 1/100	19,0	5
0,2	diluída a 1/100	19,8	1

Preparadas e solidificadas, as placas eram conservadas em estufa por aproximadamente 3 horas para se tornarem perfeitamente secas.

4) *Técnica* — O inóculo das amostras em estudo, foi o conteúdo de uma alça de platina de 2 mm de diâmetro retirado de uma cultura de 20 horas a 37°C , em caldo Lab-Lemco e diluída a 1/1000 no mesmo meio. Em cada placa eram estudadas 16 culturas, sendo que, sempre utilizamos como testemunho da atividade das drogas uma amostra de *E. coli* 0111a111b:B4 cujos níveis de resistência, à todas as drogas, foram previamente determinados. Também utiliza-

RESULTADOS

Encontra-se na Tabela III a frequência de amostras resistentes às diferentes drogas. Nota-se que o número de amostras resistentes à sulfadiazina e à estreptomycinina foi extremamente elevado em todos os tipos sorológicos. Entretanto, com relação às demais drogas, o tipo 0111a111b:B4:H12 comportou-se diferentemente dos demais. De fato, nenhuma amostra foi resistente à hetacilina, cefalotina, cloranfenicol, kanamicina e tetraciclina.

A percentagem de amostras resistentes dos outros tipos foi de 33,42% para hetacilina, 28,53% para cefalotina, 61,09% para o clo-

TABELA III

Resistência à drogas dos tipos sorológicos da *E. coli* O111a111b:B4

Tipo Sorológico	N.º amostras	Hetacilina		Cefalotina		Cloranfenicol		Kanamicina		Tetraciclina		Estreptomcina		Sulfadiazina	
		N.º	%	N.º	%	N.º	%	N.º	%	N.º	%	N.º	%	N.º	%
<i>E. coli</i> O111a111b:B4:H2	270	99	36,66	81	30,00	178	65,92	174	64,44	218	80,74	249	92,22	237	87,77
<i>E. coli</i> O111a111b:B4:H12	9	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	8	88,87	8	88,87
<i>E. coli</i> O111a111b:B4:I	55	11	20,00	14	25,45	25	45,45	31	56,36	35	63,63	43	78,18	50	90,90
<i>E. coli</i> O111a111b:B4:H-	13	6	46,15	4	30,76	9	69,23	9	69,23	11	84,61	13	100,00	13	100,00
Total	347	116	33,42	99	28,53	212	61,09	214	61,67	264	76,08	313	90,20	308	88,76

TABELA IV

Modelos de resistência dos tipos sorológicos da *E. coli* 0111a111b:B4

Modelo de resistência	<i>E. coli</i> 0111a111b:B4:H2	<i>E. coli</i> 0111a111b:B4:H12	<i>E. coli</i> 0111a111b:B4:I	<i>E. coli</i> 0111a111b:B4:H-
Su E T C K H Ce	53			2
Su E T C K H	17		2	1
Su E T C K Ce			6	
Su E T C H Ce	3			1
Su E C K H Ce	2			
Su E T K H Ce	3			
Su T C K H Ce	1			
E T C K H Ce	1			
Su E T C K	82		14	3
Su E T H Ce	3			
Su E T C H	3			
Su E K H Ce			2	
T C K H Ce	2			
Su E T K	6		4	2
Su E T C	8		2	1
Su E H Ce	2		4	1
Su E T Ce	3			
Su E C K	2			
Su E T H	2			
Su K T H	2			
Su E K Ce	1			
E K H			1	
T H Ce	1			
T C K	1			
E T H Ce	1			
E T C K	1			
Su E T	18		3	1
Su E K	1		1	
Su E Ce	2			
Su E C	2			
E T K	1			
E H Ce			2	
Su E H	1			
T K C	1			
Su E	23	8	3	1
Su T	1		2	
E T	2			
T K	1			
H Ce	1			
Su	3		6	
T	4			
E	3			
K			1	
Sensíveis	6	1	3	0
Total	270	9	55	13

Su = Sulfadiazina
 E = Estreptomicina
 T = Tetraciclina
 C = Cloranfenicol
 K = Kanamicina
 H = Hetacilina
 Ce = Cefalotina

TABELA V

Evolução da resistência da *E. coli* 0111a111b:B4:H2, segundo a droga

Ano	N.º amostras	Hetacilina		Cefalotina		Cloranfenicol		Kanamicina		Tetraciclina		Estreptomicina		Sulfadiazina	
		N.º	%	N.º	%	N.º	%	N.º	%	N.º	%	N.º	%	N.º	%
1963	41	9	21,95	9	21,95	12	29,26	9	21,95	20	48,78	33	80,48	34	82,92
1964	30	13	43,33	8	26,66	13	43,33	12	40,00	21	70,00	28	93,33	25	83,33
1965	33	18	54,54	16	48,48	17	51,51	16	48,48	28	84,84	31	93,93	27	81,81
1966	44	15	34,09	7	15,90	37	84,09	36	81,81	41	93,18	41	93,18	42	95,45
1967	53	25	47,16	23	43,39	50	94,33	49	92,45	52	98,11	49	92,45	51	96,22
1968	44	12	27,27	11	25,00	39	88,63	42	95,45	43	97,72	44	100,00	42	95,45
Total	245	92	37,55	74	30,20	168	68,57	164	66,93	205	83,67	226	92,24	221	90,20

ranfenicol, 61,67% para kanamicina e 76,08% para tetraciclina.

Na Tabela IV verifica-se que vários modelos de resistência foram encontrados nas amostras dos tipos sorológicos 0111a111b:B4:H2, 0111a111b:B4:I e 0111a111b:B4 cujo antígeno H não foi determinado. Em contraste, as 8 amostras resistentes do tipo 0111a111b:B4:H12 apresentaram apenas o modelo Su E.

Nota-se, ainda, predomínio acentuado das amostras com os seguintes modelos de resistência: Su E T C K H Ce, Su E T C K H, Su E T C K, Su E T e Su E.

Destaca-se, também, a baixa freqüência de amostras sensíveis e de resistentes a uma

droga, apenas. Sômente 10 amostras foram sensíveis a tôdas as drogas. Resistência exclusiva à sulfadiazina foi encontrada em 9 amostras, à tetraciclina em 4, à estreptomina em 3 e à kanamicina em uma.

Na Tabela V e no Gráfico I encontra-se a evolução da resistência a cada uma das drogas de 245 amostras do tipo 0111a111b:B4:H2, cujas datas de isolamento eram conhecidas. O número de amostras resistentes à hetacilina e cefalotina foi mais ou menos constante entre 1963 e 1968. Com relação às demais drogas, ocorreu aumento progressivo de amostras resistentes, mais acentuadamente para o cloranfenicol, kanamicina e tetraciclina.

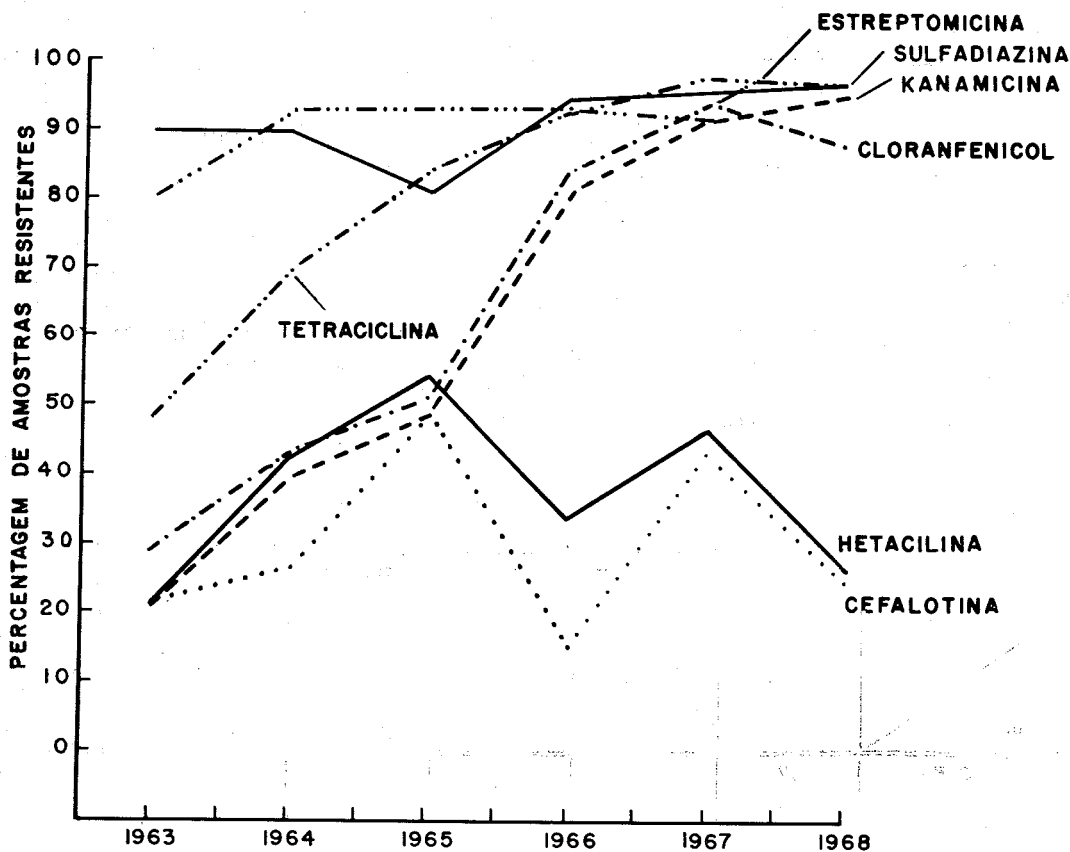
TABELA VI

Evolução da resistência da *E. coli* 0111a111b:B4:H2, segundo o modelo de resistência (drogas em uso há mais tempo)

Ano	1963	1964	1965	1966	1967	1968
Su E T C K	7	8	14	33	44	36
Su E T C	4	1	1	2	3	
Su E T K		1		1	1	4
Su E C K		1			1	1
Su T C K				1	1	
E T C K		1	1			
Su E T	7	7	8	1		2
T C K	1			2	1	
Su E C		2				
E T K		1				1
Su T K					1	
Su E	14	5	3	3		
Su T		1		1		
E T		1		1		
Su	4	1				
T	1	1	2		1	
E			2			
Total	38	31	31	45	53	44

T = Tetraciclina
 C = Cloranfenicol
 K = Kanamicina
 E = Estreptomina
 Su = Sulfadiazina

GRÁFICO I



EVOLUÇÃO DA RESISTÊNCIA DA *E. COLI* 0111a111b:B₄:H₂ SEGUNDO A DROGA

TABELA VII

Frequência das amostras de *E. coli* 0111a111b:B₄:H₂ simultaneamente resistentes à tetraciclina, cloranfenicol, kanamicina, estreptomicina e sulfadiazina, segundo o ano de isolamento

Ano	1963		1964		1965		1966		1967		1968	
	N.º	%	N.º	%	N.º	%	N.º	%	N.º	%	N.º	%
Modêlo												
Su E T C K	7	17,07	8	26,66	14	42,42	33	75,00	44	83,01	36	81,81
Total	41		30		33		44		53		44	

T = Tetraciclina
 C = Cloranfenicol
 K = Kanamicina
 E = Estreptomicina
 Su = Sulfadiazina

Na Tabela VI encontra-se a evolução da resistência das mesmas amostras, segundo o modelo de resistência encontrado, incluindo-se somente as drogas que têm sido mais usadas em nosso meio.

Finalmente a Tabela VII nos dá a percentagem de amostras simultaneamente resistentes às 5 drogas mencionadas, em cada ano. É de se notar um amplo aumento destas amostras a partir de 1963.

Os níveis de resistência as 7 drogas são apresentados nas Tabelas VIII e IX. Na primeira, a concentração máxima de cada droga foi de 100 µg/ml e na segunda 1000 µg/ml.

Na maioria das amostras determinamos simultaneamente a sensibilidade à neomicina e kanamicina, os resultados obtidos tendo sido idênticos para as duas drogas, no que diz respeito à resistência ou sensibilidade.

TABELA VIII

Níveis de resistência de 246 amostras de *E. coli* 0111a111b:B4, considerando-se as concentrações 1 a 100 µg/ml de cada droga

Concentração (µg/ml)	N.º de amostras resistentes a cada concentração (µg/ml)							Total
	100	50	20	10	5	1	< 1	
Drogas								
Hetacilina	66	16	1	1	20	140	2	246
Cefalotina	32	2	8	23	80	100	1	246
Cloranfenicol	106	18	1	1	3	86	31	246
Kanamicina	116	2		2	3	84	39	246
Tetraciclina	125	11	15	16	7	42	30	246
Estreptomina	148	56	11	2	6	22	1	246
Sulfadiazina	213		1	5	5	20	2	246

TABELA IX

Níveis de resistência de 101 amostras da *E. coli* 0111a111b:B4, considerando-se as concentrações de 1 a 1000 µg/ml de cada droga

Concentração (µg/ml)	N.º de amostras resistentes a cada concentração (µg/ml)										Total
	1000	500	200	100	50	20	10	5	1	< 1	
Drogas											
Hetacilina	5	1	3	16	7			4	65		101
Cefalotina		1	10	12			11	5	62		101
Cloranfenicol			27	39	20			2	9	4	101
Kanamicina	58	35	1						7		101
Tetraciclina		16	51	4	4	10	12	2	2		101
Estreptomina	2	2	13	19	40	19			4		101
Sulfadiazina	95				1		2	1	2		101

A única diferença estava relacionada com o nível da resistência, sendo êste, mais elevado para a kanamicina do que para a neomicina.

DISCUSSÃO

Os resultados do presente trabalho confirmam, mais uma vez, o grave problema da resistência a drogas em enterobactérias em nosso meio. O número médio de amostras resistentes à sulfadiazina, estreptomicina, tetraciclina e cloranfenicol foi bastante elevado, sendo considerável, também, o número das resistentes a hetacilina e a cefalotina. Entretanto, o problema da resistência nesta bactéria adquire aspecto mais sério, quando consideramos os resultados apresentados na Tabela IV, onde se verifica que a maioria das amostras foi resistente a 4 ou mais das 7 drogas utilizadas. É de particular interesse o encontro de 55 amostras simultaneamente resistentes a 7 drogas. Contrasta enormemente com êstes dados a ausência de amostras com resistência exclusiva ao cloranfenicol, a hetacilina e a cefalotina, bem como o baixo número das resistentes a qualquer das demais drogas, individualmente. É assim evidente que a resistência apresentada por esta bactéria atualmente em nosso meio é, quase sempre, uma resistência múltipla.

O estudo da evolução da resistência nesta bactéria é bem exemplificado nas Tabelas V, VI e VII, onde apresentamos o que ocorreu com o tipo sorológico mais freqüente, isto é, a *E. coli* 0111a111b:B4:H2. Considerando-se cada uma das drogas individualmente, nota-se que o número de amostras resistentes à sulfadiazina e a estreptomicina foi extremamente elevado desde 1963 e que não variou significativamente o número de amostras resistentes a hetacilina e a cefalotina. As duas primeiras drogas são utilizadas há muitos anos e as duas últimas recentemente passaram a ser usadas no tratamento de infecções bacterianas. Êste fato explicaria satisfatoriamente tais achados. Entretanto, quando consideramos o cloranfenicol, a kanamicina e tetraciclina, drogas intermediárias às demais quanto ao tempo em uso, surpreende-se um intenso e progressivo aumento do número de amostras resistentes a partir de 1963. Tal aumento foi, sem dúvida, conseqüência da seleção de

amostras simultaneamente resistentes a sulfadiazina, estreptomicina, tetraciclina, cloranfenicol e kanamicina, conforme se depreende das Tabelas VI e VII. De fato, tais amostras representavam apenas 17,07% das isoladas em 1963, passando a representar mais de 80% das isoladas em 1967 e 1968.

Os resultados obtidos com a *E. coli* 0111a111b:B4 são extremamente parecidos com os relatados por nós para *Shigella*, recentemente, com relação a estas 5 drogas. Como na *E. coli*, em *Shigella* não ocorreu resistência exclusiva ao cloranfenicol, foi baixo o número de amostras com resistência exclusiva as outras drogas, aumentou progressivamente o número de amostras resistentes a cada uma das drogas entre 1962 e 1966, o aumento, também, decorrendo da seleção de amostras simultaneamente resistentes a 5 drogas. Uma marcante diferença foi a raridade de amostras de *Shigella* resistentes a hetacilina. Conforme já mencionamos, estudos em andamento sugerem que tais achados são comuns a tôdas as enterobactérias.

Dois fatos devem ser destacados ainda: primeiro, o comportamento diferente da *E. coli* 0111a111b:B4:H12, quando comparado com a da *E. coli* 0111a111b:B4:H2 e o das demais amostras. Como vimos, das 9 amostras do primeiro tipo sorológico, 8 foram resistentes e uma sensível. Entretanto, as 8 resistentes o foram somente à sulfadiazina e à estreptomicina. De maneira interessante, a única amostra imóvel com comportamento bioquímico idêntico ao da *E. coli* 0111a111b:B4:H12, também foi resistente somente a duas drogas, mas desta vez à sulfadiazina e tetraciclina. No momento, não temos explicação para êste fato, mas é possível que o mesmo esteja relacionado com as características próprias da bactéria. Correlação entre comportamento bioquímico e resistência à drogas também já foi encontrada por SCHUH & ALDOVÁ³ em amostras de *Shigella*. O outro fato a ser destacado diz respeito aos níveis da resistência. Ainda como em *Shigella*⁶, tôdas as amostras consideradas resistentes à sulfadiazina, o foram, na maioria das vezes, a altas concentrações da droga. Com relação às demais drogas, foram encontradas amostras resistentes à diferentes concentrações. É digno de nota, porém, que

na maioria das vezes, os níveis de resistência à kanamicina foram bastante elevados. A nosso ver, o conhecimento dos níveis de resistência adquire importância prática no momento. Como sabemos, o conceito clínico de resistência tem por base a concentração que a droga atinge no sangue e, evidentemente, os métodos rotineiros para determinação de sensibilidade são adaptados a este conceito. Assim, uma infecção intestinal causada por uma bactéria considerada resistente pelo método do disco, pode ser passível de tratamento, pois as concentrações que certas drogas atingem nos intestinos podem ser mais elevadas do que no sangue².

Finalmente, devemos salientar, mais uma vez, que o problema da resistência à drogas em Gram-negativos, não tem recebido a devida atenção por parte daqueles que, por uma razão ou outra, empregam quimioterápicos ou antibióticos. É necessário não esquecer que estamos selecionando continuamente raças especiais de bactérias, tão virulentas quanto as sensíveis e que o emprego de uma só droga, pode selecionar uma bactéria resistente a 7 drogas. A única maneira de salvaguardar ou prolongar o valor terapêutico dos antibióticos e quimioterápicos, é usá-los apenas quando se fizer absolutamente necessário.

SUMMARY

Studies on E. coli 0111:B4. III — "In vitro" susceptibility to sulphadiazine and to six antibiotics

The "in vitro" susceptibility of 347 *E. coli* 0111a111b:B4 strains isolated in Brazil, between 1963 and 1968 to sulphadiazine, streptomycin, tetracycline, chloramphenicol, kanamycin, cephalotin and hetacilin was determined. Of the 347 strains, 270 belonged to serotype 0111a111b:B4:H2, 9 to serotype 0111a111b:B4:H12, 55 were non-motile and in 13 the H antigen was not determined. Susceptibility was determined by the plate dilution method, the drugs concentrations ranging from 1 to 100 µg/ml for the first 246 strains and from 1 to 1000 µg/ml for the last 101 strains. They were considered resistant the strains that grew in 10 µg/ml or more of the antibiotics or in 100 µg/ml or more of sulphadiazine. The number of

resistant strains to sulphadiazine, streptomycin, tetracycline, chloramphenicol, cephalotin and hetacilin was 91.64, 88.66, 76.08, 61.09, 61.67, 28.53 and 33.42%, respectively (Table III). Only 10 strains were sensitive to any of the drugs used. Also it was very low the number of strains with exclusive resistance to only one drug (9 to sulphadiazine, 4 to tetracycline, 3 to streptomycin, 1 to kanamycin). Strains with exclusive resistance to chloramphenicol, cephalotin or hetacilin were not found. The majority of the strains was resistant to 4, 5, 6 and 7 drugs, 55 of the last variety being encountered (Table IV).

The number of strains resistant to sulphadiazine and to streptomycin was very high since 1963 (around 90% of the strains). The number of strains resistant to tetracycline, kanamycin and to chloramphenicol increased intensively from 1963 onwards, reaching 97.72, 92.45 and 88.63% in 1968, for each one of the drugs, respectively. The number of strains resistant to cephalotin and to hetacilin did not change significantly during the 5 years period of study (Table V). The large increase on the number of strains resistant to tetracycline, chloramphenicol and kanamycin was consequence of the selection of strains simultaneously resistant to the 3 drugs and also to sulphadiazine and streptomycin (Table VI). This kind of strains was found in 17.07% among those isolated in 1963 and in more than 80% among the strains isolated in 1967 and in 1968 (Table VII). The levels of resistance to each one of the drugs were variable with exception of the levels of resistance to sulphadiazine (Tables VIII and IX). The serotype 0111a111b:B4:H12, was resistant only to two drugs, namely sulphadiazine and streptomycin (Table IV). The results are discussed.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. HARPER, G. J. & CAWSTON, W. C. — The "in vitro" determination of the sulphonamide sensitivity of bacteria. *J. Path. Bact.* 57: 59-66, 1945.
2. LORIAN, V. — *Antibiotics and Chemotherapeutic Agents in Clinical and Laboratory Practice*. Springfield, Charles C. Thomas, 1966.

3. SCHUH, V. & ALDOVA, E. — Multiple drug resistance *Shigellae*. *Z. Bakt. I. Orig.* 200: 460-467, 1966.
4. SERRANO, J. A. & TRABULSI, L. R. — Observações sobre a frequência de isolamento de *Shigella*, *Salmonella* e *E. coli* enteropatogênica das fezes de crianças com diarreia aguda, na cidade de São Paulo. *Arq. Gastroent.* 3:221-225, 1966.
5. SIMPÓSIO sobre diarreias agudas e enteroinfecções na infância. *Pediat. Prat.* 36:355-380, 1965.
6. ZULIANI, M. E. & TRABULSI, L. R. — Sensibilidade “*in vitro*” à sulfadiazina e à 5 antibióticos de 166 amostras de *Shigella*, isoladas em São Paulo, Brasil. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 10:70-77, 1968.
7. 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 7/4/1969.