

A CLASSIFICAÇÃO DOS BACILOS TÍFICOS PELO FAGOS V TIPO II NA EPIDEMIOLOGIA DA FEBRE TIFÓIDE

Newton Neves da Silva

e

Dinarte Ribeiro Neto

De acôrdo com as normas sanitárias clássicas, a campanha contra as febres do grupo tífico repousa nos seguintes pontos básicos:

- I — Higienização dos gêneros alimentícios
- II — Água potável e rêde de esgotos às populações
- III — Vacinação específica
- IV — Controle dos portadores de germes.

Si analisarmos, porém, mais detidamente, as fontes de contaminação dos itens I e II veremos que os portadores de germes representam aí um dos fatores da mais alta importância, sinão o exclusivo no item I.

Os portadores convalescentes e, principalmente, os portadores crônicos são os que representam o maior papel na manutenção endêmica da febre tifóide entre nós.

Nas organizações sanitárias bem aparelhadas, como a do Rio Grande do Sul, o controle dos portadores é feito pelos chamados exames de libertação, isto é, na convalescença são feitas pesquisas do bacilo tífico nas fezes e urina dos pacientes, com intervalo de 10 dias. Com dois exames consecutivos negativos o indivíduo é libertado, isto é, pode retornar as suas ocupações habituais, mesmo que sejam estas de manipulação de gêneros alimentícios ou em serviços domésticos de cozinha. No entanto, tais exames nem sempre são realizados nas condições mínimas exigidas, além do que, deve ser levado em conta a eliminação intermitente do germe. Nestas condições o controle dos portadores de germes não pôde ser feito de maneira a dar uma plena segurança na profilaxia da fe-

bre tifóide. Do outro lado existem portadores de formas W, isto é, formas consideradas por muitos autores como não-patogênicas.

Uma grande aquisição para a epidemiologia e patogenia da febre tifóide deriva dos trabalhos de Felix e Pitt que, em 1934, mostraram que os bacilos tíficos virulentos possuíam, ao lado dos clássicos antígenos H e O, isto é, os antígenos ciliares e somáticos, um outro antígeno, também somático, e o responsável pela virulência do germe. Este antígeno foi denominado por aqueles autores como antígeno Vi ou simplesmente antígeno V, como atualmente é referido.

Logo em seguida vêm os trabalhos de Sertic e Bougalov, isolando um bacteriófago específico para este antígeno V, ou mais precisamente para as formas V de bacilo tífico.

Completando os estudos epidemiológicos da febre tifóide, surgiram os trabalhos de Craigie & Brandon e Craigie & Hui Hen sôbre os bacteriófagos V e sua aplicação na classificação dos bacilos tíficos.

A história dos bacteriófagos remonta ao fim do século passado quando Hankin observou que as águas dos rios Ganges e Jumma eram dotadas de uma ação lítica mais ou menos intensa sôbre determinadas bactérias e que esta propriedade era destruída com o aquecimento da água a 100 graus. Apesar de acreditar numa substância volátil como causa determinante deste efeito, é de se crer que se tratava realmente de bacteriófagos, já que se sabe hoje serem as águas de rios muito ricas em princípios líticos, aliás uma das principais fontes de depuração natural das águas de rio.

A seguir vêm os trabalhos de Twort, com sua substância vítrea transmissível em série.

Em 1917 surgem os trabalhos de D'Herelle que com suas numerosas e bem documentadas experimentações é considerado como o verdadeiro descobridor do bacteriófago. Este autor, estudando as propriedades biológicas do bacteriófago, especialmente sua transmissibilidade em série, em centenas de gerações, concluiu que o princípio lítico ativo era um "ultra-microbio" ou um vírus filtrável.

Devido as suas propriedades especiais, especialmente à sua ação lítica, os bacteriófagos somente interessaram à terapêu-

tica das doenças infecciosas. Numerosos foram os trabalhos publicados, uns pró outros contra à eficácia desse tratamento em determinadas moléstias, especialmente nas do grupo coli-tífico-disentérico.

Uma outra faceta da aplicação dos bacteriófagos em medicina humana foi revelada pelos trabalhos de Craigie e cols., a partir do ano de 1936. Estes autores, estudando os fagos (nome atualmente mais usado para designar os bacteriófagos) tíficos Vi, classificaram, de acôrdo com suas propriedades, em 4 tipos, a saber:

Fago Vi	Tamanho relativo da partícula	Temp. mínima mortal (30 minutos)	Neutralização pelo soro anti-fago I-II-III-IV	Atividade lítica para as formas V do bacilo tífico
Tipo I	Fago grande	67-70 graus	+ — — —	Lisa tôdas as formas V.
Tipo II	Fago médio	69-72 graus	— + — —	Desenvolve uma alta atividade lítica seletiva para o tipo de bacilo tífico sôbre o qual é propagado.
Tipo III	Fago pequeno	61-64 graus	— — + —	Lisa a maioria das formas V.
Tipo IV	Fago médio	59-62 graus	— — — +	Lisa a maioria das formas V, com excepção do tipo D1 e F.

O tipo II, por suas características definidas — se adapta à raça sôbre a qual é propagado — é o que mais de perto interessa à epidemiologia, da febre tifóide. No V Congresso Internacional de Microbiologia, reunido em 1947 em Copenhagen, Dinamarca, houve uma padronização internacional dos fagos V, ficando encarregado de fornecer os padrões os Laboratórios da Saúde Pública de Montreal, Canadá.

Até agora foram classificados os seguintes sub-tipos do fago II:

A, B1, B2, B3, C, D1, D2, D4, (Felix), D4 (H.P. 56), D5, D6, E1, E2, F1, F2, G, H, K, L1, L2, M, N, O e T.

Como se tipificam os bacilos tíficos em relação aos fagos-padrões V?

Por solicitação, recebemos da Saúde de Montreal os fagos-padrões, bem como as respectivas raças de bacilo tífico. Por ainda não estarem aptas a serem distribuídas, não nos foram remetidos os fagos O e T, bem como as raças de germe correspondente. A técnica de tipificação que empregamos em nossos trabalhos, em linhas gerais, é a seguinte:

Isolado o germe do sangue do paciente pelas maneiras usuais, passamos em seguida para meio de ovo (3 partes de gemas homogeneizadas e 1 parte de soro fisiológico, esterilizado por tinalização), para conservação da fase V.

No dia da tipificação (uma vez por semana) o germe era passado para caldo-simples e levado à estufa a 37 graus durante 3 a 4 horas. Ao mesmo tempo distribuímos gelose-alcalina em placas de Petri grandes - 20 x 3 (nutrient broth 20 gs, Bacto-agar 20 gs, NaCl 7,5 gs. e água destilada 1.000 cc. pH - 7,8). Depois de secas na estufa, semi-abertas, era feita a semeadura com o germe já crescido no caldo. Esta semeadura praticamos de 2 maneiras: 1.º É a técnica recomendada por Craigie e cols., isto é, com uma alça de platina de 2,75 mm. de diâmetro retirávamos uma gotícula do caldo e espalhávamos levemente, sem ferir o meio, numa área de 1,5 a 2 cm. de diâmetro. Trabalhamos sempre com 2 alças, pois enquanto uma esfria usamos a outra. 2.º É a técnica usada por Frobisher de semadura em tiras, isto é, com pincéis de fios bem finos, esterilizados pela fervura, praticamos distensões na gelose. Semeado o germe a placa era levada à estufa para secar. Seca a placa, numeramos cada quadrante com a relação dos fagos-padrões. A seguir, com as mesmas alças usadas, isto é, alças de 2,75 mm. de diâmetro (carregando cerca de 1/200 de cc.) colocávamos no centro de cada quadrante uma alça do fago correspondente. Colocados todos os fagos, a placa era levada para estufa a 37 graus e a leitura era feita 18 horas após.

A classificação deve ser feita de acordo com o quadro anexo, pois uma mesma raça de bacilo tífico pode ser lisada totalmente por mais de um sub-tipo do fago II. Apresentamos também 2 fotografias de placas, no momento da leitura dos resultados.

Qual o interesse epidemiológico da classificação dos bacilos tíficos pelos fagos V tipo II?

A importância desta classificação se refere a dois pontos primordiais:

- 1.º Estes fagos tendo uma ação lítica exclusiva e específica para as formas V de bacilo tífico, representa a maneira mais segura e precisa de classificar um portador de germe, isto é, saber se é um portador perigoso ou um portador avirulento. Conseqüentemente, as medidas sanitárias devem ser dirigidas e restritas unicamente para o portador de bacilos V.

- 2.º No caso de epidemias os germes isolados são sempre sensíveis ao mesmo fago. Do outro lado, exames repetidos em portadores crônicos revelam não haver nenhuma variação de seu germe frente ao fago homólogo, a não ser no caso dos bacilos passarem para as chamadas formas imperfeitas ou formas W.

A experiência tem mostrado haver uma concordância notável entre os resultados obtidos com a identificação dos bacilos tíficos pelos fagos II, com os dados fornecidos pelo inquérito epidemiológico.

Na febre tifóide endêmica, como a que ocorre em nossas cidades, casos ligados epidemiologicamente são sempre produzidos pelo mesmo tipo de bacilo e se alguma divergência for encontrada, temos a certeza que a falha resulta do inquérito epidemiológico. Um caso de febre tifóide produzida por bacilo tífico tipo D1 só poderá ser resultante de contaminação com um portador de tipo D1.

A classificação dos bacilos tíficos pelos fagos V tipo II representa a maneira mais segura de filiar e ligar casos de febre tifóide endêmica e verificar a fonte comum que determinou o aparecimento de germe, fim último de todo o inquérito epidemiológico.

A sensibilidade dos bacilos tíficos aos fagos homólogos é mais estável que suas propriedades culturais ou sorológicas.

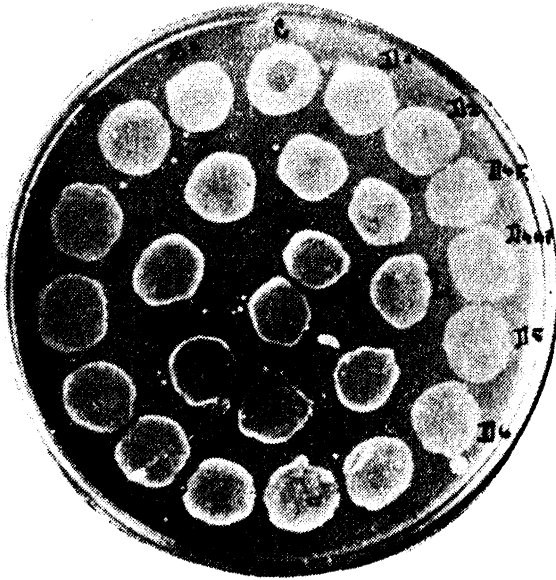
Nos Laboratórios do Departamento Estadual de Saúde do Rio Grande do Sul iniciamos uma tipificação sistemática de todo o germe lá isolado. Num próximo trabalho mostraremos a frequência de cada tipo de bacilo, bem como a respectiva filiação epidemiológica. Podemos adiantar, entretanto, apesar do número de raças estudadas ser ainda pequeno, haver uma predominância dos tipos D1, D4 e E1 e, do outro lado, cerca de 25% das raças isoladas em Porto Alegre, apesar de estarem na fase V, não são tipificadas pelos fagos que usamos. Serão raças tipo O ou T (fagos-padrões ainda não recebidos por nós), ou serão novos tipos de bacilos?

Encerrando este breve trabalho sobre a importância da classificação dos bacilos tíficos pelos fagos homólogos na luta contra a febre tifóide, podemos repetir o que pensam outros autores: "A importância da pro-

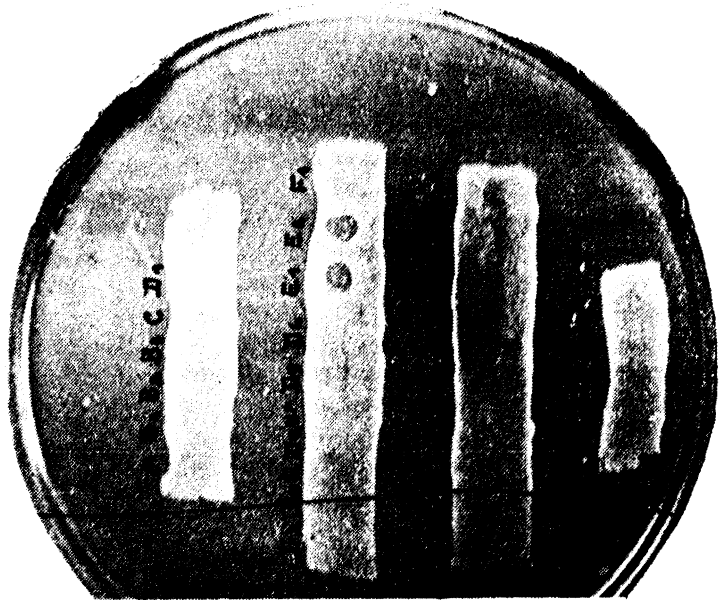
cura dos portadores de germes e sua identificação pelos fagos V tipo II, tem o mesmo valor, na epidemiologia da febre tifóide, que a pesquisa das impressões digitais em criminologia”.

BIBLIOGRAFIA CONSULTADA

- 1 — Craigie, J. & Brandon, K. F. — Can. Publ. Health Jour., 27: 165,, 1936.
- 2 — Craigie, J. & Hui Hen, C. — Can. Publ. Health Jour., 29: 448, 1938.
- 3 — Felix A. & Pitt, R. M. — Jour. Path. and Bact., 38: 409, 1934.
- 4 — Herelle, F. d' Le phenomène de les maladies infectieuses, Masson et Cie, Paris, 1938.
- 5 — Frobisher, M-Fundamentals of Bacteriology, W. B. Saunders Company, Philadelphia, 3.º ed., 1945.
- 6 — Topley and Wilson, Principles of Bacteriology and Immunity, Edward Arnold & Co., London, 3.º ed. 1946.



Bacilo tífico tipo C
(Lise confluyente com o fago C)



Bacilo tífico tipo E
(Lise confluyente com os fagos E₁ e E₂)