

CONTRIBUȚII LA STUDIUL TULPINILOR DE ESCHERICHIA COLI CU FRAȚIUNI ANTIGENICE STRĂINE, IZOLATE DE LA SUGARI CU DIAREE ACUTĂ*

dr. L. Domokos, dr. Monica Sabău, dr. Z. Pap

Apariția variantelor de enterobacterii — mai ales variantele lactozonegative ale tulpinilor de *E. coli*, precum și a tulpinilor de *Proteus*, care au suferit variația H—O-, ridică o problemă importantă în precizarea diagnosticului de laborator al infecțiilor enterale.

Literatura de specialitate din ultimele două decenii prezintă numeroase date în legătură cu structura antigenică comună a enterobacteriilor, precum și cu originea și rolul lor etiologic în diferite afecțiuni intestinale. Cu toate acestea, părțile autorilor cu privire la proprietățile biochimice și patogenitatea pentru om și animale, nu sînt concordante.

O dată cu introducerea tratamentului cu antibiotice apar și primele date privind apariția enterobacteriilor atipice. Această constatare însă nu înseamnă că pînă la descoperirea antibioticelor nu au existat enterobacterii cu structură antigenică străină. Însă identificarea lor a fost posibilă numai după îmbogățirea cunoștințelor noastre privind structura antigenică, proprietățile fiziologice și modul lor de apariție.

Kauffmann (20), într-o monografie a sa, prezintă date privind structura antigenică comună a diferitelor enterobacterii. Tot în această lucrare face cunoscute datele lui *Ewing*, referitoare la tipurile de *Shigella* care posedă structură antigenică de *E. coli*. *Rauss* și *Vertényi* (34) izolează de la bolnavi cu dizenterie tipică, *E. coli* 0135 cu structură antigenică de *Shigella flexneri* tip 4 b. Aceiași autori (35), pun în evidență ulterior din materiile fecale provenite de la indivizi sănătoși, *E. coli* cu fracțiuni antigenice de *Shigella flexneri* tip 6. Date referitoare la structura antigenică comună a *E. coli* și *Shigella* sînt semnalate și în lucrările lui *Aubertin* (1), *Boivin* (5), *Domokos*, *Sabău* și colab. (9, 10, 11, 12), *Ewing* (15), *Gaiginschi* (17), *Hara* (18), *Kanitz* (21), *Kreinin* (23), *Matsamoto* (26), *Okada* (29), *Ralovich* (33), *Slopek* (42, 43), *Vörös* (46).

Legături antigenice între tulpinile de *E. coli* și *Salmonella* comunică în afară de *Kauffmann* (20) și *Bergner* (2, 3), *Costin* (6), *D'Alessandro* (7), *Falkow* (16), *Popovici* (32), *Takács* (44).

Relații antigenice există nu numai între *E. coli* și *Shigella* sau *Salmonella*, ci și între *E. coli* și *Proteus*, *E. coli* și *Citrobacter* (*Orskov*, 30, *Le Minor* L., 24), *E. coli* și *Arizona*, *Salmonella* și *Arizona* (*Kauffmann*, 19), *Salmonella* și *Citrobacter* (*Edwards*, 13, *Sakazaki*, 39, 40), *Proteus* și *Citrobacter*, *Proteus* și alte enterobacterii (*Boér* 4, *Domokos* 8, *Rauss* 36, *Ralovich* 33).

Tulpinile tipice de enterobacterii (*Shigella*, *Salmonella*), sub acțiunea anumitor factori externi își pot modifica proprietățile fiziologice, caracteristice pentru gen sau își pot păstra activitatea biochimică, dar își pierd proprietățile aglutinante (*Margorina*, 25, *Rubaskina*, 38, *Terno*, 45).

Serényi (41) izolează tulpini de *Shigella sonnei*, iar *Kerekes* (22) de *Shigella flexneri* 2 a, care descompun salicina.

* Lucrare prezentată la ședința U.S.S.M., filiala Mureș, Secția de patologie infecțioasă, 7 noiembrie 1969.

Se pare că importanța practică a acestor bacterii crește în ceea ce privește diagnosticul de laborator al diferitelor infecții intestinale. Deși în legătură cu acești germeni s-au acumulat multe date, totuși considerăm că, rezultatele experiențelor și observațiilor noastre pot contribui la lărgirea cunoștințelor privind proprietățile biochimice și serologice ale acestor tulpini atipice de *E. coli*, mai ales în etapa actuală, cind procentajul de izolare al tulpinilor de Shigella tipice este în descreștere.

Colectivul nostru a urmărit cu regularitate, începind din 1967, incidența enterobacteriilor atipice izolate în cultură pură, la sugari cu enterocolită. Lucrarea de față își propune studierea proprietăților de cultură, fiziologice și serologice ale tulpinilor de *E. coli* cu fracțiuni antigenice comune cu alte enterobacterii.

Material și metoda

Între 1967 și 1 martie 1969 am studiat în total 25 de tulpini de *E. coli* cu structură antigenică străină, obținute în urma studiului bacteriologic efectuat la 658 de sugari suferind de enterocolită acută. Pentru punerea în evidență a tulpinilor bacteriene s-a folosit mediul Istrati-Meitert, iar pentru izolarea tulpinilor hemolitice, produsul patologic s-a însămîntat pe geloză singe. Identificarea tulpinilor izolate s-a făcut după metodele preconizate de Ewing (14), Nestorescu (28), Rogers și Taylor (37). Tulpinile care au prezentat fracțiuni antigenice de Shigella flexneri var. „X”, Shigella boydii, precum și tulpinile tipice de Shigella flexneri var. „X” și boydii au fost folosite pentru imunizarea iepurilor. Serurile specifice de *E. coli* și Shigella au fost utilizate pentru reacția de aglutinare în tub și pentru reacția de adsorbție efectuată după metoda lui Ewing (14) și Orskov (31).

Rezultate și discuții

Rezultatele obținute privind proprietățile morfologice, de cultură, biochimice și serologice ale tulpinilor de *E. coli* cu fracțiuni antigenice ale altor enterobacterii sînt redată în tabelele nr. 1, 2 și 3.

Enterobacteriile atipice izolate de noi sînt bacili mobili, gram-negativi. Pe mediile Istrati-Meitert formează colonii de tip „S”, rotunde, bombate, mai puțin translucide, dimensiunea lor însă depășind ușor dimensiunea coloniilor de Shigella. Pe geloză singe fiecare tulpină (indiferent de structura antigenică) prezintă proprietăți hemolitice față de eritrocitele de berbec. Această proprietate a germenilor este stabilă, păstrîndu-se și după 3 ani.

Tulpinile nu fermentează nici după 30 de zile adonitolul și inozitolul. Pe mediile, care conțin lactoză se dezvoltă colonii lactozo-negative, însă pe mediul Hiss lactoza este fermentată tardiv (după 1—4 zile), iar glucoza cu producere de acid și gaz; sînt indol-pozitive, însă nu produc hidrogen sulfurat, acetilmetil-carbinol și urează (tabelul nr. 1 și 2).

Tulpinile identificate au fost încadrate în 10 grupuri după structura antigenică (vezi tabelul nr. 3). Astfel din cele 25 de tulpini de *E. coli* studiate, în 8 cazuri s-a găsit serotipul O4:K6(L), posedînd legături antigenice cu Shigella flexneri varianta „X”. A fost izolată o tulpină de *E. coli* O6 care prezenta înrudiri antigenice cu Sh. boydii C₂, 3 tulpini de *E. coli* O10, care au reacționat cu serurile aglutinante de Shigella boydii C₂. Menționăm faptul, că unele serotipuri de *E. coli* O18 în afară de fracțiunile antigenice de Shigella boydii C₁, C₂, au cuprins și fracțiuni antigenice somatice de Salmonella 1, 2, 9, 12. Structura antigenică a tuturor tulpinilor este stabilă. Tulpinile chiar după doi ani de păstrare în condiții de laborator, aglutinează cu serul aglutinant anti-Shigella flexneri, la un titru destul de ridicat.

Tabelul nr. 1

Proprietățile biochimice ale tulpinilor de *E. coli* cu fracțiuni antigenice de *Shigella* și *Salmonella*

Serotipul	04:K6 (L)	04:K6 (L)	06	010	017
Inrudiri antigenice	Sh. flexneri grup 7, 8, 9	Sh. flexneri grup 7, 8, 9 Sh. boydii	Sh. boydii	Sh. boydii	Salmonella 1, 2, 9, 12
Adonitol	—	—	—	—	—
Dulcitol	+1-3	—	+2	v	+3
Sorbitol	+	+	+	+	+
Arabinoză	+	+	+	+	+
Xiloză	+	+	—	+	+
Ramnoză	+	+	+	+	+
Maltoză	+	+	+	+1-2	+
Salicină	—	+2	+	+1-3	+
Inozitol	—	—	—	—	—
Lactoza	+1-3	+	+	+	+
Zaharoza	v	—	—	v	+
Manitol	+	+	+	+	+
Glucoza	++	++	++	++	++
Galactoză	+	+	+	+	+
Trehaloză	+	+	+	+	+
Lizindecarboxilază	+	+	+	+	+
Indol	+	+	+	+	+
Hidrogen sulfurat	—	—	—	—	—
Roșu-metil	+	+	+	+	+
Voges-Proskauer	—	—	—	—	—
Simmons	—	—	—	—	—
Urează	—	—	—	—	—
Liza eritrocitelor de oaie	+	+	+	+	+
Motilitate	+	+	+	+	+
Proprietăți de cultură	Colonii de tip „S”	idem	idem	idem	idem
Testul lui Serény	—	—	—	—	—

Observații:

— = negativ
+ = pozitiv+1-4 = pozitiv după 1-4 zile
++ = acid și gaz
v = variabil

Deci, tulpinile fermentează glucoza (cu producere de acid și gaz), tardiv lactoza, produc hemoliza eritrocitelor de berbec și sînt mobile. Luînd în considerare aceste caracteristici (deși aglutinează cu serurile aglutinante anti-*Shigella* sau anti-*Salmonella*) ele nu pot fi încadrate în genul *Shigella* sau *Salmonella*, ci sînt tulpini de *E. coli* care posedă fracțiuni antigenice de *Shigella* sau de *Salmonella*.

Un alt fenomen care ne-a atras atenția este următorul: cultura pe geloză lactozată este uniformă în primele 48 de ore, în sensul că toate coloniile sînt lactozonegative. După aproximativ 3 zile se dezvoltă cîteva colonii lactozopozitive, care

Tabelul nr. 2

Proprietățile biochimice ale tulpinilor de *E. coli* cu fracțiuni antigenice de *Shigella* și *Salmonella*

Serotipul	<i>E. coli</i> 018 018:K5 (L)	<i>E. coli</i> 018	<i>E. coli</i> 018	<i>E. coli</i> 018	<i>E. coli</i> 023
Inrudiri antigenice	Sh. flexneri Salmonella 1, 3, 10, 12	Salmonella 1, 2, 9, 12	Sh. boydii	Sh. boydii Sh. flexneri	Sh. boydii
Adonitol	—	—	—	—	—
Dulcitol	+ ³	+	v	+ ⁴	—
Sorbitol	+	+	+	+	+
Arabinoză	+	+	+	+	+
Xiloză	+	+	+	+	+
Ramnoză	+	+	+	+	+
Maltoză	+	+	+	+	+
Salicină	—	—	—	v	—
Inozitol	—	—	—	—	—
Lactoză	—	+	+1-4	+	—
Zaharoză	—	+	+	+	—
Manitol	+	+	+	+	+
Glucoză	++	++	++	++	++
Galactoză	+	+	+	+	+
Trehaloză	+	+	+	+	+
Lizinde- carboxilază	+	+	+	+	+
Hidrogen sulfurat	—	—	—	—	—
Indol	+	+	+	+	+
Roșu-metil	+	+	+	+	+
Voges-Proskauer	—	—	—	—	—
Simmons	—	—	—	—	—
Ureează	—	—	—	—	—
Liza eritrocitelor de oaie	+	+	+	+	+
Motilitate	+	+	+	+	+
Proprietăți de cultură	Colonii de tip „S”	idem	idem	idem	idem
Testul lui Serény	—	—	—	—	—

Observații: vezi tabelul nr. 1.

reizolându-se, generează numai colonii lactozo- pozitive, colonii cu aceleași proprietăți biochimice și antigenice ca și tulpina originală, care însă nu se mai disociază în colonii lactozo- pozitive și lactozo- negative ca tulpina inițială.

Se consideră că fermentarea tardivă a lactozei este cauzată de apariția acestor variante în populația microbiană, adică lactoza va fi descompusă numai în cazul în care s-au acumulat în mediu un număr suficient de microorganisme care prezintă această proprietate.

Datele în legătură cu cauzele probabile ale apariției acestor variante lactozo- pozitive le vom publica într-o altă lucrare.

Tabelul nr. 3

Legături antigenice între tulpinile de E. coli, Shigella și Salmonella

Escherichia	Shigella	Salmonella	Nr. tulpinilor examinate
1. E. coli 04: K6 (L)	Sh. flexneri varianta „x”	—	8
2. E. coli 04:K6 (L)	Sh. flexneri varianta „x” Sh. boydii C ₁ , C ₂ , C ₃	—	1
3. E. coli 06	Sh. boydii C ₂	—	1
4. E. coli 010	Sh. boydii C ₂	—	3
5. E. coli 018:K5 (L)	Sh. boydii C ₂	—	7
6. E. coli 018	Sh. flexneri Sh. boydii C ₁	—	1
7. E. coli 023	Sh. boydii C ₁	—	1
8. E. coli 018:K5 (L)	Sh. flexneri	1, 2, 3, 10, 12	1
9. E. coli 018	—	1, 2, 9, 12	1
10. E. coli 017	—	1, 2, 9, 12	1
Total:			25

Concluzii:

1. tulpinile de E. coli cu fracțiuni antigenice de Shigella sau de Salmonella fermentează tardiv lactoza, lizează eritrocitele de berbec;
 2. tulpinile care posedă fracțiuni antigenice de Shigella flexneri var. „x” au antigene somatice 04, iar cele cu fracțiuni antigenice de Shigella boydii posedă mai ales antigen somatic 018;
 3. fermentarea tardivă a lactozei este considerată ca rezultat al apariției variantelor lactozo- pozitive ale tulpinilor atipice de E. coli.
- Sosit la redacție: 1 septembrie 1970.

Bibliografie

1. AUBERTIN E., CH. DULONG DE ROSNAY, PASQUIER P.: J. Méd. Bordeaux (1955), 1, 14, 2. BERGNER EVA: Autoreferatul disertației „Considerațiuni asupra unor enterobacterii atipice”, București, 1963; 3. BERGNER EVA, PAINA N., CIUPE M., KATZ T., NEGRU M.: C.ujul Med. (1957), 29, 2, 177; 4. BOER L., DOMOKOS L., AKSZENYUK MARIA, SZÉKELY B. HORVÁTH G., KELEMEN M.: Rev. Med. (1962), 8, 1, 48; 5. BOIVIN: cit. Bergner (3); 6. COSTIN I. D.: Microbiologia (1968), 13, 1, 1; 7. D'ALESSANDRO G., CEFALU M.: Riv. Ist. Sieroter. Italiano (1954), 29, 5, 385; 8. DOMOKOS L., PAÁL GYÖRGY, SABÁU MONICA, DOMOKOS CLARA, NAGY L., IMRE IRINA: Rev. Med. (1954), 10, 2, 171; 9. DOMOKOS L., LÁSZLÓ J., SEBE B., PAP Z.: Az idegen antigén részlegekkel rendelkező Escherichia coli törzsek egyes örökléstani és járványtani kérdéseivel kapcsolatos megfigyelések. Consfátuirea „XII. Balatoni Közegészségügyi Napok”. Siófok, 7—9 mai 1969; 10. DOMOKOS L., LÁSZLÓ J., SEBE B., PAP Z.: Studiul patogenității unor tulpini de E. coli cu fracțiuni antigenice străine la animale de exper-

riență și pe cultură de celule. Lucrare prezentată la Sesiunea științifică a cadrelor didactice, I.M.F. Tirgu Mureș, decembrie 1969; 11. DOMOKOS L., PAP Z., SABĂU MONICA: Rev. Med. Chir. (1969), 73, 4, 941; 12. DOMOKOS L., SABĂU MONICA, PAP Z.: Ibid. (1970), 74, 1, 133; 13. EDWARDS P. R., Mc WHORTER ALMA C., Mc CURDY JUSTINE, DAVIS R.: J. Bact (1954), 68, 6, 756; 14. EWING W. H.: Communicable Dis. Center Lab. Atlanta. 1963; 15. EWING W. H.: J. Bact. (1957), 66, 333; 16. FALKOW S., ROWNE R., BARON L.: Ibid (1962), 84, 1303; 17. GAIGIN-SCHI ALEXANDRINA, DUCA EUGENIA, TEODOROVICI GR., DRAGOMIR C., IASCU N., PETROVICI AL., CAHAN G., RUSU I.: Rev. Ig. Epid (1957), 2, 34; 18. HARA S., MATSAMUTO H.: J. Jap. Ass. Inf. Dis. (1959), 33, 1, 1; 19. KAUFFMANN F.: Acta path. microb. Scand. (1952), 31, 335; 20. KAUFFMANN F.: Semejstvo Kišecinih bakterii, Medghiz Moscova, 1959; 21. KANITZ S., LAMEDICA G.: Bol Ist. sieroter. (Milan), (1958), 37, 538; 22. KEREKES L.: Acta microbiol. Acad. Sci. hung. (1965), 12, 1, 7; 23. KREININ L. S.: Zh. Microbiol. (Moscova), (1958), 7, 121; 24. LE MINOR L., SEELIGER M., ACKERMANN H. W., SCHNEIDER P.: Ann. Inst. Pasteur (1964), 106, 112; 25. MARGORINA L. M., MAKAROVA M. A.: Zh. Microbiol. (Moscova), (1959), 5, 130; 26. MATSAMUTO H.: Japan J. Microbiol. (1964), 8, 143; 27. MINKEVICI: cit. Bergner (3); 28. NESTORESCU N.: Bacteriologie medicală. Ed. med. București, 1965; 29. OKADA S., SAKAI T., HOSHINO T.: Japan J. Microbiol. (1958), 2, 1, 13; 30. ORSKOV F., SCHMIDT E. E.: Acta path. microbiol. Scand. (1953), 32, 565; 31. ORSKOV F.: Ibid. (1954), 35, 179; 32. POPOVICI MARCELA: Rev. Ig. Microbiol. Epidem. (1952), 6, 20; 33. RALOVICH B., VÖRÖS S.: Acta Microbiol. Acad. Sci. hung. (1967), 14, 2, 189; 34. RAUSS K., VERTENYI A.: Ibid. (1956), 3, 3, 307; 35. RAUSS K., VERTENYI A.: Zbl. Bakt. I. Orig. (1959), 174, 352; 36. RAUSS K., VÖRÖS S.: Acta Microbiol. Acad. Sci. hung. (1967), 14, 199; 37. ROGERS K. B., TAYLOR J.: Bull. O.M.S. (1961), 24, 1, 59; 38. RUBAŠKINA B. K.: Zh. Microbiol. (Moscova), (1954), 7, 87; 39. SAKAZAKI R., NAMIOKA S., OKADA A., YAMADA: Jap. J. exp. Med. (1960), 30, 13; 40. SAKAZAKI R., NAMIOKA S.: Jap. J. Bact. (1965), 9, 1; 41. SERÉNYI B.: Acta Microbiol. Acad. Sci. hung. (1959), 6, 3, 217; 42. SLOPEK S.: Schweiz. Z. Allg. Path. Bakt. (1957), 20, 3, 337; 43. SLOPEK S., DABROWSKI L.: Ibid. (1957), 20, 3, 330; 44. TAKÁCS J., NAGY GY.: Acta vet. Acad. Sci. hung. (1960), 10, 2, 165; 45. TERNO B. S.: Zh. Microbiol. (Moscova), (1962), 7, 111; 46. VÖRÖS S., RÉDEY B., CSIZMADIA F.: Acta microbiol. Acad. Sci. hung. (1964), 11, 2, 125.