

EFICIÊNCIA DOS MEIOS DE ENRIQUECIMENTO DE KAUFFMANN E DE GLICERINA-CLORETO DE SÓDIO NO ISOLAMENTO DA EBERTHEL- LA TYPHOSA

SÍLVIO SOARES DE ALMEIDA

Biologista do Instituto Adolfo Lutz.

AMÉLIA PACHECO TRIGO

Técnica de Laboratório do Instituto Adolfo Lutz.

A pesquisa de bactérias patogênicas nas fezes é realizada em três fases sucessivas: na primeira procura-se preservar ou enriquecer o germe que se tem em vista isolar; na segunda fase semeia-se o material em estudo em meios de isolamento adequados; finalmente procede-se à identificação das colônias isoladas. Neste trabalho será considerada somente a primeira dessas fases — a de preservação ou enriquecimento — em relação ao isolamento do bacilo tífico.

Para o enriquecimento do bacilo tífico nas fezes, este Instituto utiliza a solução de glicerina a 30% em solução de cloreto de sódio a 0,6%. As fezes enviadas ao laboratório são emulsionadas nessa solução de glicerina e esta é deixada à temperatura ambiente por 24 horas; após esse espaço de tempo o material é então semeado nas placas.

O meio de glicerina-cloreto de sódio para a preservação do espécime fecal foi proposto por Teague e Clurman¹, baseados no fato de que a demora de algumas horas, desde que as fezes são colhidas até que sejam examinadas, acarreta um crescimento abundante de outros germes não patogênicos, o que dificulta grandemente ou torna mesmo impossível o isolamento do bacilo tífico. Segundo estimativa de Ficker e Hofmann² só é possível o isolamento dos bacilos tíficos quando estes se encontram numa proporção de 1/300 em relação às outras bactérias fecais. Para o material procedente de localidades afastadas e que, portanto, só chegava ao laboratório com um inevitável retardo, foi então sugerido que as fezes logo após terem sido emitidas, fossem conservadas na glicerina; esta impedia

a exagerada proliferação dos germes intestinais comuns e permitia a obtenção de resultados positivos em material retardado vários dias, e mesmo várias semanas³. Importa acentuar então que a glicerina foi proposta apenas para a conservação do material durante o trajeto dêste para o laboratório, e não como processo de enriquecimento posterior à chegada das fezes ao local de exame.

Um primeiro objetivo dêste trabalho foi, então, verificar se haveria vantagem em semear na glicerina as fezes já recebidas pelo laboratório, e deixar a glicerina 24 horas à temperatura ambiente, ou se os resultados seriam melhores utilizando-se a glicerina apenas como meio de suspensão, e procedendo-se a uma semadura imediata nos meios de isolamento. Um segundo objetivo foi comparar a eficiência do meio de Teague e Clurman com o meio de tetratationato-verde brilhante, proposto por Kauffmann⁴ para o isolamento de Salmonelas, e que na experiência pequena dêste autor parecia também apropriado para o enriquecimento do bacilo tífico.

MATERIAL E MÉTODOS

Êste estudo foi realizado em 200 amostras de fezes que representam pouco menos de metade das que foram enviadas ao laboratório para pesquisa de portadores de bacilos tíficos, no período de Abril a Outubro de 1945. O material procedia na sua maior parte do Hospital de Isolamento Emílio Ribas e de Centros de Saúde do interior do Estado.

Em cada um dos casos foram efetuados 4 exames, da maneira seguinte: 1) dois exames com o material semeado em glicerina; o primeiro ao fim do tempo máximo de 2 horas e o segundo após 24 horas de permanência da glicerina à temperatura ambiente; o contato das fezes com a glicerina pelo prazo de duas horas corresponde praticamente a uma semeadura imediata, pois nesse curto espaço de tempo é difícil admitir-se qualquer ação inibitória. 2) dois exames com o material semeado em meio de Kauffmann, sendo o primeiro realizado ao fim de 24 horas de incubação a 37° e o segundo ao fim de 5 dias, também na estufa a 37°. O enriquecimento em Kauffmann pelo espaço de 5 dias demonstrou ser útil para o isolamento de Salmonelas, na experiência de Hormaeche e Surraco⁵; por esta razão o mesmo processo foi experimentado para a *Eberthella typhosa*.

Conforme a técnica de rotina dêste Instituto⁶ utilizaram-se para cada caso dois meios de isolamento: o de Calazans-Rangel

Pestana e o meio de Holt-Harris e Teague. As colônias isoladas nesses meios eram semeadas em tríplice açúcar de Krumwiede, e após 24 horas de estufa procedia-se à aglutinação com sôro tífico.

RESULTADOS

Nos 200 casos examinados o bacilo tífico foi isolado 78 vêzes. Os resultados obtidos com os diferentes processos de enriquecimento estão representados no quadro seguinte, no qual o número de casos positivos pelo uso combinado de todos os meios é considerado como representando um isolamento de 100%.

Total de casos positivos	78	100%
Glicerina 2 horas	58	74,2%
Glicerina 24 horas	56	71,2%
Kauffmann 24 horas	58	74,2%
Kauffmann 5 dias	28	35,8%

Êsses dados revelam que a glicerina em 2 horas e o Kauffmann em 24 horas, permitem o isolamento de maior número de casos positivos do que a glicerina em 24 horas; o enriquecimento em Kauffmann durante 5 dias constitue o processo menos eficiente. Analisando-se os resultados obtidos com a combinação dos dois meios estudados, os resultados são os seguintes:

Total de casos positivos	78	100%
Glicerina 2 hs. glicerina 24 hs.	61	78,2%
Glicerina 2 hs. Kauffmann 24 hs. ..	72	92,3%
Glicerina 24 hs. Kauffmann 24 hs.	72	92,3%
Kauffmann 24 hs. Kauffmann 5 dias	62	79,4%

Êsse quadro demonstra que a realização de dois exames, com o material semeado em um determinado meio, aumenta o número de resultados positivos que tinham sido obtidos por um só exame. Êste aumento é ainda maior quando os meios que se utilizam são diferentes. Assim, a realização de dois exames com o material semeado na glicerina, e nela tendo permanecido respectivamente 2 e 24 horas, aumentou de 58 para 61 o número de resultados positivos, enquanto que a execução de dois exames, combinando-se a glicerina com o meio de Kauffmann, elevou o número de casos positivos de 58 para 72.

COMENTARIO

A superioridade da glicerina de 2 horas sôbre a de 24 horas era esperada, em vista do que se conhece sôbre a ação dêsse meio relativamente ao isolamento do bacilo tífico nas fezes. Teague e Clurman já tinham observado que a ação inibitória da mistura de glicerina-cloreto de sódio, embora se exercendo com mais intensidade sôbre os bacilos fecais não patogênicos, também se fazia sentir sôbre os bacilos tíficos. Nas primeiras 48 horas esta ação inibitória não era muito intensa, mas acentuava-se depois dêsse tempo. Confirmação do efeito nocivo da glicerina sôbre o bacilo tífico foi fornecida por Havens e Dehler⁷. A permanência na glicerina é, portanto, desvantajosa, após a chegada do material ao laboratório. Desde que existe a possibilidade dêsse material ser semeado imediatamente nos meios de isolamento apropriados, deve-se dar preferência à semeadura imediata, processo que não só aumenta as possibilidades de se revelar a presença dos germes, como também permite que se obtenha um resultado com antecedência de 24 horas.

O meio de Kauffmann para enriquecimento de Salmonelas, após a incubação por 24 horas, deu resultados idênticos aos da glicerina de 2 horas. Estes dados são comparáveis aos obtidos por Rangel Pestana e Faraco⁶ em grande número de exames realizados. Este meio não deve então ser considerado como particularmente favorável para o enriquecimento do bacilo tífico das fezes, possivelmente, como sugerem Knox⁸ e colaboradores, por conter um excesso de tiosulfato ao qual a *Eberthella typhosa* é mais sensível do que as salmonelas. O excesso de tiosulfato, além de prejudicial ao bacilo tífico, tornaria o meio menos apropriado por favorecer o desenvolvimento dos proteus; realmente, na nossa experiência, um crescimento exagerado dêstes germes foi frequente no material enriquecido em Kauffmann, prejudicando muitas vêzes o isolamento das placas.

CONCLUSÕES

1. A semeadura imediata das fezes enviadas ao laboratório para pesquisa de bacilos tíficos, dá resultados melhores do que os que são obtidos após permanência das fezes na glicerina pelo espaço de 24 horas à temperatura ambiente.

2. O meio de enriquecimento de Kauffmann não se mostrou superior à sementeira imediata.

3. A associação dos meios de glicerina e de Kauffmann é vantajosa; no material estudado, a combinação desses dois meios permitiu o isolamento de 92,3% do total de casos positivos isolados.

BIBLIOGRAFIA

- 1 — TEAGUE, O. e CLURMAN, A. W. — 1916 — *Journ. Inf. Dis.*, 18: 653.
- 2 — FICKER e HOFMANN, — 1904 — *Arch. f. Hyg.*, 49: 229.
- 3 — GILBERT, R., COLEMAN, M. B. e ZIMMER, M. — 1926 — *Am. Journ. Publ. Health*, 16: 743.
- 4 — KAUFFMANN, F. — 1935 — *Zeit. fur. Hyg.*, 117: 26.
- 5 — HORMAECHÉ, E. e SUBRACÓ, N. L. — 1941 — *Arch. Urug. de Med. Cir. y Esp.*, 18: 485.
- 6 — RANGEL PESTANA, B. e FARACO, M. J. — 1942 — *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 2: 269.
- 7 — HAVENS, I. C. e DEHLER, S. A. — 1924-25 — *Journ. Lab. Clin. Med.*, 10: 238.
- 8 — KNOX, R., GELL, P. G. H. e POLLOCK, M. R. — 1943 — *Journ. Hyg.*, 43: 147.