

SOROLOGIA DA SH. PARADYSENTERIAE (*)

AUGUSTO DE E. TAUNAY (**)
SYLVIO SOARES DE ALMEIDA
JOSÉ ROBERTO CARNEIRO NOVAES

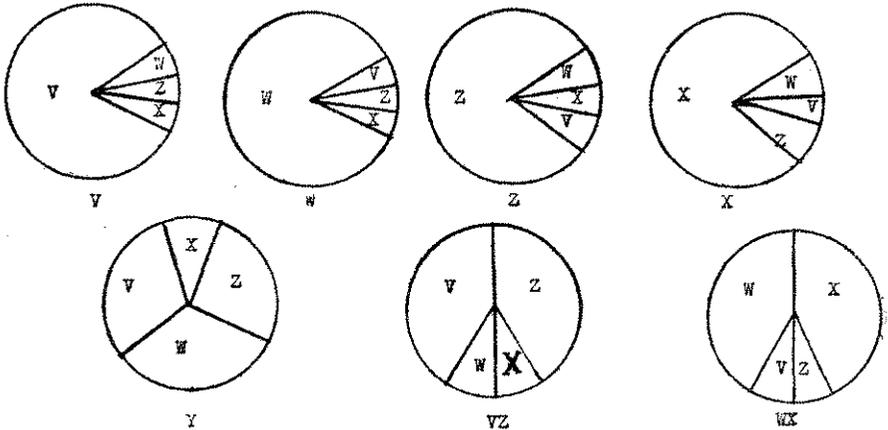
Em publicação anterior¹ tivemos oportunidade de fazer alguns comentários sobre a classificação sorológica dos germes pertencentes ao grupo paradisentérico, adotando nesse trabalho o esquema de classificação de Wheeler, dentro do qual podemos colocar a maioria dos germes por nós estudados. Entretanto, um certo número apresentou comportamento anômalo, justificando uma segunda nota na qual nos propomos a fazer um breve comentário inicial sobre as diversas classificações sorológicas dos autores ingleses e americanos, referentes ao grupo paradisentérico, e por último apresentar as razões que nos induziram a adotar a classificação de Boyd, modificada por Wheeler, o que deixámos de fazer na nota anterior dada a pouca experiência que tínhamos sobre o assunto.

Dentre os autores da lingua inglesa, os primeiros a tentarem a classificação sorológica do grupo paradisentérico, foram Andrewes e Inman.² Esses autores verificaram que em todo bacilo Flexner existem pelo menos, 4 componentes antigênicos diversos, distribuídos em proporções variáveis para cada amostra. Em algumas culturas haveria grande preponderância de um determinado antígeno sobre os demais, caracterizando por assim dizer um tipo. Estabeleceram assim 4 tipos sorológicos denominados V, W, X e Z de acôrdo com o antígeno predominante e um 5.º tipo possuindo quantidades mais ou menos equivalentes dos antígenos V, W, Z associados a pequena quantidade de X, que foi denominado de Y. Encontraram ainda dois subtipos VZ e WX, variantes dos tipos V e W com a particularidade de conterem grande proporção dos antígenos Z e X.

(*) Trabalho entregue para publicação em 27-11-48

(**) Médicos do Instituto Adolfo Lutz

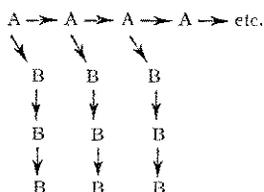
Os conceitos de Andrewes e Inman estão representados em forma diagramática na fig. 1.



Boyd³ publicando suas observações sobre o comportamento sorológico de 4856 culturas de *Sh. paradysenteriae*, isoladas na sua maioria na Índia, verificou que cerca de 3/4 dessas culturas podiam ser caracterizadas como alguns dos tipos anteriormente descritos por Andrewes e Inman. Com as restantes estabeleceu a existência de 9 tipos sorológicos até então não descritos; 3 desses tipos (amostras Boyd 103, P 119 e Boyd 88) estavam relacionadas sorologicamente com os tipos V, W e Z de Andrewes e Inman, ao passo que dos seis tipos restantes (Boyd 170, P 288, P 274, D 1, D 19 e P 143) apenas a amostra P 143 revelava possuir pequena quantidade de antígeno em comum com os primitivos tipos de Andrewes e Inman.

Boyd desenvolveu portanto a classificação dos bacilos paradysentéricos, ampliando-a de modo a incluir as amostras não aglutináveis pelos soros, até então conhecidos e sugeriu uma nova classificação em dois grupos sorologicamente distintos: 1.º grupo *Sh. paradysenteriae* Flexner, compreendendo as amostras V, W, Z, Boyd 103, P 119, e Boyd 88; e o 2.º grupo *Sh. paradysenteriae* Índia incluindo as amostras restantes, Boyd 170, P 288, P 279, D 1, D 19 e P 143. Por sugestão de Perry, imediatamente aprovada, a denominação Índia foi substituída pela de Boyd, ficando este 2.º grupo conhecido como *Sh. paradysenteriae* Boyd.

Os estudos de Boyd levaram-no a discordar das conclusões de Andrewes e Inman, relativamente à estrutura antigênica do grupo Flexner. Observando fenômenos de variação em um dos seus tipos (amostra B 103), pode demonstrar que esse fenômeno envolvia uma modificação fundamental na estrutura antigênica. Em subculturas sucessivas a amostra 103, originava dois tipos de colônias (fig. 2) um dos quais (A) reproduzia integralmente os característicos morfológicos e sorológicos da amostra, ao passo que o outro (B) era variante incompleta do primeiro, incapaz de reverter ao tipo original e produzindo exclusivamente culturas do seu próprio tipo.



Em provas cruzadas de aglutinação e de absorção de aglutininas, a amostra 103 B retirava de um soro 103 A tôdas as aglutininas heterólogas, de modo que após a absorção este soro aglutinava apenas a amostra homóloga. (fig. 3).

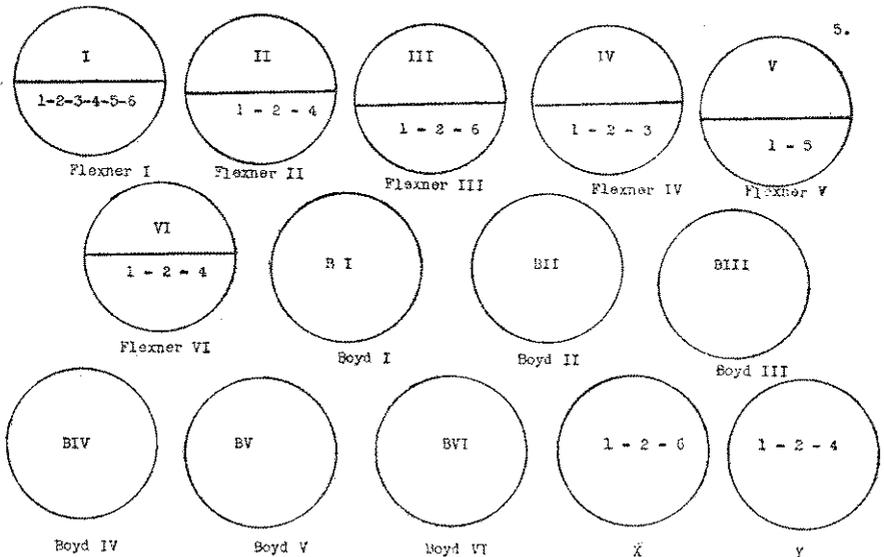
Soro 103 A	Aglutinação com as amostras						
	V	W	X	Y	Z	103 A	103 B
Não absorvido	+	+	+	+	+	+	+
Absorvido com 103 B	-	-	-	-	-	+	-
Absorvido com 103 A	-	-	-	-	-	-	-

Boyd concluiu então que a amostra 103 A possuía dois antígenos diversos: um antígeno tipo-específico que lhe era próprio e um antígeno de grupo que ela compartilhava com as amostras V, W, X, Y e Z. A variante 103 B, ao contrário, possuía apenas o antígeno de grupo, pois era incapaz de remover as aglutininas (tipo-específicas) do soro 103 A; ela teria sofrido um processo degenerativo com perda do antígeno tipo-específico característico da amostra original, e com conservação do antígeno de grupo, o qual por ser menos especializado seria mais resistente à variações involutivas. Estes:

fenômenos de variação foram observados por Boyd de modo mais ou menos completo também em outros tipos de *Sh. paradysenteriae*, e representariam uma tendência normal dos componentes da espécie nas condições artificiais de cultura.

Baseado em suas observações, fruto de numerosas experiências de aglutinações cruzadas e absorções de aglutininas, Boyd negou as conclusões de Andrewes e Inman relativas à constituição antigênica do grupo Flexner. Cada tipo não possuiria uma quantidade predominante de um antígeno específico e quantidades menores dos antígenos específicos dos outros tipos, como admitiam aqueles autores; cada tipo possuiria um antígeno próprio, característico, não compartilhado pelos demais tipos e a relação entre os diversos membros do grupo Flexner seria estabelecida portanto através de um antígeno de grupo comum a todos. Para ele os tipos X e Y de Andrewes e Inman não devem ser considerados como tipos e sim como variantes dos tipos Z, W e 103 que perderam seus antígenos tipo específicos conservando somente seus antígenos de grupo.

Os conceitos de Boyd foram representados esquematicamente como mostra a fig. 4, na qual cada tipo sorológico é representado por um antígeno próprio, em algarismos romanos, associado a um complexo antigênico comum em algarismos árabes.



O complexo antigênico de grupo está reproduzido de maneira simplificada, mas Boyd demonstrou que o antígeno de grupo tem

uma estrutura complexa, sendo constituído de pelo menos 6 componentes diversos. A amostra X de Andrewes e Inman é considerada por Boyd como variante incompleta de Z (isto é, o antígeno de grupo é idêntico ao que existe no tipo Z); as amostras Y e 103 B são consideradas como variantes incompletas respectivamente dos tipos W e B 103. A existência dos tipos mistos VZ e WX, admitida por Andrewes e Inman, não foi confirmada por Boyd, nunca tendo ele encontrado no grande número de amostras estudadas, uma, que possuísse mais de um antígeno tipo específico. No quadro anexo está reproduzida a classificação proposta por Boyd.

Nomeclatura antiga	Classificação de Boyd	
	Antígeno tipo-específico	Ant. de grupo
Tipo V (A. e I.) §	Flexner I	1, 2, 3, 4, 5, 6
Tipo W (A. e I.)	" II	1, 2, 4,
Tipo Z (A. e I.)	" III	1, 2, 6
Boyd 103	" IV	1, 2, 3
" P 119	" V	1, 5,
" 88 — Newcastle	" VI	1, 2, 4
" 170	Boyd I	
" 288	" II	
" D 1	" III	
" P 274	" IV	
" D 19	" V	
" P 143	" VI	

§ A. e I. = Andrewes e Inman

Boyd teve ainda o mérito de demonstrar a perfeita indetidade antigênica entre a amostra Boyd 88 e certos germes descritos na Inglaterra, que sendo responsáveis por enterites agudas no homem, apresentam a peculiaridade de não acidificar a manita podendo produzir bolhas de gás na dextrose e em outros carboidratos. Hoje ninguém mais duvida de identidade antigênica entre o tipo Boyd 88 e os chamados bacilos de Newcastle Manchester descritos por Clayton e Warren⁴ e Downie, Wade e Young⁵ e que estão reunidos

no chamado grupo 88. Newcastle-Manchester ou melhor Sh. paradysenteriae Flexner VI de Boyd.

Classificação de Wheeler — As conclusões de Boyd foram confirmadas pelos trabalhos de Wheeler ⁶. Este autor utilizando-se dos mesmos métodos de estudo adotados por Boyd, conclue com este ultimo da importância das diferenças qualitativas dos antígenos específicos próprios a cada tipo. Chega a conclusões um pouco diversas quanto ao antígeno de grupo, que para Wheeler seria constituído por 9 componentes diversos um dos quais existe em todos membros do grupo. Wheeler admite estar um antígeno tipo específico ligado a antígenos de grupos diferentes o que permite diferenciar dois germes com o mesmo antígeno tipo específico pelo seu conteúdo diverso em antígenos de grupo.

De um modo geral, Wheeler concorda com as ideias fundamentais de Boyd, admite todos os tipos descritos por Boyd. Não aceita como tipos os chamados X e Y de Andrewes e Inman porque não conseguiu isolar nessas amostras um antígeno tipo específico, não passando para ele de variantes que perderam seus antígenos tipo específicos, encontrando-se por assim dizer em fase de grupo irreversível.

Por último sugere que as denominações empregadas por Boyd sejam substituídas por números romanos de I a XII que apresentam a vantagem de aí poder ser incluído qualquer novo tipo que venha a ser descrito.

Classificação de Weil — Weil ⁷, ao contrário de Boyd e Wheeler, chega a conclusões semelhantes às primitivas de Andrewes e Inman, pois aceita a validade dos tipos X e Y e acredita que as amostras sejam caracterizadas por um componente antigênico primário associado a outros antígenos quantitativamente menos importantes e por isso denominados secundários. Um determinado antígeno primário, isto é, predominante em uma determinada amostra, poderá ser secundário em outra. Weil identificou 14 antígenos diferentes nos b. paradisentéricos e a predominância de um desses antígenos é que caracteriza a amostra como tipo sorológico definido.

Baseava suas observações não só em provas de absorção de aglutininas como também em provas de proteção utilizando embrião de galinha. Argumenta que a existência de um antígeno comum a cerca de 80% dos bacilos Flexner mais frequentemente encontrados.

levaria a se obter um elevado grau de proteção cruzada quando qualquer uma das amostras fosse utilizada para imunização. Verificou que tal não existe e o que confere proteção é o antígeno presente em maior quantidade. Por meio de soros devidamente absorvidos também dividiu o grupo Flexner em uma série de tipos, utilizando para esse fim soros aglutinantes monovalentes. Uma vez que admite serem as diferenças antigênicas entre os tipos de natureza quantitativa e não qualitativa, necessitou para explicar a possibilidade de se obter um soro monovalente a hipótese de diferenças funcionais entre antígenos primários e secundários, isto é, os antígenos secundários estariam por assim dizer protegidos no microrganismo intacto de tal forma que quanto postos em contacto "in vitro" com soros possuindo anticorpos a eles correspondentes não são acessíveis a esses anticorpos. A diferença entre um tipo e outro seria dada, por assim dizer, por posições diferentes dos vários antígenos dentro do corpo bacteriano.

Tentamos em nosso laboratório uma série de experiências que comprovassem as asserções de Weil. Inicialmente preparamos soros aglutinantes com amostras tipo X e Y existentes na nossa coleção recebidas do Instituto Lister de Londres, outros obtidas do Dr. K. M. Wheeler e uma isolada em São Paulo que já em primeiro isolamento não aglutinou em nenhum dos soros tipo específicos por nós preparado. Dos 5 soros que obtivemos sempre foi possível retirar todos os anticorpos empregando como culturas absorventes amostras pertencentes ao tipo V. W. Z. e Boyd 103, parecendo-nos portanto não haver nenhum antígeno característico dos tipos X e Y.

Tomamos também um soro preparado com uma amostra V (Andrews e Inman) e verificamos quais as outras amostras que esse soro aglutinava. Obtivemos para a amostra homóloga um título de $\frac{1}{10.240}$ e para as heterólogas títulos que variavam entre $\frac{1}{2560}$ e $\frac{1}{5120}$. Por meio de absorções tornamos o soro monovalente; verificado novamente o seu título constatamos que caíra de $\frac{1}{10.240}$ para $\frac{1}{2560}$ para a amostra homóloga. Fizemos a seguir três absorções sucessivas usando como cultura absorventes aquelas que na opinião de Weil deveriam possuir antígenos secundários semelhantes ao anticorpo restante no soro, sem verificar nenhuma alteração no título desse soro para a amostra homóloga. É de notar que fizemos nesse soro 4 absorções, sendo que para as três últimas

usamos aproximadamente 0,5 gr. de germes secos para absorver 5 cc. de um sôro diluído $\frac{1}{10}$. É lícito pensarmos que nas várias amostras empregadas para absorção, o arranjo dos antígenos dentro da bactéria não seja o mesmo e que quantidades mesmo diminutas do anticorpo fossem neutralizadas pelo antígeno. Dada a quantidade de bactérias por nós usada, lógico seria encontrarmos uma diminuição no título do sôro, o que não verificamos como acima dissemos.

Restava-nos comprovar a existência dos chamados tipos mixtos também encontrados por nós quando tipamos as amostras Flexner de nossa coleção. Tratamos de verificar os soros monovalentes por nós preparados; verificamos que alguns deles não estavam devidamente absorvidos, aglutinando fracamente amostras de tipos diversos quando fazíamos aglutinações lentas em tubos com incubação a 37° durante 24 horas. Com soros tornados monovalentes puros, repetimos a tipagem pela técnica da aglutinação em lâminas de 9 amostras com duplo antígeno específico que encontramos e como mostra o quadro abaixo, com exceção de uma, tôdas passaram a aglutinar com um só sôro, tendo uma delas perdido todos seus antígenos específicos.

Amostras	1	2	3	4	5	6	7
1.ª aglutinação	V-II	II-IV	II-III	III-V	II-III	II-III	II-III
2.ª aglutinação depois de absorção	II	II	III	V	II	II	—

Com os mesmos soros também verificamos duas amostras recebidas do Instituto Lister de Londres amostras V. Z. Stansfield e W. X. Mountain 2464. A primeira aglutinou somente em sôro tipo específico V e a segunda com sôro W, confirmando a existência de um só antígeno tipo-específico, característico do tipo.

Baseadas nessas observações, o ponto de vista de Weil não nos parece certo e enquanto não for feita a caracterização por outros métodos dos diferentes componentes antigênicos do grupo Flexner, preferimos por razões acima expostas seguir a orientação proposta por Boyd e modificada por Wheeler, que a nosso ver permite uma melhor compreensão do grupo; pelo menos a julgar pelos elementos com que podemos contar com base nos nossos conhecimentos atuais.

Empregando a técnica proposta por Wheeler, continuamos tipando tôdas as amostras de *Sh. paradysenteriae* isoladas em nosso laboratório no Instituto Adolfo Lutz de São Paulo. Neste último ano foram isolados 38 bacilos paradisentéricos assim distribuídos:

	N.º de Culturas	%
Tipo I	4	10,5
Tipo II	22	58,0
Tipo III	4	10,5
Tipo IV	4	10,5
Tipo V	2	5,2
Tipo VI	2	5,2

A frequência dos tipos encontrados é mais ou menos a mesma da já encontrada entre nós por outros autores⁸. O trabalho de tipagem estando atualmente incluído dentro da rotina deste laboratório nos permitirá dentro de algum tempo fornecer dados sôbre a incidência real dos diferentes tipos de bacilos paradisentéricos encontrados em São Paulo.

RESUMO

Os autores analisaram as três classificações dos germes do grupo paradisentérico propostas pelos autores de língua inglesa. Preferem a classificação de Boyd modificada por Wheeler, por acharem ser esta a que permite uma melhor compreensão do grupo paradisentérico.

BIBLIOGRAFIA

- 1 — ALMEIDA, S. S., TAUNAY, A., NOVAES, J. C. e TRIGO, A. P. — 1947 — Tipos sorológicos de *Sh. paradysenteriae* encontrados em São Paulo — Revista do Instituto Adolfo Lutz — n.º 7 — pag. 75-87.
- 2 — ANDREWES, F. W. e INMAN, A. C. — 1919 — study of the serological races of the Flexner group of dysenteriae bacilli. Medical Research Council, Special Report Series —, N.º 42 — London.
- 3 — BOYD, J. S. K. — 1938 — The antigenic structure of the manitol-fermenting group of dysentery bacilli. *J. Hyg.* 38:477-499.
- 4 — CLAYTON, F. H. A. e WARREN, S. H. — 1929-1930 — Further study of an unusual bacillus recovered from cases presenting symptoms of dysentery. *J. Hyg.*, 29:191-200.

- 5 — DOWNIE, A. W., WADE, E. e YOUNG, J. A. — 1933 — An organism resembling the Newcastle bacillus associated with cases of dysentery. *J. Hyg.* 33:196-203.
- 6 — WHEELER, K. M. — 1944 — Antigenic relationships of *Shigella paradysenteriae* *J. Immunol.*, 48:87-101.
- 7 — WEIL, A. J., BLACK, J. e FARSETTA, K. — 1944 — The serological types of *Shigella Paradysenteriae* (Flexner) — *J. Immunol.* 49:321-351.
- 8 — ASSIS, A., MONTEIRO FILHO, A. e RIBEIRO, V. R. L. — 1946 — Tipos sorológicos de *Shigella paradysenteriae* no Rio de Janeiro — *Hospital*, 30:367-374.