

TIPOS BIOQUÍMICOS DE SALMONELLA TYPHI, DE ALGUMAS REGIÕES DO BRASIL

Ernesto Hofer *

Foram estudadas 813 amostras de Salmonella typhi provenientes dos estados da Bahia, Guanabara, Pará, Pernambuco e S. Paulo, quanto ao seu comportamento diante da arabinose e xilose.

Revelaram os resultados que 472 culturas (58,05%) caracterizaram-se como tipo fermentativo I (acidificando apenas a xilose), 334 amostras (41,08%) pertenceram ao biotipo II (ausência de fermentação em arabinose e xilose), tendo apenas 7 culturas (0,86%) representando o biotipo III (fermentam a arabinose e xilose).

A análise dos resultados referentes à ação fermentativa de amostras de *Salmonella typhi*, em 21 carboidratos diferentes, possibilitou a Jensen (12) em 1901, observar o comportamento irregular desta espécie, no tocante à fermentação da arabinose e xilose.

Mais tarde, estudando esta particularidade, Petersen e Bjornsson (20), sugerem uma classificação das amostras de bacilos típicos, em três tipos, orientada segundo a produção de ácido na xilose e arabinose. Assim sendo, as culturas que apenas fermentavam a xilose, foram rotuladas como tipo I; aquelas que eram incapazes de agir sobre estes dois substratos, vieram a caracterizar o tipo II e o tipo III, bem mais raro, identificado por sua ação fermentativa sobre a xilose e arabinose.

Kristensen e Henriksen (14) destacam a importância epidemiológica desta classificação para as culturas de *S. typhi*, bem como demonstram a inalterabilidade destes tipos.

As atenções voltadas sobre este aspecto suscitaram o aparecimento de vários outros trabalhos, expondo resultados das mais variadas regiões e que principalmente vieram confirmar as verificações dos bacteriologistas dinamarqueses.

Ampiando as pesquisas anteriores, Kristensen (15), lançando mão de grande número de amostras de *S. typhi*, reaviva a importância considerável que representa os dados da classificação bioquímica para as análises epidemiológicas de casos de febre tifóide.

Posteriormente, De Blasi e Buogo (5), estudando o comportamento de 312 amostras de *S. typhi*, tem oportunidade de assinalar a ocorrência de um quarto tipo bioquímico, apresentando como característica diferencial dos demais, a ação fermentativa apenas sobre a arabinose.

Com a descrição da técnica de lisotipia ou fagotipagem Vi do bacilo típico, por Craigie e Yen (3, 4), houve durante um certo período, o descumprimento da classifi-

* Departamento de Microbiologia e Imunologia do Instituto Oswaldo Cruz, C.P. 926 — Guanabara
Recebido para publicação em 18.5.1972.

cação bioquímica, em vista, do primeiro processo propiciar a caracterização de maior número de tipos da espécie em questão.

Com as verificações de Olitzki e cols. (16), reavivou-se o interesse pela classificação precnizada por Kristensen, associando-a principalmente a fagotipagem. Outros autores (7, 8, 13, 17), utilizam e precnizam o valor desta associação, constituindo-se atualmente, em um fator de extrema importância para a complementação da lisotipia. Apresenta, principalmente, o mérito de ofertar um maior número de dados, que por conseguinte, possibilitam um melhor critério na avaliação epidemiológica da febre tifóide em determinada região. Esta condição se torna ainda mais imprescindível, quando um número muito restrito de lisctipos Vi estejam presentes em uma área endêmica ou epidêmica desta enfermidade.

Embora se tenha uma elevada prevalência de febre tifóide em nosso meio, contraditoriamente, escassas são as averiguações que se detiveram em relatar a distribuição dos tipos fermentativos de *Salmonella typhi* mais incidentes, assinalando-se os trabalhos de Pestana (19), Costa e cols. (2), Penna Costa (18) e Hofer e cols. (9-11).

No presente trabalho, investigou-se o comportamento de amostras de bacilos típicos, isoladas mais recentemente e oriundas de algumas regiões do Brasil, diante da xilose e arabinose.

MATERIAL E MÉTODOS

Durante o período de 1963 a 1971, foram analisadas 813 culturas de *S. typhi*, provenientes dos estados da Bahia, Guanabara, Pará, Pernambuco e S. Paulo.

Todas as amostras foram previamente reisoladas e reidentificadas, do ponto de vista bioquímico e sorológico, adotando-se as técnicas usuais para esta finalidade (6).

Para evidenciar a ação fermentativa das amostras em estudo, sobre a arabinose e xilose, foi empregado como meio básico, a água peptonada, tendo a seguinte composição:

Bacto Peptone (Difco)	1 g
Cloreto de sódio	0,5 g
Água destilada	100,0 ml

Após ajustar o pH a 7,0, foram acrescentados 1 ml de indicador de Andrade e em volumes separados do meio, 1% dos substratos fermentescíveis (Arabinose — G. T. Gurr e d-Xilose, Difco). O meio com todos os ingredientes foi esterilizado por filtração em Seitz e distribuído assepticamente em tubos, em volumes de 2 ml.

Os meios foram semeados com uma alça de 4 mm de diâmetro de um crescimento de 24 hs a 37°C, em caldo extrato e a leitura da fermentação foi efetuada, após incubação a 37°C por 24 horas.

RESULTADOS

As 813 amostras estudadas, revelaram que 472 (58,05%) pertenceram ao tipo I, 334 (41,08%) caracterizaram-se no tipo II e apenas 7 culturas foram registradas no tipo III, de acordo com os dados catalogados na Tabela 1.

Tomando como base as origens das amostras, observa-se que as culturas classificadas no biotipo I predominaram nos estados da Bahia, Pernambuco e Pará, sendo que as do tipo II destacaram-se na Guanabara e S. Paulo.

Convém ainda assinalar a ocorrência do raro tipo III, nas amostras provenientes da Bahia, Guanabara e S. Paulo, assim como a ausência do biotipo IV, na presente investigação.

DISCUSSÃO

Atualmente, a investigação epidemiológica com as amostras de *S. typhi*, não se concentra apenas nas observações de comportamento bioquímico, particularmente diante da xilose e arabinose. Todas as atenções, neste sentido, estão voltadas, primordialmente para a lisotipia Vi das amostras de bacilos típicos, que oferece maiores recursos para a interpretação dos fenômenos relacionados à epidemiologia da febre tifóide.

Entretanto, com toda a posição de destaque da lisotipia Vi, representando o elemento fundamental para os inquéritos epidemiológicos, não se poderá olvidar a importância da classificação bioquímica, principalmente, após as investigações de Olitzki e cols., demonstrando o valor da associação destes dois processos, especialmente

Tabela I

Caracterização bioquímica, segundo Kristensen de 813 amostras de *S. typhi* isoladas em diferentes regiões do Brasil

	I		II		III		TOTAL
	Nº	%	Nº	%	Nº	%	
Bahia	197	75,47	60	22,98	4	1,53	261
Guanaabara	36	27,27	95	71,96	1	0,757	132
Fernambuco	136	82,42	29	17,57	—	—	165
São Paulo	100	39,68	150	59,52	2	0,79	252
Pará	3	100,0	—	—	—	—	3
TOTAL	472	58,05	334	41,08	7	0,86	813

Tipo I: Xilose + e Arabinose —

Tipo II: Xilose — e Arabinose —

Tipo III: Xilose + e Arabinose +

quando se tem o predomínio de um número limitado de tipos fâgíccs, em determinada região.

Conquanto sejam muito exíguas as referências bibliográficas em nosso meio, (Quadro I) que retrataram este aspecto, ainda assim, possibilitam algumas considerações entre os resultados existentes e os da presente investigação.

C trabalho pioneiro neste assunto, entre nós, coube a Pestana, obtendo para as 304 amostras isoladas no estado de S. Paulo, acentuada predominância do tipo fermentativo I sobre o biotipo II.

Ainda em relação ao comportamento de culturas oriundas de S. Paulo, tem-se a consignar os achados de Costa e cols. revelando uma nítida supremacia do biotipo I.

Comparando estes dados com os atuais, verificamos a inversão do tipo predominante,

figurando em primeiro plano, as culturas classificadas no tipo II. Considerando este aspecto divergente, convém assinalar que as nossas amostras, isoladas no período de 1966-1968, representando um total de 105 culturas, evidenciaram nos resultados, um domínio do biotipo I, com frequência percentual muito aproximada daquela encontrada por Pestana. Todavia as amostras isoladas na etapa de 1969 a 1971, perfazendo 147 culturas, revelaram na classificação bioquímica, uma maior hegemonia do biotipo II. Esta inversão foi extraordinariamente influenciada por 50 amostras de bacilos típicos, provenientes do município de Ribeirão Preto, S. Paulo, que na sua totalidade foram caracterizadas no biotipo II.

Outro pormenor não identificado pelos Autores supracitados, refere-se no pre-

QUADRO I

Freqüências percentuais dos tipos bioquímicos de *S. typhi*, observados no Brasil.

AUTORES	ESTADOS	TIPOS FERMENTATIVOS				Total de Amostras
		I	II	III	IV	
Pestana (1940)	S. Paulo	76,6	23,3	—	—	304
Costa e cols. (1955)	Est. do Rio	76,7	23,2	—	—	43
"	Guanabara	17,7	81,0	1,2	—	79
"	Minas Gerais	33,3	66,6	—	—	9
"	Pará	100,0	—	—	—	9
"	Pernambuco	73,5	26,4	—	—	34
"	R. G. Sul	100,0	—	—	—	20
"	S. Paulo	94,1	5,8	—	—	17
Penna Costa (195)	Bahia	81,7	11,48	3,37	3,37	148
		75,47	22,98	1,53	—	261
Hofer (1972)	Bahia					
"	Guanabara	27,27	71,96	0,75	—	132
"	Pará	100,0	—	—	—	3
"	Pernambuco	82,42	17,57	—	—	165
"	S. Paulo	39,68	59,52	0,79	—	252

sente levantamento, ao aparecimento de amostras do raro biotipo III, em S. Paulo.

Quanto ao confronto das freqüências percentuais dos tipos fermentativos das culturas oriundas de outras regiões, estudadas por Costa e cols., em particular naquelas com maior número de amostras, como as dos estados da Guanabara e Pernambuco, observamos um certa similitude com os achados da presente investigação, assim como uma acentuada concordância dos tipos mais incidentes e suas respectivas freqüências no computo geral.

Finalmente, cabe-nos referir a pesquisa de Penna Costa, realizada com 148 culturas isoladas em Salvador, Bahia, tendo a oportunidade de relatar pela primeira vez nosso meio, a ocorrência do tipo fermentativo IV, além de uma elevada incidência do biotipo III.

Estabelecendo uma comparação com os resultados obtidos por Penna Costa, verifica-se que os nossos dados coadunam-se perfeitamente quanto a predominância de

amostras do biotipo I, secundados pelos tipos II e III. Entretanto, não foi possível nesta oportunidade, evidenciar nas 261 culturas provenientes do estado da Bahia, amostras de *S. typhi* pertencentes ao biotipo IV.

Em conclusão, pode-se admitir que a execução da técnica de lisotípi Vi, esteja reservada, por razões óbvias, aos chamados laboratórios de referência de um estado ou país, razão pela qual será de extrema utilidade para os inquéritos epidemiológicos preliminares, a adoção da técnica bioquímica diante da xilose e arabinose, assim como a pesquisa da tetratio-nado redutase, relatado anteriormente por Hofer (10), por constituírem técnicas plenamente exequíveis para a maioria dos laboratórios de Saúde Pública.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao Sr. Sebastião Januário, pela assistência técnica prestada.

SUMMARY

In the present investigation, the author studied the distribution of fermentative types according to Kristensen's Scheme, from 813 cultures of Salmonella typhi, obtained from the States of Bahia, Guanabara, Pará, Pernambuco and S. Paulo.

58.05, 41.0% and 0.86% of the strains were classified in fermentative type I, type II and type III respectively. Type IV was not found.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BRANDIS, H. & MAURER, H. — Über die Beziehungen zwischen Phagentyp und Xyloseverhalten bei Typhusstämmen. Z. Infekt.-Kr., 140: 138-143. 1954.
2. COSTA, G. A., ALMEIDA, W. A. & SILVA. — Tipos fermentativos do bacilo tífico. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 53: 115-120, 1955.
3. CRAIGIE, J. & YEN, C. H. — Demonstration of types of *B. typhosus* by means of preparations of type II Vi phage. Principles and techniques. Canad. Pub. Health J., 29: 448-463, 1938.
4. CRAIGIE, J. & YEN, C. H. — Demonstration of types of *B. typhosus* by means of preparations of type II Vi phage. Stability and Epidemiological significance of V. form type of *B. typhosus*. Canad. Pub. Health J., 29: 484-496, 1938.
5. DE BLASI, R. & BUOCO, H. 1952, citado por PAVLATOU, M. & CINOLLE, F., 1953.
6. EDWARDS, P. R. & EWING, W. H., — Identification of Enterobacteriaceae. and ed. Burgess Publishing Co., Minneapolis, Minnesota, 258 pag. 1962.

7. FELIX, A. & ANDERSON, E. S. — Bacteriophage, Virulence and Agglutination tests with a strain of *Salmonella typhi* of low virulence. *J. Hyg.* (London) 49: 349-364, 1951.
8. GIAMMANCO, G. & CARMENI, A. — Caratterizzazione biochimica di lisotipi di *S. typhi* identificazione Nell'Italia Meridionale en in Sicilia. *Nuovi Ann. D'Igi. microbiol.* 18: 55-64, 1967.
9. HOFER, E. & VICENTE, M. M. A. — Caracterização bioquímica de lisotipos de *Salmonella typhi*, isoladas no estado da Guanabara. *An. Microbiol.* (GB), 16: 283, 1969.
10. HOFER, E. & SILVA, Y P. S. — Pesquisa de tetratonato redutase (TTR) em culturas de *Salmonella typhi*. *Rev. Microbiol.*, 2: 65-68, 1971.
11. HOFER, E. & NOVAES, J. R. C. — Lisotipos e tipos fermentativos de *Salmonella typhi* isoladas no estado de S. Paulo. Apresentado no III Congresso Brasileiro de Microbiologia. Belo Horizonte. Minas Gerais. 1971.
12. JENSEN, C. O., 1901, citado por Kristensen, M. & Henriksen, H. C. D. (1926).
13. JUDE, A. & NICOLLE, P. — Determination des types bactériophagiques (Vi phage-typing) et caractères biochimiques des souches de *Salmonella typhi* isolées dans les hospitaux militaires de la métropole et de certains territoires de l'Union Française. *Ann. Inst. Pasteur*, 77: 550-506, 1949.
14. KRISTENSEN, M. & HENRIKSEN, H. C. D. — Reactions fermentatives du bacille typhique et leur rôle épidémiologique. *Acta path. microb. scand.*, 3: 551-582, 1926.
15. KRISTENSEN, M. — Studies on the type division of the typhoid and paratyphoid B bacilli by fermentations. *J. Hyg.*, 38: 688, 1938.
16. OLITZKI, L., OLITZKI, Z. SHELUBSKY, M. — Types of *Eberthella typhosa* in Palestina. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 39: 167-174, 1945.
17. PAVLATOU, M. & NICOLLE, P. — Incidence des types biochimiques parmi les types bactériophagiques de *Salmonella typhi*. *Ann. Inst. Pasteur*, 25: 185-198, 1953.
18. PENNA COSTA, A. — Contribuição ao estudo epidemiológico da febre tifóide em Salvador (Bahia). Estudo dos tipos bioquímicos do bacilo tífico. Tese para docência-livre de Microbiologia na Faculdade de Medicina da Universidade da Bahia. 1957.
19. PESTANA, B. R. — Tipos e bacilos tíficos e seu valor epidemiológico. *An. Paulista Med. Cir.*, 34:19-25, 1940.
20. PETERSEN, K. & BJORNSSON, K., 1909, citado por Kristensen, M. & Henriksen, H. C. D. 1926.