

ESTUDOS COMPARATIVOS ENTRE OS MEIOS DE WILSON E BLAIR, PARA ISOLAMENTO DE *E. TYPHOSA* E OS MEIOS DE HOLT — HARRIS-TEAGUE E DE CALAZANS-RANGEL PESTANA

AUGUSTO DE E. TAUNAY

Biologista do Instituto Adolfo Lutz

ETTORE RUGAI

Biologista do Instituto Adolfo Lutz

MARIA JOSÉ FARACO

Técnica de Laboratório do Instituto Adolfo Lutz

- I — Introdução
- II — Parte técnica
 - A — Comparação entre os meios de: Wilson e Blair original; eosina-azul de metileno de Holt-Harris-Teague; lactose-ácido-rosólico de Calazans-Rangel Pestana.
 - B — Comparação entre os meios de: Wilson e Blair, modificação de Loureiro; eosina-azul de metileno de Holt-Harris-Teague; lactose-ácido-rosólico de Calazans-Rangel Pestana.
 - C — Comparação entre os meios de: Wilson e Blair, modificação de Tabet; eosina-azul de metileno de Holt-Harris-Teague; lactose-ácido-rosólico de Calazans-Rangel Pestana.
 - D — Considerações.
 - E — Resumo.

I — INTRODUÇÃO

Em uma série de publicações Wilson e Blair (1927-28-31-33) demonstraram o valor do ágar-bismuto-sulfito-verde brilhante, no isolamento da *E. typhosa*.

O meio baseia-se na supressão do crescimento principalmente do grupo coli-aerógenes e dos germes Gram positivos, permitindo o desenvolvimento da *E. typhosa* em colônias bem típicas, pretas, com halo preto e brilhante em volta da mesma.

Com êsse meio os autôres conseguiram isolar ¹⁹²⁸ bacilo tífico da água de esgôto, dez vezes em 13 amostras; considerando-se a dificuldade que há em se isolar o bacilo tífico de um material altamente contaminado como é a água de esgôto, conclue-se que o meio tem alto valor seletivo.

Outros trabalhos de Buonomini ¹⁹²⁹, Joós ¹⁹³⁴, Tabet ¹⁹³⁸, Gunther ¹⁹³⁹, Loureiro ¹⁹⁴², Carrieu e outros ¹⁹³⁹, confirmaram o seu valor.

Wilson e Blair publicaram vários trabalhos introduzindo pequenas modificações no meio, sendo o último publicado em 1933, e que foi por nós usado juntamente com as modificações de Loureiro e de Tabet.

Para comparação usamos os meios: lactose-ácido-rosólico de Calazans-Rangel Pestana, e o meio eosina-azul de metileno de Holt-Harris-Teague, por serem os meios usados nos exames de rotina dêste Instituto.

II — PARTE TÉCNICA

Usamos sempre duas placas de cada meio. O material diluído em glicerina-cloreto de sódio de Teague e Clurman (1:10), conservado em temperatura ambiente 24 horas, era semeado na primeira placa e em seguida espalhado com um bastão de vidro, com o qual semeávamos a segunda placa que não havia recebido material diretamente.

Para o meio de lactose-ácido-rosólico e de eosina-azul de metileno usamos duas alçadas e para o meio de Wilson e Blair, quatro alçadas.

Os meios foram preparados de acôrdo com os autôres.

A) *Comparação entre os meios de Wilson e Blair, original ¹⁹³³ e os meios: lactose-ácido-rosólico e eosina-azul de metileno.*

Nesta primeira parte encubávamos as placas de Wilson e Blair até 48 horas sempre que em 24 horas não se haviam desenvolvido colônias típicas conforme descrição do autor. Se em 48 horas não se desenvolvessem tais colônias o caso era dado como negativo. Dos outros dois meios fazíamos isolamento sempre após 24 horas.

As colônias suspeitas isoladas em tríplice-açúcar de Krumwiede eram identificadas pelas propriedades bioquímicas e pela aglutinação.

Examinamos as fezes de 150 doentes convalescentes de febre tifoide, cujos resultados estão registrados no quadro I.

QUADRO I

Comparação entre os meios de Wilson e Blair; Calazans-Rangel Pestana; Holt-Harris-Teague.

Total de casos positivos	58	= 100%
Positivos no meio de Calazans-Rangel Pestana	48	= 82,7%
Positivos no meio de Holt-Harris-Teague	41	= 70,6%
Positivos no meio de Wilson e Blair	39	= 67,2%

Isolamos o total de 58 casos.

Dando-se o valor de 100 para o total de casos isolados vemos que o meio de Wilson e Blair teve somente 67,2% de eficiência contra 82,7% no meio de Calazans-Rangel Pestana e 70,6% no meio de Holt-Harris-Teague. Conforme outros autores, verificamos, também, no decurso dos trabalhos que, com frequência, o bacilo tífico produzia só colônias atípicas — colônias verdes, com centro verde mais escuro ou colônias de centro pardo, mais ou menos escuro, e de bordos claros sem o halo característico — principalmente nas placas em que o número de colônias de bacilo tífico era muito grande. Isolando-se, portanto, só as colônias típicas, passariam como negativos justamente aqueles casos de portadores eliminando grande número de germes. Este fato nos levou a continuar nossos trabalhos isolando, além das colônias típicas, as colônias atípicas, isto é, sem o halo característico, mas apresentando caracteres que nos faziam suspeitar tratar-se de *E. typhosa*.

B) *Comparação entre os meios de Wilson e Blair, modificação de Loureiro e os meios de Calazans-Rangel Pestana e Holt, Harris-Teague.*

Loureiro ¹⁹⁴², afirma que os reativos citrato de bismuto, sulfito de sódio, fosfato de sódio e glicose alteram-se quando misturados de acôrdo com a técnica descrita por Wilson e Blair. Recomenda o uso destas soluções separadamente, que se conservam durante muito tempo.

Passamos, portanto, para a segunda parte do trabalho, usando a técnica de Loureiro, isolando também as colônias de bacilo tífico não típicas.

Os resultados dos 229 casos examinados estão no quadro II.

QUADRO II

Comparação entre o meio de Wilson e Blair, modificado por Loureiro, e os meios de Calazans-Rangel Pestana e de Holt, Harris e Teague.

Total de casos positivos	76	= 100%								
Positivos no meio de Calazans-Rangel Pestana	58	= 76,3%								
Positivos no meio de Holt-Haris-Teague	63	= 82,8%								
Positivos no meio de Wilson e Blair modificação de Loureiro	<table style="display: inline-table; border: none;"> <tr> <td>Só colônias típicas</td> <td style="border: none;">{ 39</td> <td rowspan="2" style="border: none; padding: 0 10px;">61</td> <td style="border: none;">51,3%</td> <td rowspan="2" style="border: none; padding: 0 10px;">} 80,2%</td> </tr> <tr> <td>Só colônias atípicas</td> <td style="border: none;">{ 22</td> <td style="border: none;">28,9%</td> </tr> </table>	Só colônias típicas	{ 39	61	51,3%	} 80,2%	Só colônias atípicas	{ 22	28,9%	
Só colônias típicas	{ 39	61	51,3%		} 80,2%					
Só colônias atípicas	{ 22		28,9%							

De 229 casos tivemos 76 positivos.

Isolando-se também os casos atípicos, os casos positivos passaram de 51,3% para 80,2%. Resultado 1,6% inferior do meio de Holt-Harris-Teague e 3,9% superior ao meio de Calazans-Rangel Pestana.

C) *Comparação entre o meio de Wilson e Blair modificação de Tabet e os meios de Calazans-Rangel Pestana e Holt, Harris-Teague.*

Tabet¹⁹³⁸ modificou o meio de Wilson e Blair, diminuindo o fosfato e sulfito de sódio, porquê dose muito elevada do primeiro impede o bacilo tífico e do segundo as salmonelas.

Com esta modificação estudamos 310 casos cujo resultado está no quadro III.

QUADRO III

Comparação entre os meios de Wilson e Blair, modificação de Tabet, e os meios de Calazans-Rangel Pestana e Holt-Harris-Teague.

Total de casos positivos	121		100%		
Positivos no meio de Calazans-Rangel Pestana	72		59,5%		
Positivos no meio de Holt-Harris-Teague ...	72		59,5%		
Positivo no meio de Wilson e Blair, modificação de Tabet	Só colônias típicas	70	106	57,8%	87,5%
	Só colônias atípicas	36		29,7%	

De 310 casos tivemos um total de 121 positivos.

Com a modificação de Tabet, isolando só das colônias típicas, tivemos 57,8% de eficiência. Porém, isolando-se também as colônias atípicas, conseguimos 87,5% de eficiência com um resultado de 28% superior aos meios que serviram de comparação.

CONSIDERAÇÕES

Do confronto entre os meios por nós realizado chegamos à conclusão que o meio de Wilson e Blair apresenta, sem dúvida, vantagens quanto ao isolamento do bacilo tífico. Por ser um meio alta-

mente seletivo, facilita muito o serviço, permitindo a verificação de grande número de placas em espaço reduzido de tempo, podendo-se fazer aglutinação diretamente das colônias, o que torna o método muito prático.

Achamos, no entretanto, que o isolamento somente de colônias típicas, não basta, sendo necessário o isolamento de colônias sem halo preto, o que não diminui o valor de método porquanto as colônias que não correspondem às características descritas pelo autor, que achamos atípicas, são facilmente reconhecíveis. Isolando-se só colônias típicas a fórmula original de Wilson e Blair foi a que melhores resultados deu, seguindo-se a modificação de Tabet, e por último, a de Loureiro.

Os meios de ágar-ácido rosólico e eosina-azul de metileno sempre se mostraram superiores quando só isolávamos colônias típicas no meio de Wilson e Blair e suas modificações.

Isolando-se também as colônias atípicas, a modificação de Loureiro foi inferior ao meio de eosina-azul de metileno em 1,6% dos casos, e superior ao ágar-ácido rosólico em 3,9%. A modificação de Tabet foi superior ao meio de ágar-rosólico, e ao meio de eosina-azul de metileno em 28% dos casos positivos.

O inconveniente que apresenta o meio de Wilson e Blair e suas modificações é a dificuldade no preparo das partidas sempre uniformes pela rápida alteração da mistura citrato de bismuto-sulfito-fosfato-glicose. O uso em separado dos sais acima, como recomenda Loureiro, não se mostrou superior.

As placas do meio recentemente preparadas dão resultado nitidamente superior, principalmente quanto à produção de colônias típicas. As placas guardadas em geladeira alteram-se em pouco tempo, adquirindo côr esverdeada, tornando-se o meio impróprio para ser usado porquê, além de haver mau crescimento, as colônias são mais difíceis de serem reconhecidas.

RESUMO

Foi feito estudo comparativo entre o meio de Wilson e Blair e as modificações de Loureiro e de Tabet, com os meios de eosina-azul de metileno de Holt, Harris-Teague e ágar-lactose-ácido rosólico de Calazans-Rangel Pestana para o isolamento de *E. typhosa* das fezes de convalescentes de febre tifoide.

É necessário, além das colônias típicas descritas pelo autor, isolar também colônias não típicas facilmente reconhecíveis.

A modificação proposta por Tabet foi a que deu melhores resultados — 87,5% dos casos positivos contra 59,5% nos meios de ágar-lactose-ácido rosólico e eosina-azul de metileno.

SUMMARY

1. Tests were made to determine the comparative effectiveness of the following media for isolating *Eberthella typhi* present in the faeces of subjects convalescing from typhoid fever: Wilson and Blair's medium, in its original form and as modified by Loureiro and Tabet; Holt-Harris-Teague's eosin-methylene blue medium; and Calazans-Rangel Pestana's lactose-rosolic acid medium.

2. The medium suggested by Tabet proved the most effective: 87,5% positive teste as against 59,5% with the Holt-Harris-Teague and Calazans-Rangel Pestana media.

3. In order to get these results, it was necessary to isolate atypical, but easily recognizable colonies, as well as typical ones.

BIBLIOGRAFIA

- BUONOMINI, G. — 1929 *Giorn. Batt. Immun.*, 4: 101.
 CARRIEU, LISBONE e RAMBAULT — 1939-40 — *Rev. d'hygiene*, 61: 571.
 CALAZANS, S. C. e RANGEL PESTANA, B. — 1932 — *Mem. Inst. Butantan*, 7.
 GUNTHER, C. B. e Tuft, L. — 1939 — *Jour. Lab. Clin. Med.*, 24: 461.
 GREY, J. D. A. — 1929 — *Brit. Med. Jour.*, 1: 142.
 HOLT-HARRIS e TEAGUE, O. — 1916 — *Jour. Inf. Dis.*, 18: 596.
 JOÓS, I. — 1934 — *Zentr. f. Bakt.*, 132, 352.
 RUCHHOFT, C. C. — 1935 — *Jour. Bact.*, 29: 25.
 WILSON, W. J. e BLAIR — 1927 — *Jour. Hyg.*, 26: 374.
 WILSON, W. J. — 1928 — *Brit. Med. Jour.*, 1: 1061.
 WILSON, W. J. e BLAIR — 1931 — *Jour. Hyg.*, 31: 139.
 ————— — 1933 — *Brit. Med. Jour.*, 2: 560.
 WILSON, W. J. — 1938 — *Jour. Hyg.* 38: 507.