

CONSIDERAÇÕES SOBRE O ESTUDO BACTERIOLÓGICO DE AMOS-
TRAS DE *SALMONELLA TYPHI* ISOLADAS EM UM SURTO EPIDÊ-
MICO DE FEBRE TIFÓIDE OCORRIDO NO MUNICÍPIO
DE SÃO PAULO, BRASIL *

Ernesto HOFER **
Gil Vital Alvares PESSÓA ***
José de Souza de MORAIS ****
Carmo Elias de Andrade MELLES ***
Estevão José COLNAGO **
Maria Diana LACERDA *****
Maria Ignez VILHENA ****

RIAL-A/400

HOFER, E.; PESSÓA, G.V.A.; MORAIS, J.S.; MELLES, C.E.A.; COL-
NAGO, E.J.; LACERDA, M.D. & VILHENA, M.I. — Considerações
sobre o estudo bacteriológico de amostras de *Salmonella typhi* iso-
ladas em um surto epidêmico de febre tifóide ocorrido no município
de São Paulo, Brasil. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 34: 53-67, 1974.

RESUMO: Em um surto epidêmico de febre tifóide, ocorrido no perí-
do de fevereiro a maio de 1972, no Estado de São Paulo, foram isoladas
187 amostras de *Salmonella typhi*.

Estas culturas foram analisadas sob vários aspectos, tais como:
sorológico, no qual foram classificadas segundo a variação do antígeno
Vi; bioquímico, em que se fez a determinação dos tipos fermentativos,
com base nas reações diante da xilose e arabinose, aliado à pesquisa
da tetrationato redutase; a avaliação da sensibilidade aos antibióticos
foi outra particularidade abordada e, finalmente, as amostras foram
caracterizadas por um processo dos mais sensíveis, representado pela
lisotipia ou fagotipagem Vi.

Os resultados encontrados demonstraram uma situação pouco co-
mum nos dias atuais, isto é, o reconhecimento em uma epidemia de fe-
bre tifóide de três tipos fágicos, respectivamente D_6 , E1a e A, além de
duas formas consideradas impróprias para as determinações com os
fagos adaptados Vi II (amostras com Vi degradadas e as desprovidas
desta fração antigênica).

DESCRITORES: *Salmonella typhi*; febre tifóide (São Paulo); bac-
teriófagos.

* Trabalho em cooperação do Departamento de Microbiologia e Imunologia do Instituto Os-
waldo Cruz, Rio de Janeiro, GB, da Seção de Bacteriologia do Instituto Adolfo Lutz, São
Paulo, S.P. e do Serviço de Epidemiologia e Estatística do Departamento Regional de Saúde
da Grande São Paulo, São Paulo, S.P.

** Do Laboratório de Bacteriologia do Departamento de Microbiologia e Imunologia do Insti-
tuto Oswaldo Cruz.

*** Da Seção de Bacteriologia do Instituto Adolfo Lutz.

**** Do Serviço de Epidemiologia e Estatística do Departamento Regional de Saúde da Grande
São Paulo.

***** Do Departamento de Ciências Biológicas do Instituto Presidente Castelo Branco, Rio de
Janeiro, GB, e do Instituto Oswaldo Cruz.

INTRODUÇÃO

A febre tifóide, no transcurso das últimas décadas, vem exibindo um acentuado declínio em sua freqüência na maioria dos países, principalmente naqueles que galgaram e se beneficiaram na condição de nações de elevado padrão sócio-econômico. Já não são comumente relatados, na literatura médica, os tão amiúde surtos de natureza epidêmica, que envolviam e criavam tantos dissabores às populações dos grandes centros urbanos, como no princípio do presente século.

Conquanto tenham esses países atingido o mais alto aprimoramento no campo sanitário, particularmente pelas rígidas normas profiláticas adotadas, mesmo assim essas medidas não redundaram na erradicação absoluta da doença, pois, periodicamente, são registrados surtos de maior ou menor repercussão. Tal situação epidemiológica encontra um amparo inequívoco nos acontecimentos mais recentes, relatados pelos episódios ocorridos na Suíça⁷ e em Aberdeen, na Grã-Bretanha⁸.

Em outras regiões no mundo, ainda não plenamente beneficiadas em seu desenvolvimento, a febre tifóide persiste e exterioriza-se, sob o ponto de vista epidemiológico, como uma das principais endemias que, com relativa freqüência, assumem as características de verdadeiras epidemias, naturalmente na dependência direta da estrutura da comunidade do local.

Dentre as inúmeras condições propuloras deste estado, responsabilizam-se as deficiências contidas nos elementos básicos de saneamento ofertados às cidades e aos seus moradores. Sem dúvida alguma, esta insuficiência teve origem em parte do problema criado pelo crescimento vertiginoso da população nessas áreas, advindo de descontrolados fluxos migratórios internos.

É natural pois que, por tais vicissitudes, a ocorrência de febre tifóide ou de outras êntero-infecções seja relativamente comum em nosso meio, muito embora não tenha sido acompanhada com número idêntico de investigações ou referências, que tivessem retratado os vários aspectos atinentes ao seu aparecimento e disseminação.

Convém frisar, sob esse prisma, que a grande maioria das informações nacionais concentrou suas atenções quase que exclusivamente em análises epidemiológicas circunstanciais, obtendo, por conseguinte, resultados meramente subjetivos, não revelando esses trabalhos, em nenhuma ou apenas em raras ocasiões, discretos subsídios sobre ensaios laboratoriais efetuados.

A exigüidade de dados sobre esse tema em pauta em nosso meio e a particularidade digna de ponderação, representada por cerca de duas centenas de culturas de *Salmonella typhi* isoladas de um surto epidêmico ocorrido em 1972, em uma localidade do município de S. Paulo (Parque Edú Chaves), influenciaram-nos, sobretudo, neste estudo laboratorial.

A análise das amostras dos bacilos típicos concentrou-se na execução de várias provas dentro do aspecto bacteriológico, citando-se as seguintes: a caracterização fágica Vi ou lisotípi Vi; a classificação dos tipos fermentativos; a pesquisa da tetratio-nato redutase; a avaliação da sensibilidade aos antibióticos e finalmente a determinação do grau de integridade do antígeno Vi, de acordo com a variação V-W de KAUF-FMANN¹⁹.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram estudadas 187 culturas de *Salmonella typhi*, isoladas e identificaadas preliminarmente na Seção de Bacteriologia do Instituto Adolfo Lutz. Desse total, 153 resultaram de hemoculturas e 34 provieram de coproculturas.

Cumprе salientar que as amostras foram isoladas em dois períodos distintos: a primeira etapa, entre fevereiro a 28 de março de 1972, compreendeu 129 amostras obtidas de hemoculturas, e 17, de coproculturas; a segunda fase esteve representada pelos isolamentos efetuados no mês de abril até 18 de maio de 1972, registrando-se 24 amostras oriundas de hemoculturas e 17, de coprocultivos.

Todas as amostras foram recebidas em tubos contendo ágar nutriente, sendo de imediato analisadas do ponto de vista soro-

lógico, nas quais se procurou caracterizar seus componentes e sua integridade antigênica, no que concerne, especificamente, à variação V-W de Kauffmann. Esta determinação foi realizada através do emprego da técnica de aglutinação rápida com os soros somáticos "9 e Vi".

Em etapa subsequente, foram procedidos o reconhecimento e o isolamento de colônias dos bacilos típicos com riqueza de antígeno Vi, geralmente representados pelas colônias mais opacas quando crescidas em ágar nutriente, de acordo com a descrição de CRAIGIE & BRANDON¹⁰. Além desse critério de seleção, utilizou-se também, para tal finalidade, o processo relatado por NICOLLE et alii²⁶ e LANDY²². Em média, quando presentes nas placas de ágar nutriente, recolhiam-se 10 colônias características da fase V, de cada uma das culturas examinadas.

É necessário salientar que toda a plenitude das reações da lisotipia Vi de *Salmonella typhi* depende essencialmente do manuseio de culturas que tenham demonstrado riqueza e integridade do antígeno Vi.

Para a execução da lisotipia Vi, recorreu-se à técnica relatada primariamente por CRAIGIE & YEN¹², considerando as modificações introduzidas por CRAIGIE & FELIX¹¹, assim como as de ANDERSON & WILLIAMS⁴. Todas as preparações fágicas, utilizadas na presente investigação, originaram-se do "International Reference Laboratory for Enteric Phage Typing", Londres, Inglaterra, gentilmente fornecidas pelo Dr. A. S. Anderson.

Foram utilizadas 60 preparações adaptadas do bacteriófago Vi II, além dos fagos Vi não adaptados I, IV e VII, sendo os dois primeiros associados e o último, sob a forma isolada, constituindo-se no elemento discriminador da lisotipia complementar do lisotipo El, segundo BRANDIS⁹. Lançou-se mão ainda, no esquema da tipificação, dos fagos somáticos (01, 02 e 03) de FELIX & CALLOW¹³.

A atividade fermentativa das amostras em presença da arabinose e da xilose, de acordo com o critério de classificação apresentado por KRISTENSEN & HENRIK-

SEN²¹ e KRISTENSEN²⁰, foi evidenciada segundo processo já anteriormente relatado por HOFER¹⁵.

Para a determinação da tetracionato reductase, recorreu-se ao método recentemente descrito por LE MINOR et alii²³.

Finalmente, quanto à avaliação do grau de sensibilidade das amostras em face aos antibióticos, esta foi ensaiada empregando-se o processo de difusão pelo sistema de discos impregnados*.

Em relação aos aspectos atinentes ao inóculo, ao tempo de incubação e ao processo de leitura dos antibiogramas, foram adotadas, em linhas gerais, as recomendações apresentadas no método de BAUER et alii⁶.

RESULTADOS

O primeiro aspecto, imediatamente arrolado nas amostras de *Salmonella typhi*, refere-se ao problema das caracterizações sorológicas, tendo como modelo a variação V-W de Kauffmann. Com o estudo dessa variação, visa-se definir as culturas segundo a presença (total ou parcial) ou ausência de antígeno Vi, obtendo-se, no presente ensaio, os seguintes resultados que estão assinalados na tabela 1:

TABELA 1

Frequência das formas da variação V-W encontradas nas amostras

Forma	N.º	%
V	14	7,48
V-W	165	88,24
W	8	4,27
Total	187	99,99

Observa-se, portanto, que praticamente 90% das culturas assinaladas apresentaram-se numa forma com evidente início da de-

* Multodiscs Oxoid, tipo Standard, Código n.º 2033E e polidiscos Victor Lorian.

HOFER, E.; PESSÓA, G.V.A.; MORAIS, J.S.; MELLES, C.E.A.; COLNAGO, E.J.; LACERDA, M.D. & VILHENA, M.I. — Considerações sobre o estudo bacteriológico de amostras de *Salmonella typhi* isoladas em um surto epidêmico de febre tifóide ocorrido no município de São Paulo, Brasil. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 34: 53-67, 1974.

gradação do antígeno Vi. Contudo, utilizando o recurso do plantio dessas amostras em placas contendo ágar nutriente, ainda foi possível, em sua quase totalidade, detectar e isolar colônias cujos constituintes mantiveram a integridade desejada de seu antígeno Vi.

Em relação aos resultados encontrados na lisotipia Vi, cumpre salientar que as determinações perpetradas e apresentadas na tabela 2 revelaram a presença de três tipos fágicos Vi, fenômeno que excepcionalmente ocorre em surtos de natureza epidêmica (fig. 1, 2 e 3).

TABELA 2

Frequência dos lisotipos de S. typhi, segundo as fontes de isolamento

Lisotipos e Formas	Origem				Total	
	Hemoculturas		Coproculturas		N.º	%
	N.º	%	N.º	%		
D ₆	79	42,18	18	9,61	97	51,79
Vi degradadas	39	20,82	10	5,34	49	26,16
E l a	18	9,61	5	2,67	23	12,28
A	9	4,80	1	0,53	10	5,33
Vi negativas	8	4,27	—	—	8	4,27
Total	153	81,68	34	18,15	187	99,80

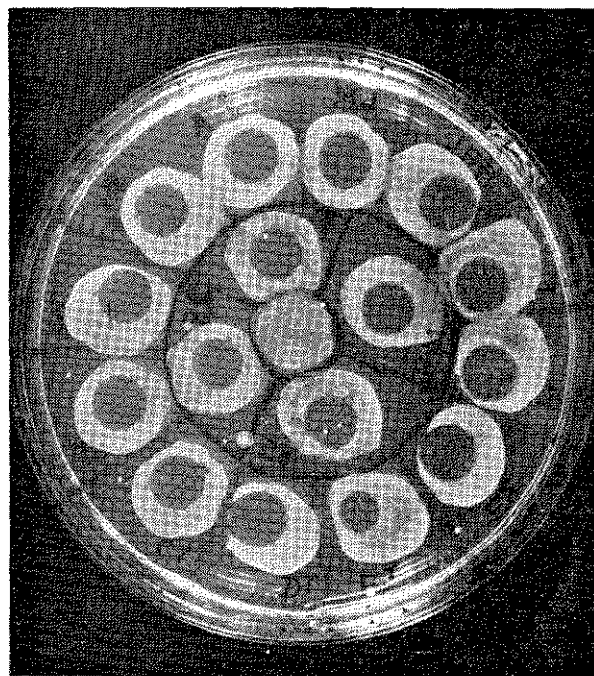


Fig. 1 — Lisotipo A.

HOFER, E.; PESSÓA, G.V.A.; MORAIS, J.S.; MELLES, C.E.A.; COLNAGO, E.J.; LACERDA, M.D. & VILHENA, M.I. — Considerações sobre o estudo bacteriológico de amostras de *Salmonella typhi* isoladas em um surto epidêmico de febre tifóide ocorrido no município de São Paulo, Brasil. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 34: 53-67, 1974.

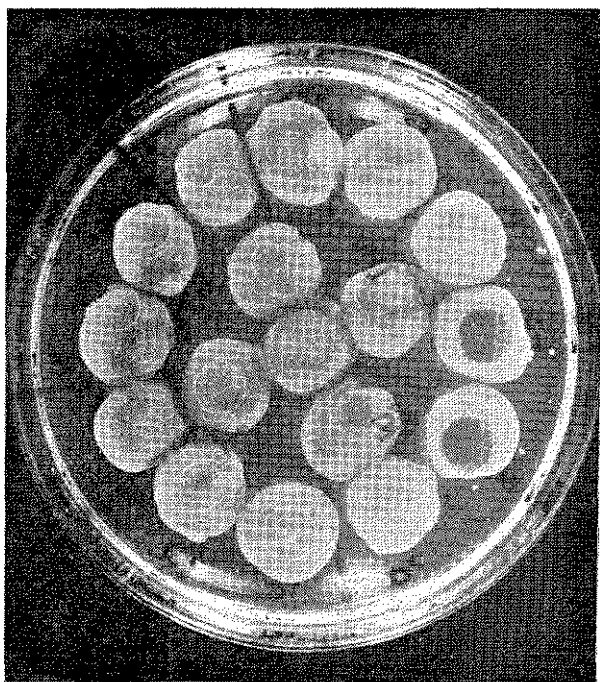


Fig. 2 — Lisotipo E₁.

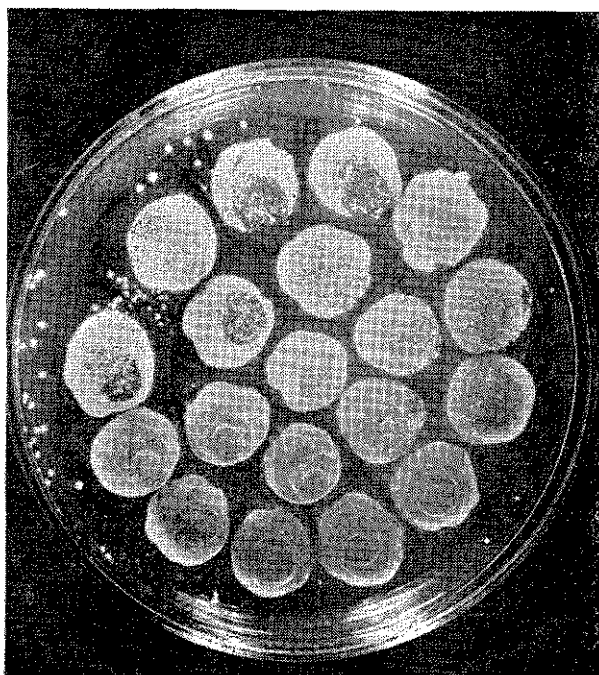


Fig. 3 — Amostra Vi degradada.

HOFER, E.; PESSÓA, G.V.A.; MORAIS, J.S.; MELLES, C.E.A.; COLNAGO, E.J.; LACERDA, M.D. & VILHENA, M.I. — Considerações sobre o estudo bacteriológico de amostras de *Salmonella typhi* isoladas em um surto epidêmico de febre tifóide ocorrido no município de São Paulo, Brasil. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 34: 53-67, 1974.

TABELA 3

Distribuição numérica dos lisotipos e formas, de acordo com os períodos de isolamento

Lisotipos e Formas	Hemoculturas		Coproculturas	
	até 28/3	até 18/5	até 28/3	até 18/5
D ₆	68	11	9	9
Vi degradadas	37	2	5	5
E 1 a	8	10	2	3
A	8	1	1	—
Vi negativas	8	—	—	—
Total	129	24	17	17

Ainda, no que tange à freqüência dos lisotipos e considerando os dois períodos nos quais se efetivaram os isolamentos das amostras, verificar-se-á que alguns detalhes podem ser discutidos nesse âmbito, baseados nas informações que constam da tabela 3.

Assim, nota-se que, na fase compreendida até 28/3/72, as amostras isoladas a partir de hemoculturas identificaram-se, proeminentemente, no lisotipo D₆, enquanto que, em plano bem inferior, localizaram-se os lisotipos E 1 a e A. Já no período limitado pela data de 18/5/72, compartilharam de uma posição destacada, praticamente em igualdade de condições, as amostras de *Salmonella typhi* pertencentes aos lisotipos D₆ e E 1 a. No tocante ao tipo fágico A, observa-se que, nesta fase, esteve figurado em uma única ocasião.

Outras diferenças podem ser discutidas, quando se confrontam os resultados das duas fases consideradas (tabela 3), situando-se, em particular, no aspecto das freqüências das amostras Vi degradadas e Vi negativas, isoladas a partir de hemoculturas.

Por outro lado, analisando os dados consignados para as amostras oriundas de coproculturas, verifica-se uma quase homogeneidade da freqüência dos tipos envolvidos nos dois períodos, ressaltando-se, sem maiores comentários, as discretas diferenças encontradas entre os lisotipos E 1 a e A.

Quanto ao comportamento bioquímico, sedimentado no sistema classificatório de Kristensen, obtiveram-se os resultados discriminados na tabela 4. Convém salientar que, para uma melhor apreciação de cunho epidemiológico, esses dados da atividade fermentadora foram associados àqueles encontrados na lisotípi.

HOFER, E.; PESSÓA, G.V.A.; MORAIS, J.S.; MELLES, C.E.A.; COLNAGO, E.J.; LACERDA, M.D. & VILHENA, M.I. — Considerações sobre o estudo bacteriológico de amostras de *Salmonella typhi* isoladas em um surto epidêmico de febre tifóide ocorrido no município de São Paulo, Brasil. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 34: 53-67, 1974.

TABELA 4

Distribuição dos tipos fermentativos segundo seus lisotipos

Lisotipos e Formas	Tipos fermentativos			
	Tipo I xilose positiva arabinose negativa		Tipo II xilose negativa arabinose negativa	
	N.º	%	N.º	%
D ₆	—	—	97	51,79
Vi degradadas	1	0,53	48	25,63
E l a	23	12,28	—	—
A	10	5,34	—	—
Vi negativas	2	1,06	6	3,21
Total	36	19,21	151	80,63

Quanto aos tipos bioquímicos dos lisotipos de *Salmonella typhi*, nota-se que entre as amostras de bacilos típicos estudadas predominou o tipo fermentativo II (sem ação sobre a arabinose e a xilose), influenciado extraordinariamente pela localização, nesse biotipo, das culturas pertencentes ao lisotipo D₆ e Vi degradadas, que representaram acima de 75% das amostras examinadas.

No que concerne à pesquisa da tetratio-nato redutase, adotando o mesmo critério de conjugar esses resultados aos da lisotipia, observa-se uma destacada ocorrência das amostras possuidoras da tetratio-nato redu-tase, excetuando-se as culturas do lisotipo A, que se mostram incapazes de desdobrar o tetratio-nato (tabela 5):

TABELA 5

Frequência da tetratio-nato redutase entre as amostras estudadas

Lisotipos e Formas	Tetratio-nato redutase			
	positiva		negativa	
	N.º	%	N.º	%
D ₆	97	51,79	—	—
Vi degradadas	49	26,16	—	—
E l a	23	12,28	—	—
A	—	—	10	5,34
Vi negativas	8	4,27	—	—
TOTAL	177	94,50	10	5,34

Finalmente, em relação à análise dos resultados do comportamento das amostras diante dos antibióticos e quimioterápicos, tem-se a assinalar, como detalhe de maior importância, a ausência de amostras que tivessem demonstrado qualquer sinal de resistência às concentrações de cloranfenicol, ampicilina, kanamicina, hetacilina, cefalotina, gentamicina, ácido nalidíxico, ácido oxolínico e colimicina, contidos nos discos. Salienta-se, no entanto, que 5 e 12 amostras, respectivamente, evidenciaram resistência à estreptomomicina e à tetraciclina. Aquelas culturas, rotuladas como estreptomomicina resistentes, caracterizaram-se em quatro oportunidades como lisotipo D₆ e, em uma, como Vi degradada.

No que tange às amostras resistentes à tetraciclina, anotaram-se oito como Vi degradadas, duas do lisotipo E 1 a, reconhecendo-se, em uma única ocasião, os lisotipos A e D₆.

DISCUSSÃO

O conhecimento sobre a ocorrência de casos de febre tifóide no Estado de São Paulo vem, de longa data, positivando-se de maneira incontestável, principalmente após as memoráveis pesquisas de LUTZ^{24,25}. Em suas observações, que remontam ao fim do século passado, demonstrou esse notável pesquisador, nos vários ângulos abordados, como o anatomopatológico, o bacteriológico e mesmo através do recurso sorológico incipiente na época, a existência da doença e o isolamento do agente etiológico, em indivíduos acometidos das então chamadas "febres paulistas".

Com o correr dos anos até os dias atuais, inúmeros foram os surtos epidêmicos registrados na capital ou em outros diferentes pontos do Estado de São Paulo, como pode ser atestado pelos minuciosos levantamentos realizados sobre este assunto, por GALVÃO *et alii*¹⁴ e SCHMID³⁰. Observa-se, no entanto, com base nessas análises retrospectivas, que historiaram a casuística da maioria dos grandes surtos de febre tifóide em nosso meio, que raríssimas são as oportunidades nas quais esses episódios, tanto aqueles ocorridos em São Paulo, como em

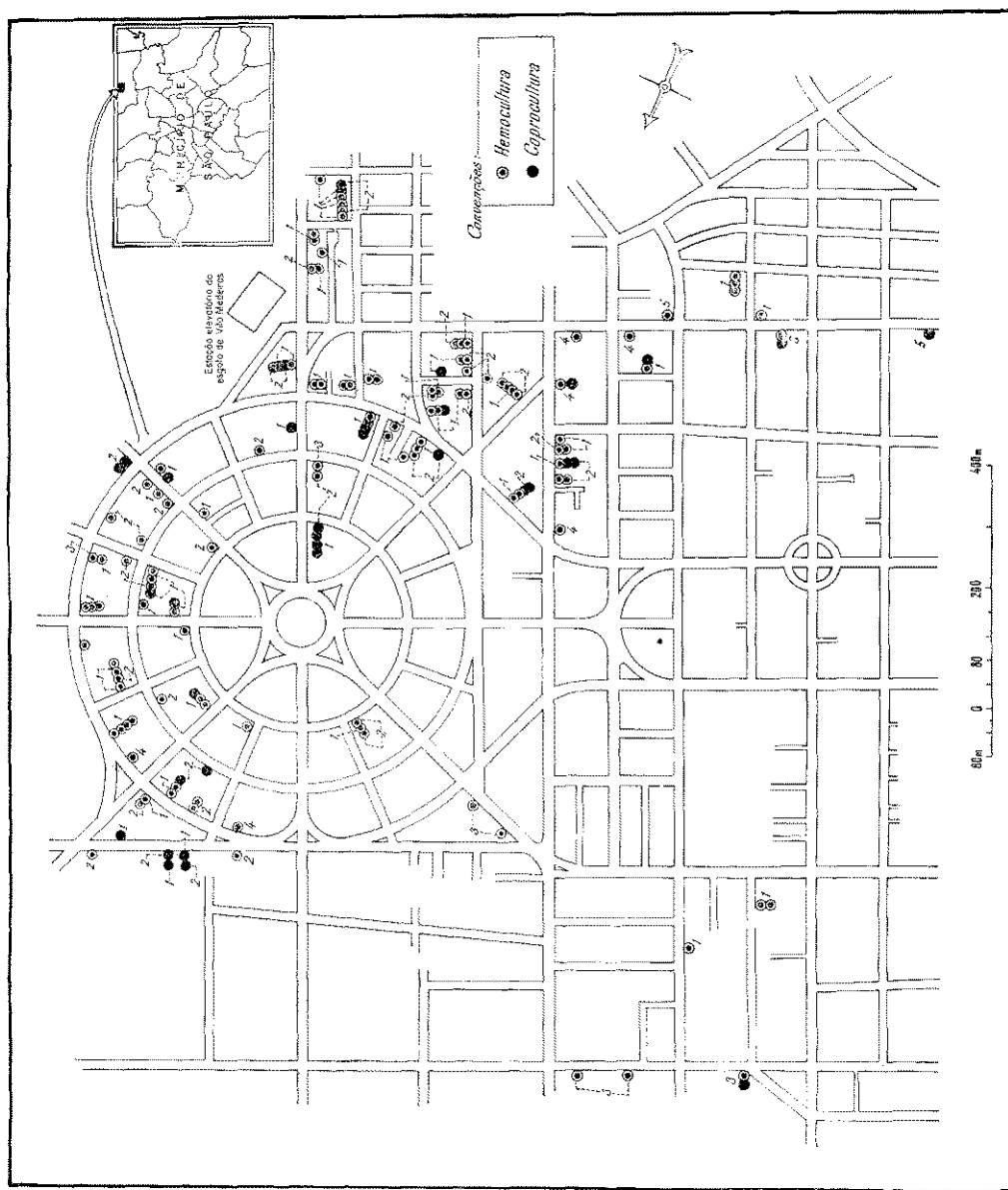
qualquer outra região do Brasil, tenham também sido investigados detidamente sob o prisma bacteriológico, excetuando-se talvez, dessa condição, o trabalho de PACHECO²⁸. Na realidade, os ensaios de laboratório ligados ao problema da febre tifóide, não se limitam apenas ao simples isolamento do agente etiológico mas, muito ao contrário, propiciam hodiernamente elementos de extraordinário valor para o esclarecimento da implantação e da propagação do bacilo tífico em uma determinada área pesquisada, fundamentais para um estudo epidemiológico mais aprofundado.

Assim, condicionados sob essa premissa, foram efetivados alguns estudos de caráter tipicamente bacteriológico nas amostras de *Salmonella typhi*, oriundas de um surto epidêmico de febre tifóide irrompido no fim de fevereiro de 1972, que se prolongou no ano citado. A enfermidade atingiu membros constituintes da população do Parque Edú Chaves, Jardim Brasil e Vila Sabrina, bairros vizinhos e localizados na periferia do município de São Paulo.

Cumprе salientar que o maior número das amostras analisadas originou-se dos casos ocorridos no Parque Edú Chaves, como pode ser atestado pela sua distribuição geográfica, esquematizada no mapa (fig. 4). São também assinalados, no referido mapa, outros pormenores como as fontes das quais foram isoladas as amostras (hemoculturas e coproculturas) e os lisotipos e formas reconhecidas.

As localidades envolvidas no surto de febre tifóide pertencem ao subdistrito de Tucuruvi, que se acha situado ao norte do município, tendo como detalhe topográfico de maior importância a presença do rio Caçu, afluente da margem direita do rio Tietê. Segundo uma estimativa extra-oficial, a população da área, na qual ocorreu a epidemia, foi calculada aproximadamente em 100.000 habitantes.

Baseados nos cálculos apresentados por GALVÃO *et alii*¹⁴ referentes aos coeficientes médios de morbidade por febre tifóide no município de São Paulo, durante o período 1949-1953, conclui-se que o subdistrito de Tucuruvi, assim como as áreas limítrofes, representadas por Santana e Vila



- | | |
|----------------------------|--------------------------|
| 1. Lisotipo D ₆ | 4. Lisotipo A |
| 2. Formas Vi degradadas | 5. Amostras Vi negativas |
| 3. Lisotipo E 1 a | |

Fig. 4 — Distribuição geográfica dos lisotipos caracterizados, na epidemia de febre tifóide no Parque Edú Chaves, município de São Paulo.

Maria, já ocupavam, naquela época, posições das mais proeminentes na ocorrência desta enfermidade.

Os resultados deparados nas caracterizações bacteriológica e bioquímica das amostras evidenciaram nitidamente um fenômeno de rara ocorrência nos dias atuais, pois demonstraram a presença concomitante de três tipos fágicos (A, E 1 a e D₆), além de duas formas de *Salmonella typhi* (amostras Vi degradadas e Vi negativas), representados por dois tipos distintos de natureza bioquímica, tanto na classificação de Kristensen, como na pesquisa da tetraonato redutase.

A existência de mais de um lisotipo Vi, em uma epidemia de febre tifóide, contraria frontalmente a teoria da origem unitária desse acontecimento, exceção feita, quando o mecanismo de transmissão for efetivado através de um veículo contaminado por águas de esgoto, provenientes principalmente de um grande centro populacional, fonte por demais reconhecida como albergadora de mais de um tipo fágico de *Salmonella typhi*.

A irrupção de um pequeno número de casos da doença, limitada a uma área, permite ainda supor, não para essa eventualidade analisada, a presença de um portador na cadeia epidemiológica, que se caracteriza por eliminar, para o meio ambiente, dois tipos fágicos aparentados de *Salmonella typhi*, sendo que um, provavelmente,

propiciou a derivação do outro tipo, no próprio organismo do portador. Este fenômeno foi, inicialmente, estudado e comprovado "in vitro" por ANDERSON ¹, que em outro minucioso trabalho, de publicação mais recente ², investigou e corroborou a transformação ocorrida no lisotipo 34 para o tipo A, quando a amostra do fagotipo precursor, isto é, tipo 34 foi introduzida artificialmente em carnes enlatadas. Este acontecimento veio a se constituir no elemento fundamental para explicar o fenômeno da presença de dois lisotipos na epidemia de Aberdeen, cujo veículo, de disseminação, esteve representado por tal alimento.

Um detalhe extremamente interessante situa-se nos resultados da lisotipia das amostras do Parque Edú Chaves, que propiciaram a caracterização do tipo fágico D₆. Pode-se, inclusive, afirmar que se tratou de um achado surpreendente, com base sedimentada nas investigações anteriores ^{16, 17} que, em nenhuma oportunidade até então, tinham possibilitado detectar o lisotipo D₆ entre as culturas de bacilos típicos oriundas dos Estados de São Paulo e da Guanabara.

Para uma comprovação e, por conseguinte, uma melhor avaliação dessa particularidade assinalada, são apresentados, na tabela 6, os dados referentes à frequência dos diferentes lisotipos ocorrentes na região que foi acometida com os casos de febre tifóide, assim como, em áreas vizinhas, durante o período de 1966-1970.

TABELA 6

Lisotipos de S. typhi encontrados no Parque Edú Chaves, Jardim Brasil e áreas vizinhas no período de 1966-1970.

Localidades	Lisotipos					Vi Degradadas	Total
	A	E 1 a	F 1	L 1	I + IV		
Jardim Brasil	1	2	—	2	1	—	6
Tucuruvi	3	1	1	—	—	—	5
Guarulhos	3	—	—	—	1	—	4
Jaçanã	1	—	—	—	1	1	3
Edú Chaves	1	1	—	—	—	—	2
Vila Medeiros	—	—	—	—	1	—	1
Total	9	4	1	2	4	1	21

Em complemento à análise da lisotipia, acrescenta-se que os resultados da caracterização bioquímica dessas amostras revelaram, em sua totalidade, que aquelas pertencentes aos tipos fágicos A, L₁ e I+IV classificaram-se no biotipo II, enquanto que os lisotipos E 1 a e F1 enquadraram-se no biotipo I. Sem uma única exceção, todas as culturas evidenciaram a presença da tetracionato redutase.

Convém todavia frisar que entre as amostras provenientes de Salvador, Bahia (dados a serem publicados), foram caracterizadas algumas como pertencentes ao lisotipo em questão, deixando portanto bem claro que, em certas áreas do Brasil, este tipo fágico está presente. Ainda, em relação a esse pormenor, destaca-se que o perfil bioquímico das amostras do lisotipo D₆, tanto daquelas isoladas em São Paulo como as da Bahia, foi idêntico, situando-se no biotipo II, da classificação de Kristensen (xilose e arabinose negativas) e demonstrando, na totalidade, serem possuidoras da tetracionato redutase.

Outro fato, digno de uma exposição pormenorizada, reside no ponto figurado pelo grande número de exemplares de amostras consideradas impróprias para a lisotipia, representadas pelas culturas com o antígeno Vi degradado. Pela possibilidade da caracterização por meio das preparações adaptadas do fago Vi II, essas amostras criam extraordinária dificuldade, ou mesmo, tornam-se inadequadas a qualquer outra iniciativa nesse campo, para a identificação de seus lisotipos primitivos. No problema em pauta, as nossas amostras, definidas como Vi degradadas, podem ser admitidas como prováveis descendentes do lisotipo D₆, em decorrência de apresentarem uma nítida resistência à lise por ação dos fagos somáticos (01, 02 e 03) de Felix e Callow, comportando-se, de modo idêntico, àquelas culturas, reconhecidas no tipo fágico D₆. Além disso, salienta-se que os demais lisotipos envolvidos na epidemia, E 1 a e A, demonstraram ser sensíveis à ação lítica dos fagos somáticos.

Aumentando ainda mais esta possibilidade de um vínculo mais íntimo entre os lisotipos D₆ e as formas Vi degradadas, tem-se a assinalar o detalhe da homogeneia das

reações observadas na tipificação bioquímica.

Finalmente, como em circunstância de difícil refutação do elo entre as duas formas de *Salmonella typhi*, pode-se alegar o isolamento do bacilo tífico nas duas vias pesquisadas, isto é, do sangue e das fezes dos mesmos doentes. Assim, em cinco indivíduos acometidos de febre tifóide, as hemoculturas efetuadas evidenciaram quatro vezes o lisotipo D₆ e em apenas uma ocasião, a forma Vi degradada. Já as coproculturas realizadas nessas mesmas pessoas revelaram, somente em duas oportunidades, o lisotipo D₆, ficando as três amostras restantes caracterizadas como Vi degradadas. Corroborando esta relação aventada, salienta-se que essas culturas apresentaram idênticas reações nas provas bioquímicas perpretadas, como também, foram observados resultados praticamente análogos nos antibiogramas.

Por sinal, este aspecto da transformação "in vivo" do lisotipo D₆ para formas Vi degradadas pode ser arrolado como uma tentativa para explicar o fenômeno da extrema labilidade do antígeno Vi, demonstrado por essas culturas. Desde o início, a grande maioria das amostras se comportaram dentro do esquema sorológico da variação V-W de Kauffmann, como espécimes cujo antígeno Vi estava em franca fase de degradação.

Aliás, à vista do problema exposto, existiria, além dos fatores normais que intrinsecamente influenciam as alterações que ocorrem nas estruturas antigênicas da *Salmonella typhi*, outro fator relacionado com o isolamento de umas poucas colônias ou, como na maioria das vezes ocorre, de uma única, durante a fase de identificação e sua posterior manutenção no laboratório. Desta forma, na eventualidade do recolhimento de uma colônia que por ventura estivesse na fase inicial de perda da especificidade do antígeno Vi, esta condição em sementeiras posteriores implicaria e revelaria o domínio de uma progênie com permanente deficiência ou total desaparecimento do antígeno Vi.

A fim de contornar tal problema, Anderson e Felix enfatizam como ponto capital para a observação plena das reações na lisotipia Vi que, de cada exame, sejam isoladas pelo menos dez colônias de *Salmo-*

nella typhi, na fase V, como também frisam a necessidade de que essas amostras devem ser mantidas preferencialmente em meio de Dorset ou Pai.

Contrastando a esta alteração verificada entre as amostras do lisotipo D₆ e os demais tipos fágicos envolvidos, principalmente, as culturas do lisotipo A evidenciaram um elevado grau de estabilidade do antígeno Vi, refletindo-se pela predominância de amostras na fase V, mesmo após terem sido efetuados alguns repiques, com a finalidade precípua de visualizar a intensidade da possível degradação deste antígeno de envoltório. Se antes não tinha sido detectado na região o lisotipo D₆, o mesmo fato não ocorreu com os dois outros tipos fágicos identificados, em particular o lisotipo E 1 a, cuja frequência foi das mais destacadas, em observações anteriores, apresentando também uma perfeita identidade no que concerne às reações bioquímicas. Assim, agruparam-se essas amostras no biotipo I, isto é, fermentando apenas a xilose e todas foram capazes de desdobrar o tetrionato.

Quanto às amostras do lisotipo A, revelaram certas particularidades bioquímicas não muito comuns, quais sejam, de se classificar no biotipo I e serem desprovidas da tetrionato redutase. Embora esse pormenor de natureza bioquímica do lisotipo A possa ser considerado como discreto, em sua ocorrência normal, não é, no entanto, totalmente invulgar, pois em ensaios anteriores já foram consignadas culturas isoladas no município de São Paulo, com tal característica.

Com o recurso da verificação do comportamento das amostras diante dos fagos somáticos, possível se torna levantar a hipótese de relacionar a filiação das seis culturas, definidas como isentas do antígeno Vi, todas pertencentes ao mesmo tipo bioquímico (biotipo II), como prováveis remanescentes do lisotipo D₆.

Colocando em plano de discussão a forma pela qual o lisotipo D₆ tenha atingido as proporções de tal importância no surto epidêmico em estudo, pode-se considerar, em primeiro lugar, que obviamente entre os habitantes da região ou da circunvizinhança estiveram presentes portador ou portadores

deste lisotipo. Implica tal conjectura em advogar que talvez esses indivíduos tenham adquirido e desenvolvido a enfermidade sob uma forma assintomática, bem como é possível aventar a suposição de que se tenham infectado em outras regiões do país, ou mesmo, no estrangeiro. Por ora, todas essas circunstâncias detalhadas podem ser consideradas plenamente válidas, na tentativa de explicar o aparecimento do lisotipo D₆ que, até então, não tinha sido assinalado no município de São Paulo.

Em nosso meio, o lisotipo D₆ foi reconhecido apenas entre as amostras de bacilos típicos isolados em Salvador, Bahia, como foi dito anteriormente, apesar de que NICOLLE *et alii* ²⁷, com base em seus levantamentos da distribuição geográfica mundial, consideram-no como lisotipo semi-cosmopolita. Caracterizam ainda os autores supracitados que as áreas de maior incidência do lisotipo D₆ concentram-se no Japão, no extremo-oriental; Marrocos e Senegal, no continente africano, e Peru e Argentina, na América do Sul.

Também SCHOLTENS ³¹ descreve a presença freqüente do lisotipo D₆ nas amostras da Indonésia, inclusive tendo este fato uma extraordinária repercussão na fórmula de Lisotipia, determinada na Holanda, em razão dos antigos vínculos coloniais existentes entre essas regiões.

Relativamente ao comportamento bioquímico do lisotipo D₆, após consulta dos resultados encontrados por JUDE & NICOLLE ¹⁸ e PAVLATOU & NICOLLE ²⁹, que em síntese caracterizam-no como heterogêneo em suas reações, verificou-se, entretanto, que a maioria das amostras oriundas do extremo-oriental apresentaram uma maior tendência em se classificar no biotipo II.

Quanto aos resultados da caracterização bioquímica segundo Kristensen, tem-se ainda a destacar fundamentalmente a presença do biotipo I entre as amostras do tipo fágico A. Sem dúvida alguma esse detalhe, aliado a uma circunstância peculiar, que essas culturas demonstraram na sua incapacidade de desdobrar o tetrionato, constituíram-se em elementos de substancial importância para a sua nítida discriminação dos lisotipos e das formas restantes envolvidos no problema.

Em pertinência a esse aspecto, salienta-se, ainda, que em poucas ocasiões tais culturas foram identificadas no município de São Paulo, tendo como ponto contraditório, que a maioria dessas amostras teve como referência suas origens locais, muito distantes dentro do município, sem a menor conexão com o Parque Edú Chaves e suas áreas vizinhas.

Infere-se do exposto que as provas de natureza bioquímica propiciaram, com seus resultados, a possibilidade de estabelecer nitidamente as diferenças existentes nos três tipos fágicos caracterizados. Além disso, e de modo peremptório, orientaram extraordinariamente a concatenar o conceito de que as amostras individualizadas como Vi degradadas, e Vi negativas, representassem, em sua quase totalidade, seqüelas de um lisotipo ancestral, provavelmente o tipo D₆.

Finalmente, analisando os resultados obtidos nas determinações efetuadas nos antibiogramas, verificou-se que nenhuma das amostras evidenciou qualquer sinal de resistência ao cloranfenicol, ampicilina e heta-

cilina, fármacos rotineiramente utilizados na terapêutica da febre tifóide. É interessante discorrer sobre essa faceta, uma vez que, em período idêntico ao surto de São Paulo, ocorreu também no México uma epidemia de febre tifóide, de largas proporções e que se caracterizou pelo elevado número de culturas de *Salmonella typhi* resistentes a altas concentrações de cloranfenicol, tetraciclina e estreptomina ⁸.

Cumpra salientar que, curiosamente, este fenômeno da múltipla resistência do bacilo tífico foi, inicialmente, reconhecido e descrito por ANDERSON & SMITH ³, em duas amostras isoladas de ingleses que se contaminaram no México.

AGRADECIMENTOS

Aqui expressamos os nossos agradecimentos à Sta. Rosemary Ribeiro e aos Srs. Joel Antunes e Junair Ribeiro, pela colaboração prestada no desenvolvimento das tarefas auxiliares.

RIAL-A/400

HOFER, E.; PESSÓA, G.V.A.; MORAIS, J.S.; MELLES, C.E.A.; COLNAGO, E.J.; LACERDA, M.D. & VILHENA, M.I. — On the bacteriological study of *Salmonella typhi* strains isolated during an epidemic outbreak of typhoid fever in São Paulo, Brazil. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 34: 53-67, 1974.

SUMMARY: From February to May 1972, 187 *Salmonella typhi* strains were isolated during an epidemic outbreak of typhoid fever in the São Paulo area. Such cultures were analysed from several standpoints such as a) serological, where they were classified as to the variation of Vi antigens; b) biochemical, where fermentative types were established, based on the reactions with xylose and arabinose plus the investigations of tetrathionate reductase; c) sensibility to antibiotics; d) classification by Vi-phage typing.

The results demonstrated a very unusual situation namely, the presence in an epidemic outbreak of typhoid fever, of three Vi-phage types: D₆, E1a and A, plus 2 biochemical types which are considered to be inadequate for determination with Vi II adapted phage types (Vi degraded strains and strains with no Vi antigens).

DESCRIPTORS: *Salmonella typhi*; typhoid fever (São Paulo); bacteriophage.

HOFER, E.; PESSÓA, G.V.A.; MORAIS, J.S.; MELLES, C.E.A.; COLNAGO, E.J.; LACERDA, M.D. & VILHENA, M.I. — Considerações sobre o estudo bacteriológico de amostras de *Salmonella typhi* isoladas em um surto epidêmico de febre tifóide ocorrido no município de São Paulo, Brasil. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, **34**: 53-67, 1974.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ANDERSON, E.S. — The significance of Vi-phage types F1 and F2 of *Salmonella typhi*. *J. Hyg. (Camb.)*, **49**: 458-70, 1951.
2. ANDERSON, E.S. & HOBBS, B.C. — Studies of the strain of *Salmonella typhi* responsible for the Aberdeen typhoid outbreak. *Israel J. med. Sci.*, **9**: 162-74, 1973.
3. ANDERSON, E.S. & SMITH, H.R. — Chloramphenicol resistance in the typhoid bacillus. *Br. med. J.*, **3**: 329-31, 1972.
4. ANDERSON, E.S. & WILLIAMS, R.E.O. — Bacteriophage typing of enteric pathogens and staphylococci and its use in epidemiology. *J. clin. Path.*, **9**: 94-127, 1956.
5. ASH, I.; MCKENDRICK, G.D.W.; ROBERTSON, M.H. & HUGHES, L.H. — Outbreak of typhoid fever connected with corned beef. *Br. med. J.*, **1**: 1474-78, 1964.
6. BAUER, A.W.; KIRBY, W.M.M.; SHERRIS, J.C. & TURCK, M. — Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am. J. clin. Path.*, **45**: 493-6, 1966.
7. BERNARD, R.P. — The Zermatt typhoid outbreak in 1963. *J. Hyg. (Camb.)*, **63**: 537-63, 1965.
8. BESSUDO M., D.; OLARTE, J.; MENDOZA-HERNÁNDEZ, P.; GALINDO, E.; CARRILLO, J.; GUTIÉRREZ-TRUJILLO, G. & KUMATE, J. — Aislamiento de *S. typhi* resistente a altas concentraciones de cloranfenicol. *Bolet. Of. sanit. pan-am.*, **74**: 1-6, 1973.
9. BRANDIS, H. — Zur Unterteilung des Typhusbakterientypes E. *Zentbl. Bakt. Parasitkde, Abt. I, Orig.*, **162**: 223-4, 1955.
10. CRAIGIE, J. & BRANDON, K.F. — The laboratory identification of the V form of *B. typhosus*. *Can. Publ. Hlth J.*, **27**: 165-70, 1936.
11. CRAIGIE, J. & FELIX, A. — Typing of typhoid bacilli with Vi bacteriophage. *Lancet*, **252** (1): 823-7, 1947.
12. CRAIGIE, J. & YEN, C.H. — The demonstration of types of *B. typhosus* by means of preparations of Type II Vi phage. 1. Principles and technique. *Can. publ. Hlth J.*, **29**: 448-63, 1938.
13. FELIX, A. & CALLOW, B.R. — Typing of paratyphoid B bacilli by means of Vi bacteriophage. *Br. med. J.*, **2**: 127-30, 1943.
14. GALVAO, A.L.A.; MORAES, N.L.A.; BIRKHOLZ, L.B. & GARCEZ FILHO, J.M. — Sobre alguns elementos da estrutura epidemiológica da cidade de São Paulo no que se refere a doenças cujos agentes etiológicos se eliminam pelos excreta. *Archos Fac. Hyg. Saúde publ. Univ. S. Paulo*, **10**: 1-48, 1956.
15. HOFER, E. — Tipos bioquímicos de *Salmonella typhi*, de algumas regiões do Brasil. *Rev. Soc. bras. Med. trop.*, **6**: 157-62, 1972.
16. HOFER, E.; NOVAES, J.R.C. & PESSÓA, G.V.A. — Lisotipos e tipos fermentativos de *Salmonella typhi* isoladas no Estado de São Paulo. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, **32**: 7-15, 1972.
17. HOFER, E. & VICENTE, M.M.A. — Lisotipia Vi e classificação bioquímica de amostras de *Salmonella typhi* isoladas no Estado da Guanabara. *Mems Inst. Oswaldo Cruz*, **70**: 151-66, 1972.
18. JUDE, A. & NICOLLE, P. — Determination des types bactériophagiques (Vi-phage typing) et caractères biochimiques de souches de *Salmonella typhi* isolées dans les hopitaux militaires de la métropole et de certains territoires de l'Union Française. *Annls Inst. Pasteur (Paris)*, **77**: 550-60, 1949.
19. KAUFFMANN, F. — Über einen neuen serologischen Formenwechsel der Typhusbacillen. *Z. Hyg. Infektkrankh.*, **116**: 617-52, 1935.
20. KRISTENSEN, M. — Studies on the type division of the typhoid and paratyphoid B bacilli by fermentation. *J. Hyg. (Camb.)* **38**: 688-701, 1938.
21. KRISTENSEN, M. & HENRIKSEN, H.C.D. — Reactions fermentatives du bacille typhique et leur rôle épidémiologique. *Acta path. microbiol. scand.*, **3**: 551-82, 1926.
22. LANDY, M. — The visual identification of V and W form colonies in *Salmonella* cultures. *Publ. Hlth Rep. (Wash.)*, **65**: 950-1, 1950.

HOFER, E.; PESSÓA, G.V.A.; MORAIS, J.S.; MELLES, C.E.A.; COLNAGO, E.J.; LACERDA, M.D. & VILHENA, M.I. — Considerações sobre o estudo bacteriológico de amostras de *Salmonella typhi* isoladas em um surto epidêmico de febre tifóide ocorrido no município de São Paulo, Brasil. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, **34**: 53-67, 1974.

23. LE MINOR, L.; CHIPPAUX, M.; PICHINOTY, F. COYNAULT, C. & PIÉCHAUD, M. — Méthodes simples permettant de rechercher la tétrathionate-réductase en cultures liquides ou sur colonies isolées. *Annls Inst. Pasteur* (Paris), **119**: 733-7, 1970.
24. LUTZ, A. — Reminiscencias da febre typhoide. *Mems Inst. Oswaldo Cruz*, **31**: 851-65, 1936.
25. LUTZ, A. — Reminiscences on typhoid fever. *Ibid* p. 867-8.
26. NICOLLE, P.; JUDE, A. & LE MINOR, L. — Relation entre l'intensité de l'irisation présentée par certaines colonies de *Salmonella* et leur constitution antigénique. *Annls Inst. Pasteur* (Paris), **78**: 572-82, 1950.
27. NICOLLE, P.; VIEU, J.F.; DIVERNEAU, G.; BRAULT, J. & KLEIN, B. — Utilisation en épidémiologie typhoïdique de la diversité des bacilles typhiques. II. Distribution géographique des lysotipes de *Salmonella typhi*. *Bull. Acad. Natn. Méd.*, **154**: 481-7, 1970.
28. PACHECO, G. An epidemic of typhoid fever due to polluted water. *Rev. Biol. Hyg.*, **3**: 112-9, 1932.
29. PAVLATOU, M. & NICOLLE, P. — Incidence des types biochimiques parmi les types bactériophagiques de *Salmonella typhi*. *Annls Inst. Pasteur* (Paris), **85**: 185-98, 1953.
30. SCHMID, A.W. — Contribuição para o estudo da epidemia de febre tifóide no Município de Itatiba em 1954. *Arq. Fac. Hig. Saúde Publ. Univ. S. Paulo*, **14**: 1-86, 1960.
31. SCHOLTENS, R. TH. — Phage typing of *Salmonella typhi* in the Netherlands. *Antonie van Leeuwenhoek*, **16**: 245-55, 1950.

Recebido para publicação em 6 de junho de 1974.

