

CONTRIBUIÇÃO AO ESTUDO DA "SHIGELLA DISPAR"

AUGUSTO DE E. TAUNAY
Biologista do Instituto Adolfo Lutz.

MARIA JOSÉ FARACO
Técnica de Laboratório do Instituto Adolfo Lutz.

A denominação de *Shigella dispar* foi criada por Andrewes¹ em 1918, para os germes isolados das fezes com caracteres semelhantes aos do grupo disentérico, capazes de acidificar a lactose num período de 24 horas a 24 dias. Na sua descrição admitiu a possibilidade de não ser uma espécie homogênea, podendo ser constituída por diferentes tipos.

Castellani,^{2,3} em 1907 e 1911, já tinha observado o mesmo, descrevendo detalhadamente germes disenterígenos com caracteres bem definidos, idênticos aos da *Shigella dispar* de Andrews, aos quais denominou de *Eberthella ceylonensis A*, *Eberthella ceylonensis B* e *Eberthella madampensis*, nomes êsses, adotados em parte hoje em dia, pelo Manual de Bergey, edição de 1939. Preferimos a denominação de *Shigella dispar*, porque não dispomos no momento de amostras padrões para realizar um estudo comparativo entre êsses germes.

Segundo Castellani⁴ são êsses germes responsáveis por formas agudas de disenteria ou colites crônicas de difícil tratamento que se instalam com ou sem acidente disentérico inicial. A importância dêsses germes como agentes de síndromes disentéricos ainda não está bem estabelecida pelo fato de serem isolados com relativa frequência das fezes de indivíduos normais, exceção feita do *Bacilo ceylonensis A*, ou *Shigella sonnei* cujo papel patogênico é bem conhecido, mas cujos caracteres bioquímicos afastam completamente dos germes que serão por nós estudados, como veremos mais adiante.

Em nosso serviço são germes que aparecem com relativa frequência, motivo pelo qual resolvemos estudar as relações bioquímicas e sorológicas com as outras espécies do gênero "Shigella".

O nosso trabalho baseia-se em 14 amostras com as características do gênero "Shigella" que acidificam tardiamente a lactose, acidificam a xilose e produzem indol. Tôdas foram isoladas das fezes de doentes suspeitos de disenteria bacilar ou de fezes enviadas para pesquisa de bacilos tíficos.

São bacilos imóveis (culturas de 24 horas em caldo simples à temperatura ambiente), Gram negativos, vegetando bem nos meios usuais de cultura. Todos produziram indol quando semeados em água peptonada (peptona Park Davies) sendo a pesquisa do indol feita com o reativo de Ehrlich. Para o estudo do comportamento bioquímico usamos os seguintes carboidratos: amido, arabinose, dextrina, dextrose, dulcita, galactose, glicerina, inosita, inulina, isodulcita, lactose, levulose, maltose, manita, rafinose, sacarose, salicina, sorbita e xilose, em meio semi-sólido de Hiss. Observação em estufa a 37°C., durante vinte dias.

No quadro n.º 1 estão esquematizados os resultados obtidos.

As seguintes substâncias não sofreram alterações: amido, dextrina, inosita, inulina, rafinose, sacarose, salicina. Houve acidificação com: dextrose, galactose, glicerina, lactose, levulose, maltose, manita e xilose. Alterações inconstantes: arabinose, dulcita, isodulcita e sorbita. Tôdas as amostras acidificaram a lactose num período de 48 horas a 15 dias. Houve volta à côr primitiva do meio depois de haver acidificação: dulcita, glicerina e sorbita, sendo que as amostras que acidificaram a dulcita só o fizeram após 48 hs. de estufa.

Como veremos mais adiante, quando estudamos o comportamento sorológico desses germes pareceu-nos que nenhum dos carboidratos empregados no presente trabalho permite uma diferenciação bioquímica segura entre as espécies *ceylonensis* e *madampensis*. Para as outras espécies de Shigellas, não há dificuldade, a não ser com a *Shigella alcalescens*, sendo o único açúcar diferencial a lactose, onde as alterações são tardias para ambas as espécies.

O manual de Bergey, edição de 1939, estabelece como caracter diferencial entre as espécies *ceylonensis* e *madampensis* a acidificação da dulcita pela primeira. E. Netter⁵ também se refere à dulcita como caracter diferencial e E. Biocca⁶ dá muita importância à produção de gás na sorbita pela *Sh. ceylonensis*, fato este não observado por nós em nenhuma das amostras estudadas.

Passando ao estudo da constituição antigênica desses germes, preparamos sôros aglutinantes monovalentes com as seguintes amostras: Sh. dispar 1602 (Andrewes) recebida do Instituto Lister, Sh. dispar 373 e Sh. dispar 100, isoladas no nosso laboratório.

No preparo dos soros aglutinantes os animais foram injetados em dias alternados, sendo a primeira inoculação no peritônio e as restantes na veia, num total de oito, usando-se germes mortos para as quatro primeiras. O total de germes injetados foi aproximadamente de 12.000 milhões. Os títulos dos soros foram de 1/6.400 para amostra recebida do Instituto Lister, de 1/1.600 para Sh. dispar 373 e 1/1.280 para Sh. dispar 100.

Usamos sempre para as provas de aglutinação e saturação de aglutininas, germes mortos pelo calor no autoclave uma hora a vapor fluente e aglutinações em estufa a 37°, durante 24 horas. As diluições dos soros variaram de 1/25 a 1/3.200 e os resultados obtidos estão expressos no quadro n.º 2.

Pela análise do mesmo verificamos a existência de dois tipos sorológicos distintos. Como os soros 1.602 e 373 funcionaram de maneira idêntica nas provas de aglutinação direta, resolvemos empregar somente os soros Sh. dispar 1.602 e Sh. dispar 100, para as provas de saturação de aglutinas e aglutinações cruzadas.

Para cada amostra que foi aglutinada com um determinado sôro, fizemos saturação das aglutininas para esse sôro e depois provas de aglutinação cruzadas com tôdas as outras amostras.

Para saturação das aglutininas usamos fazer absorção em estufa a 37°C., durante 16 horas e depois 2 horas em geladeira. Muitas vezes foi necessário repetir a mesma operação duas vezes, até não haver mais aglutinação com a raça que serviu na preparação do sôro.

Nos quadros 3 e 4 estão expressos os resultados obtidos.

Por êles podemos dividir as nossas amostras em 2 grupos sorologicamente homogêneos. O primeiro (quadro 3) idêntico à amostra Sh. dispar 1.602 e o segundo à amostra Sh. dispar 100, o que está de acôrdo com os trabalhos de Castellani, que demonstrou não constituírem êsses germes um grupo antigênico homogêneo.

Comparando as provas sorológicas e as propriedades bioquímicas desses germes, verificamos haver discordância entre elas. Como já referimos, seria a dulcita a chave para diferenciação entre as espécies *Sh. ceylonensis* e *Sh. madampensis*, entretanto, uma de nossas amostras, de número 408, sempre acidificou êsse carboidrato, verificação essa, feita inúmeras vezes com diversas colônias.

Pertence essa amostra ao grupo sorológico de *Sh. dispar* 1.602, sendo a única com a qual observamos tal fato. Essa mesma amostra, juntamente com a amostra *Sh. dispar* 1.602, produziu ácido em 24 horas na sorbita, ao passo que as outras do mesmo grupo, não o fizeram durante o período de observação, 20 dias.

QUADRO N.º 3

Sêro dispar 1602 — Culturas saturantes

Amos- tras	611	542	541	408	450	645	504	Dispar 1602
611	3200/0	3200/0	3200/0	3200/0	3200/0	3200/0	3200/0	3200/0
542	3200/0	3200/0	3200/0	3200/0	3200/0	3200/0	3200/0	3200/0
541	3200/0	3200/0	3200/0	3200/0	3200/0	3200/0	3200/0	3200/0
408	3200/0	3200/0	3200/0	3200/0	3200/0	3200/0	3200/0	3200/0
450	3200/0	3200/0	3200/0	3200/0	3200/0	3200/0	3200/0	3200/0
645	3200/0	3200/0	3200/0	3200/0	1600/0	3200/0	3200/0	3200/0
504	1600/0	1600/0	1600/0	1600/0	3200/0	1600/0	1600/0	1600/0
Dispar 1602	6400/0	6400/0	6400/0	6400/0	6400/0	6400/0	6400/0	6400/0

LEGENDA: O numerador da fração representa o título da aglutinação direta. O denominador o resultado após absorção do sêro.

QUADRO N.º 4

Sêro dispar 100 — Culturas saturantes

Amostras	487	Gama	100	499	412	265	197
487	800/0	800/0	800/0	800/0	800/0	800/0	800/0
Gama	800/0	800/0	800/0	800/0	800/0	800/0	800/0
100	1280/0	1280/0	1280/0	1280/0	1280/0	1280/0	1280/0
498	400/0	400/0	400/0	400/0	400/0	400/0	400/0
412	800/0	800/0	800/0	800/0	800/0	800/0	800/0
265	400/0	400/0	400/0	400/0	400/0	400/0	400/0
197	200/0	200/0	200/0	200/0	200/0	200/0	200/0

LEGENDA: O numerador da fração representa o título da aglutinação direta. O denominador o resultado após absorção do sêro.

A seguir, passamos a verificar quais as relações antigênicas existentes entre os germes por nós estudados e as outras espécies de *Shigellas*. Começamos usando amostras de *Sh. alcalescens* isoladas de fezes e uma recebida do Instituto Lister, por serem as espécies de mais difícil diagnóstico diferencial, baseado somente nas alterações tardias da lactose.

No quadro 5, estão expressos os resultados obtidos.

QUADRO N.º 5

Amostras de Sh. alcalescens

Soros	649	550	75	133	262	51	756	260	Sh. alcalescens
Sh. dispar 1602...	3200	3200	3200	3200	0	0	0	0	0
Sh. dispar 100....	0	0	0	0	1280	1280	1280	1280	1280

LEGENDA: Os números representam a diluição do soro nos quais foram positivas as aglutinações.

Tôdas as amostras foram aglutinadas pelos nossos soros e aqui também aparecem novamente 2 grupos distintos, restando agora verificar até que ponto vai essa semelhança entre duas espécies de germes que possuem nas alterações produzidas na lactose, um caracter diferencial tão nítido.

Nos quadros 6 e 7 estão os resultados obtidos.

QUADRO N.º 6

Sôro Sh. dispar 1602 — Amostras saturantes

Amostras ensaiadas	Sh. alcal. 649	Sh. alcal. 549	Sh. alcal. 75	Sh. alcal. 133	Sh. dispar 1602
Sh. alcal. 649	3200/0	3200/0	3200/0	3200/0	3200/800
Sh. alcal. 549	3200/0	3200/0	3200/0	3200/0	3200/800
Sh. alcal. 75	3200/0	3200/0	3200/0	3200/0	3200/800
Sh. alcal. 133	3200/0	3200/0	3200/0	3200/0	3200/800
Sh. alcal. 1602	3200/0	3200/0	3200/0	3200/0	3200/0

LEGENDA: O numerador representa o título das aglutinações diretas e o denominador, após absorção das aglutininas.

QUADRO N.º 7

Sôro Sh. dispar 100 — Amostras saturantes

Amostras ensaiadas	Sh. alcal. 1601	Sh. alcal. 262	Sh. alcal. 51	Sh. alcal. 746	Sh. alcal. 260	1601
Sh. alcal. 1601	1280/0	1280/0	1280/0	1280/0	1280/0	1280/0
Sh. alcal. 262	1280/0	1280/0	1280/0	1280/0	1280/0	1280/0
Sh. alcal. 51	1280/0	1280/0	1280/0	1280/0	1280/0	1280/0
Sh. alcal. 746	1280/0	1280/0	1280/0	1280/0	1280/0	1280/0
Sh. alcal. 260	1280/0	1280/0	1280/0	1280/0	1280/0	1280/0
Sh. dispar 100	1280/0	1280/0	1280/0	1280/0	1280/0	1280/0

LEGENDA: O numerador representa o título das aglutinações diretas e o denominador, após absorção das aglutininas.

Com o sôro *Sh. dispar* 1.602 verificamos que tôdas as amostras de *Sh. alcalescens* foram capazes de retirar tôdas as aglutininas próprias, mas deixaram ainda aglutininas para a raça *dispar* n.º 1.602. Com o sôro *Sh. dispar* 100, tôdas as amostras absorveram a totalidade das aglutininas, mostrando uma grande semelhança antigênica entre êsses germes.

H. Welch e J. S. Mickle⁷ já tinham observado aglutinações positivas de uma raça *Sh. dispar* com uma raça *Sh. alcalescens*, sem, no entanto, irem além das provas de aglutinação direta.

Com as outras espécies de "Shigellas" sòmente conseguimos obter aglutinações positivas em títulos baixos, nunca além de 1/300, sendo resultados inconstantes, o que está de acôrdo com os trabalhos de Glynn e Starkey⁸ que notaram a presença de coaglutininas para *Sh. dispar* nos soros sonnei e de Welch e Mickle em soros do grupo paradisentérico, principalmente se entrarem na preparação dos soros germes do tipo Strong.

RESUMO

Os autôres, fazendo uma verificação em 14 amostras rotuladas como *Sh. dispar*, não encontraram nenhuma prova bioquímica capaz de separá-las em grupos.

Por provas de aglutinação, entretanto, foi possível dividí-las em dois grupos sorológicos distintos, sendo cada um dêsses grupos, homogêneos.

Estudando as relações antigênicas com outros germes do gênero *Shigella*, notaram uma grande semelhança com a espécie *Sh. alcalescens*, sendo mesmo, um dos grupos, sorologicamente idêntico a algumas espécies de *Sh. alcalescens*.

SUMMARY

The authors studied 14 races labelled as *Sh. dispar* and could'nt find any biochemical evidence allowing theirs separation in groups. By agglutination test, however, they succeeded in dividing them in two distinct serological groups, each one being homogeneous. Studying the antigenic relations with others germs of the genus *Shigella*, they noticed a great resemblance with the species *Sh.*

alkalescens; one of the groups studied, was serologically identical with some species of *Sh. alkalescens*.

BIBLIOGRAFIA

- 1 — ANDREWS, F. W. — 1918 — *The Lancet*, 194: 560.
- 2 — CASTELLANI, A. — 1907 — *Jour. Hyg.*, 7: 1.
- 3 — CASTELLANI, A. — 1911 — Reports of the advisory committee for the Tropical Diseases, Research found.
- 4 — CASTELLANI, A. — 1935 — *Jour. Trop. Med. and Hyg.*, 38: 176.
- 5 — NETTER, E. — 1942 — *Bacter. Reviews*, 6: 25.
- 6 — BIOCCA, E. — 1941 — *Arg. de Biol.*, 172: 239.
- 7 — WELCH, H. e MICKLE, J. S. — 1932 — *Jour. Dis.*, 32: 524.
- 8 — GLYNN, J. H. e STARKEY, D. H. — 1939 — *Jour. Bact.*, 37: 433.