

Comentário ao esquema de classificação das Salmonellas de Kauffmann-White *

por

Genesio Pacheco e Gobert Araujo Costa

Analogias encontradas entre certas bacterias intestinais permitiram reunil-as sob a denominação de « grupo coli-tifico ». Posteriormente destacaram-se em genero separado os bacilos coli, ficando o bacilo tifico agregado somente aos paratifos que com ele apresentavam mais estreitas afinidades, sob a denominação grupo « tifico-paratifico ». Por fim adotou-se a designação « grupo » ou « genero » *Salmonella*. Desde inicio estabeleceram-se diferenças entre os representantes deste grupo, baseadas em provas culturais e sôrologicas. A par de caracteres morfológicos e tintoriais, ficou assentado que os paratifos ou salmonelas seriam bacterias não dotadas de capacidade fermentadora da lactose e da sacarose, não liquefazendo gelatina, não dando indol nem acetoina e dotadas de ação patogênica para homem ou para animal. A análise antigenica das salmonelas começou com Schütze que estabeleceu relações sôrologicas entre elas. Smith & Reagh já haviam mostrado a existencia de dois componentes antigenicos nas bacterias deste grupo, distinguindo na *Salmonella suipestifer* um componente somático, presente nas formas moveis e imoveis desta bacteria, e um componente ciliar, existente unicamente nas formas moveis. Diferenças identicas foram verificadas mais tarde por Weil & Felix nos *proteus*, onde também encontraram um componente somático e um componente ciliar, tendo creado então as expressões O e H para esses dois tipos do antígeno. Posteriormente foram eles encontrados nas *Salmonellas* e em grande numero de outras bacterias. Finalmente Andrews, numa análise sôrologica detalhada do antígeno ciliar, consegue distinguir dois estádios a que denominou fase: alguns elementos da cultura possuem antígenos ciliares comuns a mais de um tipo de paratipo, outros somente se relacionavam sôrologicamente com seu proprio antígeno. Denominou Andrews ao primeiro « fase inespecifica » e ao segundo « fase especifica ».

Bruce-White reuniu certo numero de paratifos em um conjunto em que a análise antigenica entrava por muito. Kauffmann estendeu as

* Recebido para publicação a 24 de Maio de 1940 e dado á publicidade em Agosto de 1940.

verificações de Andrewes e de Bruce-White, esmiuçando exhaustivamente a análise da constituição antigenica dessas bacterias, sob a designação de grupo *Salmonella*, adotando a designação proposta por Lignières em 1900 e já admitida pela Comissão Americana de Bacteriologistas, conseguindo organizar um esquema, modificado do esquema proposto por Bruce White anteriormente, o qual logrou ser aprovado pela « Sub-Comissão do grupo *Salmonella* » da Liga das Nações, em 1934.

Nesse esquema adota Kauffmann uma numeração arbitraria para designar os antigenos somatico e ciliar, este com as duas variantes descritas por Andrewes. Compunha-se o esquema de Kauffmann, adotado pelo « Sub Committee », de 10 antigenos somaticos ou antigenos O, designados pelos algarismos romanos I-X; de 25 antigenos ciliares ou antigenos H especificos, designados pelas letras a-z; de 6 antigenos H inespecificos de grupo, expressos pelos numeros 1-6.

Inicialmente ainda atribuia Kauffmann certo valor ás provas culturais, em concorrência com as provas sôrologicas, na especificação das salmonellas. Com o correr do tempo foi relegando aquelas provas a segundo plano, com tendencia a abandonal-as por completo nos ultimos trabalhos, para ater-se exclusivamente na análise sôrologica como base univoca para determinação de uma amostra de salmonella.

Seria seu esquema realmente um progresso consideravel na sistematica das salmonellas pela precisão e pela simplificação decorrentes desse criterio na sistematização, si não viesse ele apresentar, como veio, dificuldades ainda maiores que anteriormente, quando as determinações incluíam as provas culturais e não esmiuçavam tanto a análise antigenica.

Com efeito, o método sôrologico de determinação de Kauffmann exige um trabalho prévio de preparo de consideravel numero de sôros, possuintes de anticorpos O e H, este com anticorpos especificos e inespecificos. Essa dificuldade não é pequena porque obriga o trato com animais, preparo de antigenos, inoculações repetidas, sangrias, determinação de potencia dos sôros, distribuição e conservação dos sôros especificantes. Nada menos de 11 sôros seriam necessarios, e para perfeição das provas devem-se preparar antigenos crús e cosidos, ensaiar numerosas colonias isoladas, crescidas em placas de agar mole, postas em contato com sôros especificos sobre laminas e em tubos, e ainda levar a efeito provas de saturação de Castellani.

Em verdade nem sempre todos os sôros são necessarios para especificar determinada especie de salmonella, mas ha que possuil-os todos quem quizer se colocar em condições de identificar qualquer amostra de salmonella porventura isolada.

A análise dos constituintes antigenicos joga, pois, com fatores, que

numa série de combinações permitiria um numero quasi incomensuravel de tipos: o esquema admitido pela « Salmonella Subcommittee » era constituido por 44 tipos, distribuidos em 5 grupos. A especificação dos tipos depende de combinações entre os antigenos somaticos e flagelares. E' assim que o 1.º grupo A, tem como antígeno basico o antígeno somatico I, não possuindo fase inespecifica, sendo, portanto, monofasico.

Os tipos de salmonellas deste grupo são em numero de 3; a *S. senftenberg* e a *S. senftenberg* var. *newcastle*, possuindo antigenos comuns, podiam ser distinguidas pelos caracteres culturais. Seguindo o criterio estabelecido por Kauffmann, é possivel admitir a existencia de outras especies dentro deste grupo. Aplicando a fórmula das combinações

$$C_m^p = \frac{m(m-1)(m-2)\dots(m-p+1)}{1.2.3\dots p.}$$

aos antigenos conhecidos, podemos admitir a existencia, não comprovada, de 24 especies sôrologicas diferentes, contando somente com os fatores antigenicos somaticos até então encontrados no grupo A, isto é, I, II, III, e com os antigenos flagelares especificos *a*, *g*, *s*, não se conhecendo antigenos flagelares inespecificos neste grupo. Poderiamos estabelecer um esquema teorico assim:

Antigeno O Grupo A	Antigeno H	
	Especifico	Inespecifico
I	—	—
I, II	—	—
I, III	—	—
I	a	—
I	g	—
I	s	—
I	ag	—
I	as	—
I	ags	—
I	gs	—
I, II	a	—
I, II	g	—
I, II	s	—
I, II	ag	—
I, II	as	—
I, II	ags	—
I, II	gs	—
I, III	a	—
I, III	g	—
I, III	s	—
I, III	ag	—
I, III	as	—
I, III	ags	—
I, III	gs	—

Imaginemos agora a possibilidade de existencia em combinações dos varios antigenos *O* de I a X, 2 a 2, contando sempre o I como basico de grupo: teriamos um total de 10 combinações diferentes. Poderiamos, pois, contar 10 especies ou tipos de salmonelas do grupo A, somente com o antigeno *O*, sem entrar com antigenos *H*. Combinando-se estes 10 antigenos *O* com os 25 *H* especificos, um a um, teriamos 250 combinações diferentes ou especies novas. Admitindo a possibilidade de aparecimento de fases especificas duplas (2 antigenos especificos p. ex. — as, ag, etc.) teriamos então, pelo calculo das combinações, com os 25 antigenos especificos, combinados 2 a 2, 3.000 novos tipos. Somando-se 10 tipos *O* a 250 e 3.000, teriamos no grupo A um total de 3.260 especies ou tipos, distintos sempre sôrologicamente, no caso da verificação da existencia de numero suficiente de antigenos. Isto, no caso deste grupo não apresentar ou possuir fase inespecifica, entrando os antigenos especificos e somaticos conhecidos apenas 2 a 2. Se imaginarmos combinações de antigenos 3 a 3, esse numero cresceria assustadoramente, limitando, é claro, essas considerações apenas em torno do grupo A, onde o numero de componentes antigenicos é pequeno em relação aos outros grupos.

Após os estudos realizados pelo « Sub-Committee of Salmonella Group » novos fatores antigenicos foram introduzidos na constituição flagelar. A fase especifica foi dividida em fase alpha e beta, o que veio trazer maior complexidade á estrutura antigenica das salmonelas e possibilidades de aumento consideravel de combinações antigenicas. E' de se notar tambem a verificação de novos antigenos *O*, que de 10 passaram a 29, de antigenos *H* não especificos que de 6 passaram a 7, de *H* especificos que são atualmente 39. E não parariamos ahi, pois os fatos demonstram que todos os dias novas amostras aparecem, insuficientemente aglutinadas pelos sôros conhecidos, tornando necessaria a criação de outros elementos antigenicos, somaticos ou flagelares.

Analizando o esquema das salmonellas publicado no « Manual of Determinative Bacteriology » de Bergey (1939), em comparação com aquele estabelecido pelo Sub Committee de Salmonellas, vemos quanto aumentou aquela complexidade antigenica com admissão de novos tipos.

Encarando o grupo *C* ainda pelo esquema primitivo, e aplicando o raciocinio acima, do grupo A, chegamos a uma monstruosidade numerica de poderem existir neste grupo 244.118 tipos de salmonelas sôrologicamente diferentes. Isto sem incluir no calculo os novos elementos antigenicos discriminados nos esquemas recentes.

Com um numero tão grande chegaríamos a ter mais tipos de salmonellas que de especies bacterianas sistematizadas no Manual de Bergey.

Realmente, tem-se verificado cada ano um crescimento consideravel de especies novas de salmonellas descritas, de modo tal que seu numero será talvez capaz de egualar ou sobrepujar as especies bacterianas bem conhecidas e admitidas até aqui, justificando a hipotese comentada atrás.

Compreende-se que o numero de especies bacterianas seja infinito e que as salmonellas devem acompanhá-las nessa infinidade. Na natureza todos os dias devem-se formar tipos novos, mormente entre os seres inferiores que entre os mais elevados na escala filologica, estes menos adstritos ao ambiente, ás condições nutritivas, ao clima, ás estações e outros fatores influentes na formação de variantes ou tipos. E a analise sôrologica de Kauffmann, mais que qualquer outra, demonstrou exuberantemente a existencia dessa infinidade de especies ou tipos bacterianos.

Mas sua analise foi aperfeiçoada em demasia para a pratica bacteriologica. Mostrou, sem duvida, quão complexa é a organização das bacterias, mas exigiu um excesso de detalhe para a sua determinação especifica.

A analise sôrologica exclusiva para a especificação bacteriana pode apresentar causas de erro ou dificuldades na sua execução. Mesmo com as salmonellas pode-se ter em mãos, por exemplo, o *Chromobacterium typhi flavum* (*B. typhi flavum*) Dresel & Stickel, uma bacteria da natureza, encontrada nas aguas, no sólo e nas poeiras do ar, podendo penetrar no intestino e chegar até as vias urinarias, cuja aglutinabilidade com sôros paratíficos é conhecida e gerou a hipotese de se tratar de uma variante da *Salmonella typhosa*. Poderia-se argumentar que essas bacterias, porque não são todas identicas, representam os tipos ancestrais do bacilo tífico. Neste caminho não conseguiríamos separar as especies parasitas das especies da natureza e a bacteriologia cairia num caos do qual todos se esforçam para fugir, desde Pasteur. Realmente, deve haver um criterio, ou mais de um, para separar especies bacterianas parasitas das especies de vida livre, porque aquelas interessam mais de perto o antropocentrismo. E tanto assim é que as relações sôrologicas quasi sô têm sido estudadas e aplicadas ás bacterias parasitas do homem pelo seu contato obrigatorio com os humores e as consequencias disso decorrentes, primeiro começados a verificar por Durham e Gruber no sôro de cobaias inoculadas com bacilo tífico.

Habs & Arjona encontram na urina e fezes de uma insana um coli apresentando relações sôrologicas com as salmonellas, possuindo antígeno O do tipo IX do esquema de Kauffmann-White, o que mostra a existencia de dificuldades para especificar certas amostras com o criterio sôrologico exclusivo.

Relações antigenicas dessa ordem têm sido assinaladas tambem com

outras bacterias, e o criterio determinativo de Kauffmann faria periclitara a identificação de amostras bacterianas si fosse generalizado; e nós sabemos a influencia que exercem sobre os espiritos os novos caminhos...

Os prejuizos neste caso não seriam grandes si se limitassem á parte academica da sistemática, mas nele se incluem possibilidades de erros diagnosticos, de consequencias muitas vêses imprevisiveis.

Não queremos desmerecer o esforço de Kauffmann e dos que o precederam, numa análise percuciente desse interessante grupo bacteriano em que se demonstrou a complexidade antigenica das bacterias; apenas achamos que a organização de um esquema de tão elevada complexidade, exigente de elementos tecnicos tão numerosos, não comporta uma aplicação pratica na determinação de qualquer amostra de salmonella, senão em um serviço organizado como o de Kauffmann. Demais, um esquema permitindo a existencia de tantas especies foge, a bem dizer, das realidades da vida, por se tornar difficilmente praticavel.

Nós já estudamos de uma feita cerca de 600 amostras de coli em mais de 20 de suas propriedades bioquimicas e não conseguimos classificar então 10% das amostras pela chave de classificação desse grupo bacteriano existente no Manual de Bergey. Si quizessemos crear uma chave de classificação com os elementos de determinação então empregados certamente teriamos conseguido classificar-los todos mas cairiamos no mesmo exagero facultado pelo esquema de Kauffmann.

E' evidente que o criterio de Kauffmann é unilateral ou exclusivista, e a nós parece que o exclusivismo não se adapta á sistemática biologica. Todo sistema de classificação biologica baseado num só carater ou elemento não tem subsistido. Pensamos que com o de Kauffmann poderá succeder o mesmo.

O assunto deve ser reconsiderado, readmitindo as provas culturais como necessarias á determinação, e estudando outras que possam separar amostras, incluindo-se nelas, é claro, provas sôrologicas. Os caracteres culturais por si só não satisfazem á sistemática das salmonellas. Basta referir que alguns dos caracteres genericos desse grupo, como a não produção de indol, comporta exceção como a *S. holsatiensis* de Roelke e a *S. eastbourne* de Kauffmann, que são indologenas; a ausencia de ataque á lactose encontra exceção na variedade lacto-fermentadora de *S. anatum* de Kauffmann.

Já se rebelaram contra o método de Kauffmann Hohn & Hermann, e Jansen em 1937, clama contra o numero excessivo de especies decorrentes de sua aplicação que já atingia em 1934 a 60, no periodo de 3 anos de sua aplicação á sistemática das salmonellas. Salienta Jansen, além disso, o fato de se reunirem com ele especies distintas pelas propriedades

bioquímicas e pela infectibilidade ou origem parasitaria, e separar outras que deviam estar reunidas, contra a orientação seguida por Hohn & Hermann. O numero de salmonellas atualmente admitido pelo esquema de Kauffmann atinge a 68, segundo Bergey, e tudo indica que crescerá enormemente, justificando a suposição deduzida acima pelo calculo das combinações. Si o numero de fatores antigenicos permanecer tal qual estabeleceu Kauffmann e os que lhe seguiram as pegadas, o numero de especies ou tipos poderá crescer, a bem dizer, indefinidamente. Os 10 antigenos O do esquema original de Kauffmann passaram para 29, nos H especificos acresceram-se outros tantos pelas fases alpha e beta e aos H inespecificos adicionou-se mais um. Além disso foram encontrados outros antigenos ou componentes antigenicos — Antigeno Vi de Felix & Pitt, antigenos W, V e W-V de Kauffmann, que poderão concorrer na análise antigenica.

O conhecimento dos elementos complexos de um sistema é indice de aperfeiçoamento mas deixa de o ser quando dificulta ou impede sua aplicação, parcialmente que seja. Exigir um conjunto de elementos difíceis de obter para determinar uma bacteria é o mesmo que dificultar ou impedir sua realização.

Pelas dificuldades na sua aplicação o esquema de Kauffmann não se generalizou nem mesmo na Alemanha, onde foi organizado e publicado, e é referido com restrições nas recentes edições dos tratados de Bacteriologia.

ABSTRACT

The classification of salmonellae in accordance with the Kauffmann-White schema accepted by the « Salmonella Sub-Committee » presents various inconveniences and difficulties to application. Among these is the necessity of preparing, dosing and preserving a considerable number of specific sera whose validity as is well known, is limited.

The criterion of Kauffmann's classification is exclusively, for it abandoned cultural tests, leaving therefore only a unilateral criterion. By following it one might include *Chromobacterium typhi-flavum* in the *Salmonella* genus as well as other bacteria which differ completely from the *Salmonella*, as long as they are antigenically related.

On the other hand, the chart approximates or separates in the different groups of antigen O species or types of salmonellae which are biologically close or almost indistinguishable.

The chart has given rise to an excessive number of species and types of salmonellae which from 44 in the chart approved by the « Sal-

monella Sub-Committee » in 1934 rose to 60 in Bergey's Manual and everything leads one to believe that the end is not yet for every day new types or species are found. And perforce this must be so for new antigenic factors have been found which give rise to new structural combinations.

Applying the formula of combinations

$$C_m^p = \frac{m(m-1)(m-2)\dots(m-p+1)}{1.2.3\dots p.}$$

to the factors already known, there are probable possibilities of having 260 different antigenic combinations in group A, or 3260 types or species if all the flagellate antigens of the other groups should be found, in it combined 2 and 2. Further applying the formula of combinations to the other groups there would be possibility of so many combinations that the number of salmonellae would exceed the number of known bacterian species or perhaps the number of those existing on earth.

Undoubtedly Kauffmann-White's chart is an improvement, but the bacterian analysis made with it was exaggerated and exceeded the limit of the present possibilities of the realities of life. It revealed interesting aspects of the somatic complexity of bacteria but seems untenable because of its use in practical sense.

LITERATURA CONSULTADA

ANDREWS, F. W.

1922. J. Path. Bact., **25** : 505.

1925. Ibid., **28** : 345.

BRUCE-WHITE

1927. Syst. of Bact., **4** : 86.

CRISTENSEN, A.

1937. Zeit. für Hyg., **120**.

CRUICKSHANK, J. C.

1935. The Journ. of Hyg., **35** : 354.

DRESEL UND STICKEL

1928. Deutsche med. Woch., **54** : 517.

1930. Arch. f. Hyg., **104** : 330.

DRESEL, V. GARA AND STICKEL

1930. C. f. Bact., **119** : 268.

GRUBER, M. & DURHAM, H. E.

1896. Münch. Med. Woch., **43** : 285.

HABS, H. UND ARJONA, E.

1934-35. Zentralbl. für Bakt., **133** : 204.

HOHN & HERMANN

1935. Cent. f. Bakt., **133** : 183.

JANSEN, J.

1937. Zeit. für Infket. der Haust., **25** : 11.

KAUFFMANN, F.

1937. Zeit. für Hyg., **120** : 176.

1928. Zeit. für Hyg., **108** : 411.

1937. Zeit. für Hyg., **119** : 352.

1934. Zeit. für Hyg., **116** : 368.

1936. Zeit. für Hyg., **118** : 540.

1934. Zeit. für Hyg., **116** : 368.

1935. Zeit. für Hyg., **117** : 431.

1931. Zeit. für Hyg., **25** : 273.

1930. Zeit. für Hyg., **111** : 221, 233, 247.

1937. Zeit. für Hyg., **119** : 356.

1936. Zeit. für Hyg., **119** : 101.

1935. Zeit. für Hyg., **116** : 671.

1936. Zeit. für Hyg., **117** : 778.

1936. Zeit. für Hyg., **118** : 318.

1935. Zeit. für Hyg., **116** : 617.

1929. Zeit. für Hyg., **109** : 47.

1929. Zeit. für Hyg., **110** : 161.

1929. Zeit. für Hyg., **110** : 526.

1929. Zeit. für Hyg., **110** : 537.

1930. Cent. für Bakt., **119** : 152.

1934. Erg. der Hyg., **15** : 219.

KAUFFMANN, F. & MITSUI, C.

1930. Zeit. für Hyg., **111** : 221.

1930. Zeit. für Hyg., **111** : 233.

1930. Zeit. für Hyg., **111** : 740.

1930. Zeit. für Hyg., **111** : 749.

KAUFFMANN, F. & MÖLLER, E.

1940. The Journ. of Hyg., **40** : 246.

1934. The Salmonella Subcommittee of the Nomenclature Committee of Int Soc. of Microbiology. Journ. of Hyg., **34** : 333.

SCHUTZE, H.

1920. Lancet : 93.

SCOTT, W. M.

1926. Journ. of Hyg., **25** : 398.

SMITH, T. & REAGH, A. L.

1903. J. Med. Research, **10** : 89.

V. GARA AND STICKEL

1930. Centralbl. f. Bakt., **117** : 18.

WEIL, E. & FELIX, A.

1920. Zeit. f. Immunitf. I, **29** : 24.
