

BACTERIOLOGIA DAS SHIGELOSES

por

AUGUSTO DE E. TAUNAY

Do Instituto Adolfo Lutz

Desde que SHIGA (1898) demonstrou a etiologia bacteriana de algumas formas de disenteria, pensou-se que os germes responsáveis por essa condição mórbida fossem limitados a poucas espécies bem definidas, verificando-se, mais tarde, ao contrário, constituírem grande variedade de espécies e tipos.

Nosso trabalho representa contribuição para o estudo bacteriológico do gênero *Shigella*, no qual procuramos utilizar métodos que permitam prestar informações exatas aos Serviços de Saúde Pública, sem o que se torna difícil qualquer medida profilática e impossível a realização dos inquéritos epidemiológicos. Por outro lado, com o advento da quimioterapia antimicrobiana e com o uso cada vez mais generalizado dos antibióticos, qualquer experimentação clínica com um desses agentes terapêuticos só poderá ter valor se o controle bacteriológico for perfeito, já tendo sido demonstrada a existência de tipos de shigelas mais sensíveis que outros à ação de várias drogas.

Sendo assunto de grande interesse médico-sanitário, inicialmente procuramos, na literatura médica nacional, o que de mais importante existe sobre o assunto. A primeira referência sobre pesquisa de bactérias disenterígenas que encontramos foi a de ADOLPHO LUTZ (1897), nos Relatórios do Instituto Bacteriológico de São Paulo. Este autor não conseguiu demonstrar a presença de bacilos disentéricos em fezes e os germes que isolou não foram aglutinados pelo sangue dos doentes.

FICKER (1915), examinando as fezes de 260 doentes suspeitos de disenteria bacilar, isolou o bacilo de Shiga 2 vezes e o bacilo de Flexner 8 vezes, chamando a atenção para a existência da doença em São Paulo.

Mais tarde, GODINHO (1917) refere-se a uma epidemia havida em Pernambuco, no ano de 1904, em que se suspeitou da etiologia bacilar, sem ter sido possível isolar o germe causador. Baseado na opinião de Adolpho Lutz, acredita que, em São Paulo, o primeiro caso constatado foi em 1903, embora o agente etiológico não tenha sido isolado. Como confirmação, cita o fato de esse doente ter sido acometido, em 1913, pela mesma moléstia, tendo sido, nessa ocasião, isolado das fezes, por Ficker, um bacilo tipo Flexner. Conclui que, em São Paulo, existem casos de disenteria bacilar tipo Shiga-Kruse e Flexner que, embora sem caráter epidêmico, merecem atenção dos clínicos e que a moléstia já fôra verificada em brasileiros natos.

GUIMARÃES e CORTEZ (1918) relatam caso fatal de disenteria bacilar em criança, causada por bacilo tipo Flexner; nesse trabalho, referem-se a uma epidemia de disenteria bacilar ocorrida em Cabo Frio, causada pelo bacilo de Shiga-Kruse.

GUIMARÃES (1922, 1922 a) publica o relatório de uma epidemia de disenteria bacilar na Penitenciária do Estado de São Paulo, com 142 casos, tendo havido 2 óbitos. A princípio, pensou que o agente responsável fôsse o bacilo de Flexner; posteriormente, identificou, como agente etiológico, o bacilo de Shiga.

PACHECO (1925) estuda o problema na Bahia: em 17 doentes de disenteria, isolou bacilo tipo Shiga em 80% dos casos e, em 10%, o tipo Y. Os 10% restantes não eram portadores de germes disentéricos.

GESTERIA (1930), consultando dados do Instituto Oswaldo Cruz da Bahia, de 1925-1929, encontrou, em 240 exames, 50 positivos com predominância do bacilo Flexner.

PACHECO e RODRIGUES (1928, 1930) e PACHECO e MENDONÇA (1930) fazem estudo bem documentado da bacteriologia das disenterias na cidade do Rio de Janeiro. MENDONÇA (1931) relata os resultados de 804 exames com 220 casos positivos, tendo isolado bacilos Flexner, Shiga, *sonnei* e Schmitz.

Foi, entretanto, com Arlindo de Assis que o problema das shigeloses (térmo criado por ele, em 1935, "compreendendo tôdas as determinações patológicas produzidas pelos bacilos disentéricos, quer as intestinais como as extra intestinais") tornou-se bem conhecido entre nós. A contribuição de Assis, como veremos, no decorrer dêste trabalho, é deveras notável e merece, portanto, menção especial.

Mais recentemente, RANGEL PESTANA e FARACO (1942) trazem interessante contribuição sobre a bacteriologia das enterocolites disentéricas, principalmente pelo elevado número de exames que realizaram.

MONTEIRO FILHO (1947), em sua tese de concurso para professor catedrático da Faculdade de Medicina de Niterói, faz revisão muito boa sobre a bacteriologia das shigeloses. Na literatura estrangeira, encontramos estudos muito bem feitos por WEIL (1943, 1947), NETER (1942) e FELSEN (1945).

Dividimos este nosso trabalho em duas partes: na primeira, justificamos a nossa orientação, no que diz respeito à diferenciação dos vários tipos de bacilos disentéricos, baseados seja em pesquisas por nós realizadas ou em verificações feitas por outros autores, que aceitamos como certas, no momento; na segunda, analisamos o que nos foi dado observar, num período de 4 anos, empregando métodos de trabalho que, a nosso ver, parecem satisfatórios.

Não é nosso propósito discutir, aqui, questões de sistemática bacteriana. Sabemos que a delimitação atual do gênero *Shigella*, dentro do grupo das Enterobacteriáceas, é devida mais à necessidade de entendimento entre os vários pesquisadores, estando ainda incerta a posição sistemática de alguns tipos dentro do gênero. Assim sendo, seguimos, em linhas gerais, a classificação adotada pelo MANUAL DE BERGEY (3.^a edição por BREED e colab., 1948).

1.^a PARTE

MÉTODOS DE ESTUDO

O diagnóstico de laboratório de uma shigelose faz-se, em geral, pelo exame das fezes. Sendo estas muito ricas em bactérias, torna-se necessário ao bacteriologista tomar uma série de precauções para aumentar as possibilidades de êxito do exame.

O material a ser examinado deve ser o mais fresco possível, porque, sendo o bacilo disentérico microrganismo bastante delicado, é rapidamente vencido pelo colibacilo e outros germes habituais do intestino. A melhor maneira consiste em levar ao laboratório as fezes, imediatamente depois de emitidas. Aí, o laboratorista pode escolher as partes que mais o interessam para exame; em geral, são as constituídas por muco. Em casos agudos, o isolamento do bacilo disentérico é fácil; o mesmo não acontece nos casos crônicos, aconselhando alguns autores a usar o método do bastão, preconizado por HARDY e WATT (1934), ou então colher o material diretamente das ulcerações intestinais, consoante recomenda FELSEN (1945).

Nem sempre é possível que as fezes, depois de emitidas, sejam enviadas, rapidamente, ao laboratório. Nestes casos, é muito útil o emprêgo de líquidos conservadores que impeçam a proliferação dos saprofitas habituais do intestino, sem prejudicar os bacilos disentéricos por ventura existentes.

BANGXCANG e ELIOT (1940), estudando os líquidos conservadores para transporte de fezes, concluem que de todos o que dá melhores resultados é a mistura de citrato de sódio e desoxicolato de sódio em salina tampanada, descrita por êsses autores.

Não tivemos oportunidade de realizar estudos comparativos entre líquidos conservadores. A experiência que temos nos foi dada pelo estudo de fezes inoculadas com bacilos disentéricos, usando, como termo de comparação, a glicerina como conservador, meio que sempre utilizamos.

Como é sabido, os bacilos disentéricos são muito sensíveis a pH ácido, motivo porque os líquidos conservadores empregados devem sempre ser ajustados a pH alcalino ou neutro. No caso da solução glicerinada, devemos sempre usar glicerina neutra e, assim mesmo, muitas vezes encontramos pH ao redor de 4, que é impróprio. Esse inconveniente é facilmente evitado, desde que se tampona a solução glicerina-cloreto de sódio com tampão de fosfato, para manter o pH em torno de 8. Ao conservador deve-se juntar fenol vermelho e só usá-lo se apresentar coloração rósea, pois é sabido que a glicerina pode se decompor, produzindo ácido, que então iria mudar a cor do indicador para o amarelo, o que indica estar o líquido conservador com pH alterado.

As verificações de KLIGER e colab. (1943), admitindo que seja o bacteriófago existente nas fezes o responsável pela morte rápida dos bacilos disentéricos, sugerem a adição à glicerina de formalina (1 : 10.000 e 1 : 7.500) capaz de inativar o bacteriófago sempre que houver necessidade de transportar fezes.

Em nosso laboratório, em experiências feitas, verificamos que o formol, se não aumenta a eficiência, não prejudica o exame. Como não temos ex-

periência suficiente, baseados na dos autores acima citados, parece-nos facultativa a adição do formol sempre que o exame das fezes leve algum tempo para ser iniciado. Na parte final, quando transcrevemos estudos realizados em nosso laboratório, estão tabelados os resultados que conseguimos, usando técnicas diferentes, e de tôdas a que nos deu melhor resultado foi a de Hardy e Watt, não tendo havido diferença entre transporte de fezes "in natura" e fezes já semeadas em líquido conservador, quando o período entre a emissão das mesmas e a semeadura não foi maior do que 6 horas.

A seguir, temos a escolha dos meios de cultura a serem empregados. É grande a variedade de meios propostos para o isolamento de bacilos disentéricos e, diante dos resultados obtidos pelos vários autores, concluímos que não há ainda um meio de cultura ideal para todos os tipos de *Shigella*, tornando-se, por isso, necessário o emprêgo de pelo menos 2 meios diversos, um diferenciador e outro seletivo.

Como meio diferenciador, emprega-se, em geral, uma base de gelose lactosada, à qual se adiciona um indicador de reação, permitindo diferenciar colônias de germes que produzam ou não ácido a partir da lactose. Esses meios não impedem o crescimento, algumas vezes abundante, do bacilo *coli* e do *proteus*, o que torna, muitas vezes, impossível a verificação das colônias suspeitas. Os meios dêste tipo, mais comumente empregados entre nós, são os de Endo, de Mac Conkey, de Holt-Harris-Teague e o ágar-ácido rosólico. Não são meios diferenciadores puros porque, em sua composição, entram substâncias bacteriostáticas para bacilo *coli* e *proteus*.

O segundo grupo é constituído por meios de culturas também com base de gelose lactosada, à qual se adiciona um indicador e uma ou várias substâncias bacteriostáticas que permitem o crescimento de bacilos disentéricos e impedem os germes Gram-positivos, a maioria dos coliformes, evitando o crescimento espraicante do *proteus* e permitindo, por isso, semeaduras mais abundantes. O inconveniente dêste tipo de meio é o de inibir também, algumas vezes, o crescimento de certas bactérias patogênicas, principalmente a *Sh. dysenteriae* e a *Sh. alkalescens* (PESTANA e FARACO, 1940).

A técnica que, habitualmente, usamos é a seguinte :

Chegando as fezes ao laboratório, são semeadas num tubo de solução glicerina-cloreto de sódio tamponada, a pH 8. A quantidade de fezes semeadas no tubo de glicerina (10 cm³) é a equivalente ao volume de uma amêndoa, tomando-se o cuidado de escolher partes muco-sangüinolentas, quando presentes. A emulsão das fezes da solução de glicerina deve ser a mais perfeita possível.

Como meio diferencial, usamos o de Holt-Harris-Teague e, como seletivo, o meio S. S., parte obtido da casa "Difco" e parte preparado em nosso laboratório, segundo fórmula que daremos em apêndice. Sempre usamos 2 placas do meio S. S. e 1 de H. H. T. Colocamos, com pipeta estirada ou com alça de platina, 4 gôtas da emulsão de fezes, em pontos separados numa placa de S. S. ; com um bastão em L espalha-se o material por tôda a superfície da placa e o mesmo bastão será passado na superfície de outra placa de S. S. e, por último, na placa de H. H. T., tomando-se o cuidado de não passar o bastão 2 vezes pelo mesmo ponto.

A preferência por êsses 2 meios nos foi indicada por experiências realizadas em nosso laboratório. O meio S. S. é de todos, até hoje, por nós experimentados, o que tem dado melhores resultados; permite sementeiras de maior quantidade de fezes, sendo fácil a diferenciação das colônias suspeitas, tendo ainda a vantagem de impedir a ação invasora do *proteus*. A razão de usarmos o meio de H. H. T. foi a de estarmos mais familiarizados com êle e o considerarmos equivalente aos outros acima citados. Semeadas as placas, estas são colocadas em estufa, a 37.º C, por 24 horas. No dia seguinte, verifica-se a presença de colônias suspeitas. No quadro adiante, estão sumariamente descritos os aspectos das colônias nos vários meios.

QUADRO 1

ASPECTO DAS COLÔNIAS NOS DIFERENTES MEIOS SELETIVOS

Grupo de microrganismos	Meio de cultura Holt-Harris-Teague	Meio de cultura Agar S. S.
<i>S. typhi</i>	Convexas, lisas, brilhantes, em geral de azul mais claro que o meio.	Colônias sem côr ou pouco amareladas. Em 48 horas a côr pode se acentuar.
<i>Salmonella sp.</i>	Semelhantes às do bacilo tífico.	Em geral maiores que as do bacilo tífico.
<i>Shigella sp.</i>	Semelhantes às do bacilo tífico.	Semelhantes às do bacilo tífico. <i>Sh. sonnei</i> pode crescer formando colônias muito grandes com centro amarelo.
Coliformes	Colônias azul-negro ou com centro escuro e timbre metálico.	Inibidos. Podem crescer como colônias opacas de tonalidade do róseo ao vermelho. Colônias maiores podem ter centro vermelho com periferia branca ou amarela.
<i>Proteus</i>	Colônias sem côr, com pseudópodos.	Colônias sem côr, podendo ter pseudópodos.

De um modo geral, é o que se deve observar, até que cada qual possa, por experiência própria, julgar o que deverá ser considerado como colônia suspeita, uma vez que, não raro, germes patogênicos são isolados de colônias atípicas.

ISOLAMENTO DAS COLÔNIAS :

Isolar de cada placa pelo menos uma colônia com caracteres semelhantes aos acima descritos. Procurar atingir, com a agulha depois de fria, a colônia, bem no centro, evitando, o mais possível, isolar colônias em zonas da placa onde estas não estejam bem separadas. Se não for possível, será de toda conveniência isolar a colônia que não puder ser separada da primeira vez numa placa de H. H. T., por estrias sucessivas. Isolada a colônia, inocular o meio de tríplice açúcar de Krumwiede modificado, introduzindo a agulha na base e, quando esta for retirada, passá-la pela parte inclinada.

Após incubação de 24 horas em estufa, muitas indicações podem ser dadas pelo simples exame do tríplice açúcar, conforme está esquematizado no quadro seguinte.

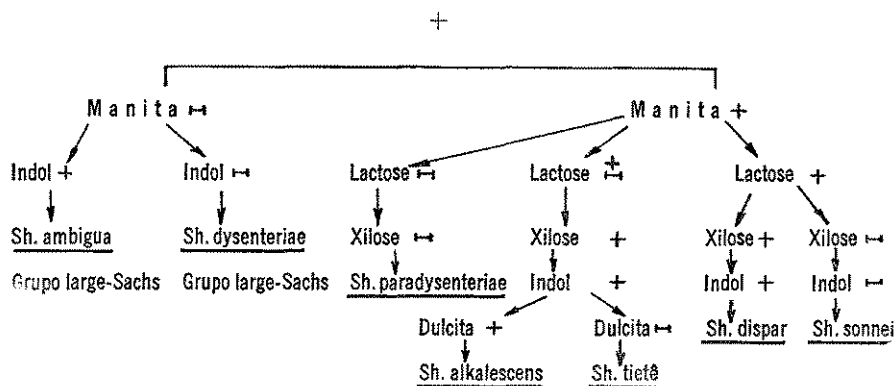
QUADRO 2

	PARTE INCLINADA	BASE
<i>S. typhi</i>	Não altera.	Ácido com ligeiro enegrecimento.
Grupo disentérico	Não altera.	Ácido sem enegrecimento.
<i>Proteus</i> <i>Paracoli</i>	Não altera.	Ácido e bolhas de gás, com enegrecimento difuso e intenso para as salmonelas.
Salmonelas		
Reações sem valor ...	Não altera.	Não altera.
	Ácido e gás.	Ácido e gás.

Devemos sempre lembrar que algumas shigelas podem produzir ácido na parte inclinada do tríplice açúcar, voltando êste, em geral, para alcalino, se a incubação for prolongada por mais 24 horas. Algumas amostras de *Sh. paradysenterix* (tipo *newcastle*) podem produzir um pouco de gás na base, apesar de serem legítimos bacilos disentéricos. A seguir, de cada tríplice suspeito, será feita uma tentativa de identificação bioquímica.

Como vimos, a produção de ácido sem gás, na base do tríplice, indica, em geral, tratar-se de *Shigella* ou da *Salmonella typhi*. Neste segundo caso, a produção de ácido sulfídrico pela *S. typhi* orienta a pesquisa para êsse lado. Para confirmação de gênero e separação em espécies, usamos os seguintes meios diferenciais: dextrose, lactose, manita, xilose, dulcita, meio de Stuart, meio de citrato de Simmons, água peptonada para produção de indol, meio de Clark Lubs para verificação do acetilmetilcarbinol, caldo comum ou ágar semi-sólido para verificação de motilidade. Serão consideradas shigelas todos os bacilos Gram-positivos que fermentem a dextrose sem gás, não hidrolisem uréia, não utilizem citrato, não produzam acetilmetilcarbinol e hidrogênio sulfurado e que sejam imóveis. Obedecendo à chave de identificação, poderemos chegar à diferenciação da maioria das espécies de *Shigella*.

QUADRO 3
 QUADRO DE IDENTIFICAÇÃO
 Bacilos Gram-negativos imóveis
 Citrato, Uréia, V. P. e H₂S negativos
 Dextrose



Nota: Existem bacilos disenterícos capazes de produzir bolhas de gás na dextrose e na manita; pertencem ao grupo paradisenteríco, sendo sorolôgicamente idênticos ao tipo *Sh. paradysenteriae* Boyd 88. Pertencente ao mesmo grupo também é freqüente um bacilo manita-negativa, a *Sh. newcastle*. Também é comum um bacilo disenteríco manita — indol +, sorolôgicamente idêntico à *Sh. paradysenteriae* Boyd 103. A diferenciação entre certos tipos *Sh. alkalescens*, *Sh. tietê* e *Sh. dispar* só é possível pelo estudo sorolôgico.

Após a verificação das propriedades bioquímicas, seguem-se os testes sorolôgicos para identificação completa do germe e separação em tipos.

O êxito do emprêgo de técnicas sorolôgicas para identificação das salmonelas fêz com que muitos laboratórios estendessem para o grupo das shigelas métodos semelhantes. A experiência da segunda guerra mundial confirmou a praticabilidade de tal processo, que é método rápido, seguro e capaz de identificar, com precisão, a totalidade das shigelas. O método é baseado na aglutinação específica macroscópica, em lâmina de determinada *Shigella*, pelo seu sôro específico.

Conhecida a possibilidade de existirem antígenos comuns entre as várias espécies de bacilos disenterícos e mesmo a outros germes da família *Enterobacteriaceae*, devemos usar somente soros diagnósticos que possuam unicamente anticorpo correspondente ao tipo específico da bactéria. Isto se consegue, verificando, inicialmente, quais as reações de grupo que apresenta determinado sôro, para as várias espécies de shigelas e, depois, removendo êsses anticorpos secundários, por meio de absorções apropriadas. Muitas vêzes, não é preciso absorver o sôro, bastando testá-lo em várias diluições, para se conseguir uma ótima, onde há somente aglutinação para o germe que se deseja. Quando tratarmos da sorologia do grupo paradisenteríco, descreveremos, detalhadamente, os métodos por nós usados para obtenção de soros monovalentes.

A identificação pode ser feita diretamente das placas de isolamento, bastando emulsionar, em solução fisiológica, as colônias suspeitas e testá-

las, com soros específicos, em lâmina ; aglutinação positiva com sôro será suficiente para estabelecer o diagnóstico do germe.

Esse processo só deve ser usado quando houver muita urgência. Sugerimos isolar, primeiramente, as colônias suspeitas em tríplice açúcar e, dos tubos com fermentação tipo *Shigella*, proceder às provas de aglutinação do seguinte modo :

- 1) colocar, aproximadamente, 0,5cm³ de solução fisiológica no tubo de tríplice açúcar ;
- 2) com uma pipeta estirada, tendo a ponta encastoadada frouxamente com algodão hidrófilo, emulsionar, na solução fisiológica, todos os germes da parte inclinada do meio ;
- 3) aspirar a emulsão através do algodão ;
- 4) colocar uma gôta dessa emulsão sôbre vários quadrados de uma placa de vidro quadriculada. Sôbre a gôta da emulsão, pingar uma gôta do sôro. Misturar bem sôro e emulsão com uma alça e verificar com qual sôro há aglutinação. Aglutinação positiva evidente com um sôro é suficiente para terminar o exame, dispensando outras provas complementares.

É indispensável verificar sempre se a suspensão do germe em análise é estável em solução fisiológica, bastando, para isso, colocar uma gôta da suspensão na placa de vidro e constatar se não é auto-aglutinável.

É aconselhável colocar as emulsões, antes de serem testadas, 10 minutos, num banho-maria em ebulição. Existem certas espécies de bacilos disentéricos que possuem antígenos de superfície termolábeis, que impedem a aglutinação e que, com essa prática, são destruídos.

Dado o grande número de tipos de bacilos disentéricos, torna-se dispendioso o emprêgo de todos os soros para a identificação. Para isso, achamos muito útil o emprêgo de soros polivalentes específicos, as mais das vezes suficientes para a rotina diária.

Usamos 4 soros polivalentes :

- 1) Sôro polivalente *Sh. paradysenterix* (I-VI)
- 2) Sôro polivalente *Sh. paradysenterix* (VII-XII)
- 3) Sôro polivalente *Sh. alkalescens*
- 4) Sôro polivalente *Sh. sonnei*

Os dois primeiros são preparados tomando-se os tipos I a VI e VII a XII, que são semeados em tubos de ágar e incubados, 24 horas, em estufa a 37.°C. O crescimento bacteriano é raspado e emulsionado em solução fisiológica ; num 1.° frasco, misturam-se todos os tipos, de I a VI, e, num 2.°, os de VII a XII ; agita-se bem e estandardizam-se as emulsões para 1.000 milhões de germes por cm³. Injetar, na veia de 2 coelhos, 5 inoculações, em dias alternados, começando com 0,5, aumentando 0,1 nas seguintes. Depois de 5 dias da última inoculação, sangrar o animal e verificar se o sôro aglutina todos os germes que entraram em sua preparação ; verificar se existem reações cruzadas com todos os outros tipos de shigelas ; remover as aglutininas comuns, por absorção ou por diluição.

Em geral, os soros assim preparados não aglutinam bem as amostras correspondentes ao tipo VI, motivo pelo qual é útil empregar, na emulsão, maior quantidade desse germe, ou melhor, fazer uma 6.^a inoculação no coelho com 1 cm³ de 1.000 milhões de germes do tipo VI. A observação indica, quase sempre, a necessidade de se absorverem esses soros com *Sh. sonnei*, *Sh. alkalescens* e *S. typhi*.

Para o grupo VII a XII os mesmos cuidados são necessários, e aqui também encontramos aglutinações cruzadas para *Sh. sonnei* fase II e *Sh. alkalescens*.

Consideramos, como soro polivalente *alkalescens*, um soro preparado da mesma maneira, usando-se como antígenos *Sh. alkalescens* tipo I e *Shigella* tipo *tietê*.

Os mesmos cuidados são necessários; com este soro as aglutinações cruzadas mais freqüentes se dão com *Sh. paradysenteriae* e *Sh. sonnei*.

Usamos, para o preparo do soro polivalente *sonnei*, amostras de *Sh. sonnei* em fase I e II. Preparo e verificação idênticos aos anteriores. Reações cruzadas mais freqüentes com *S. typhi* e *Sh. paradysenteriae* tipo XI.

Resumindo, pronto o soro polivalente, verificado que aglutina bem com todas amostras que entraram no seu preparo, observar quais outras espécies de shigela também são aglutinadas por esse soro. Tentar diluir, de modo a afastar aglutinações de grupo; se não for possível, absorvê-lo com as amostras que têm antígenos comuns.

Sabendo-se que as shigelas do grupo manita-negativa são raras entre nós, não usamos soros polivalentes para sua identificação. Para todo germe suspeito de *Shigella*, que não aglutina com nenhum desses soros polivalentes, usamos soros monovalentes correspondentes a cada uma das espécies do grupo manita-negativa. No caso de também não haver aglutinação, esse germe deve ser estudado mais detalhadamente, levando-se em conta suas características biomorfológicas e antigênicas.

Usando esse processo, há alguns anos, sempre comparando com os resultados das provas bioquímicas, não temos discordâncias e, de certa maneira, tem-nos dado resultados mais satisfatórios que os conseguidos com as provas bioquímicas.

Em nosso Laboratório, quando é o caso, confirmamos os resultados dos soros polivalentes, com soros monovalentes tipo-específicos e nunca tivemos discordâncias entre os dois soros.

À primeira vista, parece ser difícil o emprêgo de um número tão grande de soros para se chegar a um resultado. Entretanto, se conhecermos a incidência das várias espécies de bacilos disentéricos numa dada região, o problema torna-se mais fácil. Em São Paulo, verificamos que cerca de 90% dos casos de disenterias bacilares são causados por 3 tipos de bacilos, na seguinte ordem: *Sh. paradysenteriae*, *Sh. sonnei*, *Sh. alkalescens*, seguidas dos outros cuja incidência varia conforme os anos. Do grupo mais freqüente (*Sh. paradysenteriae*), cerca de 98% são causados por bacilos dos tipos I a VI, razão pela qual o emprêgo somente dos 3 soros polivalentes (*Sh. paradysenteriae* I a VI, *Sh. sonnei* e *Sh. alkalescens*) será suficiente para a grande maioria dos casos.

WHEELER (1944a) e FERGUSSON e colab. (1947) utilizaram o processo rápido de identificação dos bacilos disentéricos pela aglutinação macroscópica em lâmina e chegaram a resultados muito satisfatórios, o que nos induziu a proceder do mesmo modo. Até agora, não notamos discordância alguma com o método bioquímico. Como já dissemos, é o processo sorológico o único que permite diferenciar tipos de bacilos disentéricos, o que não se consegue pelos métodos bioquímicos.

Foram êsses os métodos que utilizamos para isolar e identificar bacilos disentéricos em fezes. Em capítulos separados, estudaremos, detalhadamente, cada um dos tipos de shigelas patogênicas para o homem.

Não pretendemos estabelecer um quadro de classificação ; o seu arranjo corresponde à diferenciação bioquímica anteriormente descrita, baseado em reduzido número de provas, para finalidade descritiva.

Dividimos os bacilos disentéricos em 3 grupos, de acôrdo com a acidificação ou não da lactose e da manita.

I grupo : manita + lactose —	{	<i>Sh. paradysenteriaë</i> <i>Sh. alkalescens</i> <i>Sh. tietê</i>
II grupo : manita + lactose +	{	<i>Sh. sonnei</i> <i>Sh. dispar</i>
III grupo : manita — lactose —	{	<i>Sh. dysenteriaë</i> <i>Sh. ambigua</i> <i>Sh. sp. grupo Large-Sachs</i>

SHIGELLA PARADYSENERIÆ

A *Shigella paradysenteriaë* (Collins) Weldin, ou grupo paradisentérico, é constituída por uma variedade grande de tipos de bacilos disentéricos, todos êles possuindo em comum certas propriedades bioquímicas.

Êsses bacilos são responsáveis pela grande maioria das shigeloses humanas, estando os vários autores, hoje em dia, acordes em considerá-los patogênicos para o homem, uma vez que todos os membros dêsse grupo já foram reconhecidos como agentes disenterígenos em várias partes do mundo.

Cabe a FLEXNER (1900) a primeira descrição de um bacilo dêste grupo ; isolou-o nas Filipinas, de casos de disenteria. No mesmo ano, STRONG e MUSGRAVE (1900), também nas Filipinas, isolaram outro componente do grupo e, mais tarde, HISS e RUSSEL (1903) descreveram um terceiro. Na 1.ª tentativa de classificação dos bacilos disentéricos feita por HISS (1904), todos êsses germes foram colocados no grupo dos fermentadores da manita, propondo êsse autor a utilização de alguns carboidratos para separação dessas três variedades. Êsta classificação, apesar de estar longe da realidade, foi e ainda continua sendo largamente citada na literatura médica.

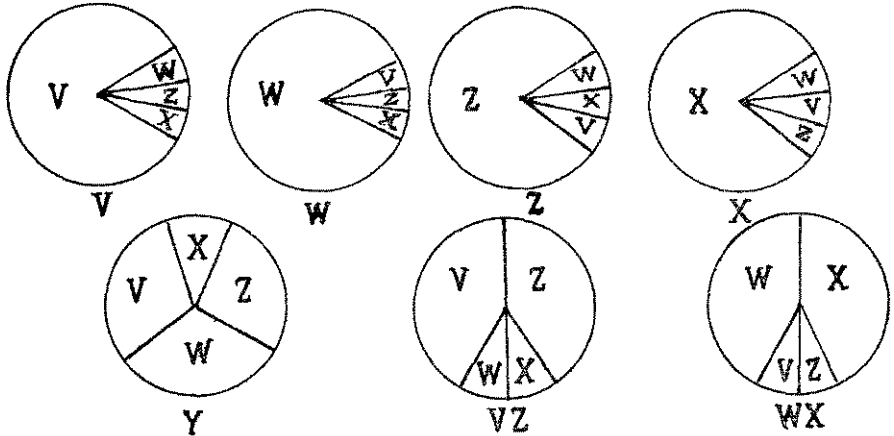
KRUSE e colab. (1907) foram os primeiros a mostrar a grande complexidade sorológica do grupo fermentador da manita. Os tipos descritos por esses autores não podem, hoje em dia, ser comparados aos presentemente conhecidos. Investigações posteriores de MURRAY, em 1918, e GETTINGS, em 1919, (*In* TOPLEY e WILSON, 1946) e, principalmente, de ANDREWES e INMAN (1919) foram o ponto de partida para a diferenciação sorológica do grupo paradisentérico. Apesar dessas verificações, BOJLEN (1934) ainda procurou estabelecer relações entre a fermentação da manita, da sacarose e da maltose com os diferentes grupos sorológicos, mas os seus resultados não obtiveram confirmação.

Provas inofismáveis do pouco valor das provas de fermentação para o reconhecimento dos vários tipos podem ser encontrados nos trabalhos de KRUSE e colab. (1907) e, entre nós, nas verificações feitas por ASSIS (1930). Hoje em dia, somente algumas delas são utilizadas; assim mesmo, para diferenciação com outros bacilos disentéricos; as mais usadas podem ser assim agrupadas:

	+ Dextrose
	— Lactose
	— Sacarose
	+ Manita
	— Xilose
<i>Sh. paradysenterix</i>	— Glicerina
	+ Dulcita
	— Salicina
	± Indol
	— Uréia
	— Citrato
	— V. P.

Principalmente com os trabalhos de ANDREWES e INMAN (1918), a diferenciação sorológica dos vários tipos do grupo paradisentérico começou a ser conhecida. Estudaram esses autores 116 amostras de bacilos paradisentéricos, concluindo 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 determinado antígeno sobre os demais, caracterizando, por assim dizer, um tipo. Estabeleceram 4 tipos sorológicos V, W, X e Z, de acordo com o antígeno predominante, e um 5.º tipo, que foi denominado Y, possuindo quantidades mais ou menos equivalentes dos antígenos V, W e Z, associados a pequena quantidade de X. Encontraram ainda 2 sub-tipos VZ e WX, variantes dos tipos V e W, com a particularidade de conterem grande proporção dos antígenos Z e X. Esquemáticamente, os conceitos de Andrewes e Inman podem ser assim representados:

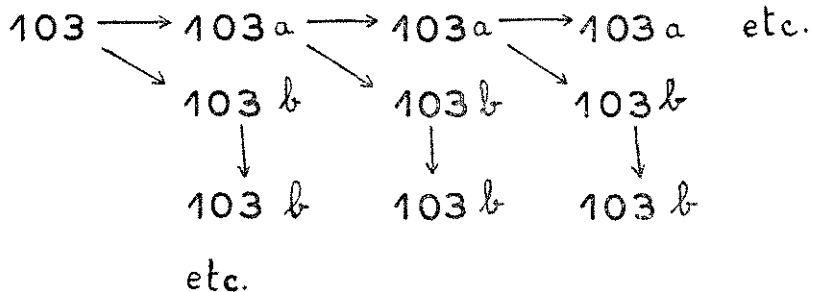
FIGURA N.º 1



DAVISON (1920), entre outros, mostrou ser a classificação de Andrewes e Inman incompleta; não podia colocar dentro desse esquema muitas amostras isoladas por ele. BOYD (1938), publicando suas observações sobre o comportamento sorológico de 4.856 culturas de *Sh. paradysenteriae*, isoladas, em sua maioria, na Índia, verificou que cerca de $\frac{3}{4}$ 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 conhecidos; 3 desses tipos (amostras Boyd 103, P 119 e Boyd 88) estavam relacionados, sorologicamente, com os tipos V, W e Z de Andrewes e Inman, ao passo que, dos 6 tipos restantes, (amostras Boyd 170, P 288, P 274, D 1, D 19 e P 143), apenas a P 143 revelava possuir pequena quantidade de antígeno em comum com os primitivos tipos de Andrewes e Inman.

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), pôde demonstrar que esse fenômeno envolvia uma modificação fundamental na estrutura antigênica. Em subculturas sucessivas, a amostra B 103 originava 2 tipos de colônias (fig. 1), uma das quais (a) reproduzia, integralmente, os característicos morfológicos da amostra, ao passo que a outra (b) era va-

FIGURA N.º 2

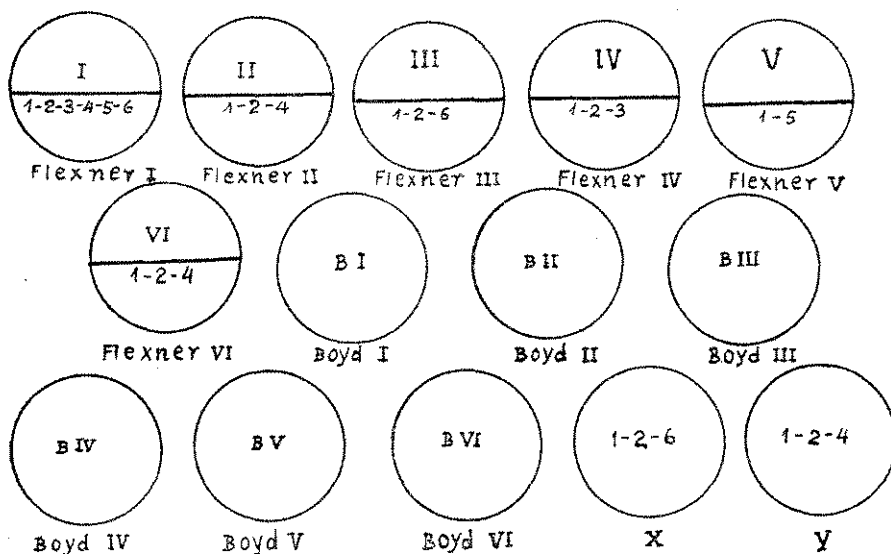


riante incompleta da primeira, incapaz de reverter ao tipo original, produzindo, exclusivamente, culturas do seu próprio tipo.

Por meio de provas de aglutinação cruzada, chegou à conclusão de que a amostra 103 A possuía 2 antígenos diversos: um antígeno tipo-específico que lhe era próprio e um antígeno de grupo que êle 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 sôro 103 A; teria sofrido processo degenerativo com perda do antígeno específico característico da amostra original, conservando o antígeno de grupo o qual, por ser menos especializado, seria mais resistente a variações involutivas. Êstes fenômenos de variação foram observados por Boyd, de modo mais ou menos completo, em outros tipos de *Sh. paradyserteriae* e representariam 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 através de um antígeno de grupo comum a todos. Não conseguiu demonstrar um antígeno tipo-específico nas amostras X e Y de Andrewes e Inman, concluindo que êstes dois tipos deveriam ser considerados como variantes dos tipos Z, W e 103, que perderam seus antígenos tipo-específicos, conservando somente seu antígeno de grupo.

Esquemáticamente, os vários tipos antigênicos criados por Boyd podem ser assim representados:

FIGURA N.º 3



Na figura 3, os algarismos romanos representam o antígeno tipo-específico e o complexo antigênico comum aos vários tipos é apresentado em algarismos arábicos reproduzido de maneira simplificada no esquema.

Boyd também não encontrou os chamados tipos mixtos de Andrewes e Inman.

WHEELER (1944), revendo a constituição antigênica do grupo paradisentérico, confirmou plenamente os trabalhos de Boyd. Para êle também seriam diferenças qualitativas e não quantitativas, que importariam na diferenciação dos vários tipos. 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 os membros do grupo. Wheeler também mostrou que um antígeno tipo-específico pode estar ligado a antígenos de grupos diferentes, o que permite diferenciar 2 germes com o mesmo antígeno tipo-específico, pelo seu conteúdo diverso em antígenos de grupo.

WEIL e colab. (1944), 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 os vários tipos sejam caracterizados por um componente primário associado a outros antígenos quantitativamente menos importantes e, por isso, denominados secundários. Um antígeno primário, isto é, predominante em certa amostra, poderá ser secundário em outra. Weil identificou 14 antígenos diferentes nos bacilos paradisentéricos e a predominância de um desses antígenos é o que caracteriza a amostra como tipo sorológico definido. Baseou suas observações, não só em provas de absorção de aglutininas, como também em provas de proteção, utilizando embrião de galinha. Argumentou que a existência de um antígeno, comum a cerca de 80% dos bacilos Flexner mais frequentemente encontrados, levaria a se obter 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, dividiu o grupo Flexner em uma série de tipos, utilizando, para êsse fim, soros aglutinantes monovalentes.

Sendo as diferenças antigênicas de ordem quantitativa e não qualitativa, entre os vários tipos, admite, para explicar a possibilidade de se obter um soro monovalente, a hipótese de diferenças funcionais entre os antígenos primários e secundários, isto é, os antígenos secundários estariam, por assim dizer, protegidos no microrganismo intacto de tal forma que, quando postos em contacto "in vitro" com soros possuindo anticorpos a êles correspondentes, não são acessíveis a êsses anticorpos. A diferença entre um tipo e outro seria dada por posições diferentes dos vários antígenos dentro do corpo bacteriano.

Sendo difícil estabelecer a correspondência entre os tipos sorológicos descritos por KRUSE (1907), LENTZ e PRIGGE (1931) e AOKI (1921), deixamos de fazê-lo, estando, no quadro 4 somente mencionados os tipos sorológicos descritos pelos autores anteriormente citados.

Êste assunto já foi objeto de estudos por nós realizados (1948) e as conclusões a que chegamos parecem-nos permitir o uso do esquema proposto por Boyd e modificado por Wheeler como o mais simples e talvez o que mais

QUADRO 4

Andrewes e Inman	Boyd	Wheeler	Weil
V	V	I	I
W	W	II	II
Z	Z	III	III
—	Boyd 103	IV	IV
—	Boyd P 119	V	V
—	Boyd 88	VI	VI
X	—	—	VII
Y	—	—	VIII
—	Boyd 170	VII	IX
—	Boyd P 288	VIII	X
—	Boyd P 274	IX	XIV
—	Boyd D 1	X	XI
—	Boyd D 19	XI	XII
—	Boyd P 143	XII	XIII

se aproxime da realidade. Assim sendo, usamos, para o grupo paradisentérico, a nomenclatura proposta por Wheeler.

Não é necessário insistir na grande importância médico-sanitária da tipagem dos bacilos paradisentéricos isolados nas diversas partes do mundo. Sem esse recurso que oferece o laboratório, não é possível propor-se um tipo de vacina para uma região; também não se poderia opinar sobre a patogenicidade dos vários componentes do grupo e, por último, verificar a existência de novos tipos, algumas vezes importantes em determinadas regiões. Qualquer trabalho epidemiológico perderia grande parte de seu valor se não fosse completado pelos dados que a sorologia oferece.

No Brasil, Assis e colab. (1946) foram os primeiros a verificar a incidência dos vários tipos de bacilos paradisentéricos no Rio de Janeiro. ALMEIDA e colab. (1947) fizeram o mesmo em São Paulo e os resultados obtidos por esses autores estão de acordo com o que já foi verificado em outras partes do mundo. Em São Paulo, somente os tipos IX e X não foram encontrados, o mesmo tendo sido verificado no Rio de Janeiro.

Na última revisão sobre o assunto feita por WEIL (1947), encontramos dados pormenorizados, por autor e região, da incidência dos bacilos paradisentéricos, mostrando que os diversos tipos vêm sendo encontrados em todas as partes, não pairando mais dúvidas sobre tipos de patogenicidade duvidosa.

Em nosso Laboratório, seguindo métodos propostos por WHEELER (1944, 1944a), realizamos a tipagem de todas as amostras isoladas por nós na cidade de São Paulo, de 1946 ao 1.º semestre de 1950. Os resultados estão representados no quadro na parte final deste trabalho.

A seguir, vamos descrever os métodos que utilizamos para preparação dos soros usados na tipagem dos bacilos paradisentéricos. Inicialmente, verificamos estarem as amostras em fase S. Inoculamos, na veia de coelhos, em dias alternados, na quantidade de 1 cm³, doses crescentes da suspensão de germes. Total de 5 inoculações, perfazendo 5.000 milhões de germes.

As duas primeiras inoculações foram subcutâneas, com germes mortos pelo formol ; as três últimas, por via venosa, usando-se germes vivos.

Cinco dias após a última inoculação, procedíamos à sangria exploradora, verificando-se o título dos soros obtidos fazendo-se aglutinações em tubo a 37.° C, incubados por 24 horas. Todos os soros com título de 1/3.200 ou mais foram considerados satisfatórios.

Para obter um soro tipo-específico monovalente, empregamos o seguinte método :

Diluir o sôro a 1/10 em salina e fazer a aglutinação em lâmina com amostras de bacilos disentéricos em fase S, incluindo amostras representativas de cada espécie e tipo, assim como amostras de *Salmonella typhi*. Se possível, fazer aglutinação com 4 ou mais amostras de Flexner X e o mesmo número de Y.

Observar cada aglutinação durante 5 minutos, no mínimo.

Após observar as aglutinações em lâmina, escolher, como raças absorventes, as que tiverem dado as reações de aglutinação mais fortes. Geralmente, as amostras X e Y estão entre as que dão reações mais fortes, pelo fato de conterem maior quantidade de antígenos de grupo comuns aos vários tipos do grupo paradisentérico. Nesse caso, usar X e Y para as primeiras absorções.

A quantidade de germes a ser empregada nas absorções é determinada por tentativa.

Os germes para absorção são obtidos semeando-se frascos de Roux ou placas de alumínio (25x25) com ágar comum. A semeadura é feita inicialmente em caldo comum, incubado por 6 horas, e, depois, repicado para o ágar. O caldo deve ser usado somente num volume que dê para umidecer a placa ou a garrafa, em geral 1 ou 2 cm³. Preferimos usar placas de alumínio, por ser mais fácil retirar o crescimento microbiano pela simples raspagem do meio. Na maioria das vezes, foi suficiente uma placa de 25x25 para absorção de 15 cm³ de sôro diluído. As absorções sempre foram realizadas em banho-maria, durante 2 horas, no fim das quais a mistura é centrifugada e o líquido sobrenadante retirado.

Como exemplo, vamos reproduzir o que foi feito para preparação de um sôro tipo-específico I. Amostra escolhida tipo I recebida de K. M. Wheeler. Inicialmente, foram verificadas as condições de pureza da cultura. Inoculação em coelho, como foi acima descrito. A sangria de prova mostrou ter o sôro o título de 1/6.400, portanto satisfatório. Sôro diluído a 1/10 e experimentado com tôdas as variedades e tipos de bacilos disentéricos. Aglutinação rápida e total com amostras X, Y e bacilo paradisentérico tipo III. Aglutinações menos intensas com os tipos II, IV, V e VI. Absorção com 2 amostras X, 2 amostras Y e 1 amostra tipo III, 2 horas, a 37.° C, em banho-maria. Em geral, se a absorção for completa, grande porção dos germes permanece em suspensão ; se for incompleta, a totalidade dos germes será aglutinada. Centrifugar e aspirar o sobrenadante. Verificar o sôro depois de absorvido com tôdas as amostras que aglutinaram de início, antes da absorção. No caso presente, foram necessárias 2 absorções com amostras X e Y e tipo III, para remover tôdas as aglutininas de grupo e tornar o sôro monovalente. Fazer diluições do sôro absorvido a 1/15 e 1/20 : se também houver aglutinação rápida e total nessas diluições com a

amostra que serviu para seu preparo, o soro todo poderá ser usado nessas diluições. Adicionar ácido fênico como preservativo (5 por mil).

Preparamos, usando esta técnica, 12 soros monovalentes que correspondem à classificação de Wheeler I-XII. Somente encontramos frações antigênicas comuns a outras shigelas, com o soro IX (P274) e a *Sh. alkalescens* e soro XI (D 19), que possuía uma fração da *Sh. sonnei* em fase II. Em ambos os casos, foi fácil remover dos soros essas frações antigênicas.

Queremos ainda chamar a atenção para a dificuldade de se obterem coelhos cujo soro não possuía anticorpos para os bacilos paradisentéricos. Testamos o soro de aproximadamente 60 animais, para conseguirmos somente 6 nos quais não existiam aglutininas naturais. Essa eventualidade precisa ser bem verificada, porque, algumas vezes, o soro normal do coelho possui aglutininas em títulos elevados, fato este já verificado, anteriormente, por BOYD (1940).

Algumas vezes, também fomos obrigados a absorver os soros com *S. typhi*, o que também já foi verificado por FERGUSON e colab. (1947).

Outros métodos de tipagem já foram propostos. HARDY e colab. (1943) descreveram um método por aglutinação em tubo, com soros não absorvidos. Devemos lembrar que, aqui, as causas de erro podem ser muito grandes, devido à interferência dos antígenos de grupo. CONZALES e OTERO (1945) propoem a tipagem pela reação de precipitação. Os resultados obtidos foram inteiramente satisfatórios, mas o método é muito mais trabalhoso que o processo acima descrito.

Talvez o fracionamento dos bacilos paradisentéricos por processos químicos venha indicar quais as diferenças de um tipo para outro. Vários autores se ocuparam do assunto e, em resumo, estas são as conclusões.

Observações antigas, quanto à estrutura química dos antígenos do grupo disentérico, mostraram a presença de polisacarídeos específicos nos bacilos Shiga, Flexner e *sonnei*. Mais recentemente, BOIVIN e MESROBEAUNU (In TOPLEY e WILSON, 1946), tratando bacilos Flexner pelo ácido tricloroacético, mostraram que o antígeno completo dos bacilos paradisentéricos é constituído por polisacarídeos ligados a compostos nítricos e lipóidicos. GOEBEL e colab. (1945), CARPENTER (1943), PERLMAN e GOEBEL (1946) e SMOLENS e colab. (1946) mostram que cada tipo de shigela possui um antígeno somático composto por um único antígeno complexo. Acentuam, entretanto, não ser possível, dentro de nossos conhecimentos atuais, eliminar a possibilidade de o antígeno somático específico ser substância única, livre de possíveis componentes de grupo.

Outro campo que também apresenta grande interesse é o da existência de antígenos comuns a outras shigelas, salmonelas e coliformes e à *Sh. paradysenteriae*.

FERGUSON e WHEELER (1946) verificam relações entre *paracoli* e Flexner. BORNSTEIN, SAPHRA e DANIELS (1941), com as salmonelas. FERGUSON e colab. (1947) chamam a atenção para o fato de ser necessário às vezes, absorver os soros do grupo Flexner com *S. typhi*, devido à existência de antígenos comuns. Nós (1948a) encontramos antígeno de *Salmonella* IX numa amostra de *Sh. paradysenteriae* tipo II. PLANET DO AMARAL (1949) também encontrou relações antigênicas entre bacilo Flexner tipo II e salmonelas.

Pesquisando a existência de antígenos do grupo paradisentérico em cerca de 2.000 amostras de bacilos do grupo coliforme, tivemos, inúmeras vezes, oportunidade de encontrar reações de aglutinação com os antígenos de grupo dos paradisentéricos. Entretanto, essas amostras, de modo geral, perdiam o componente comum ao grupo Flexner, depois de algumas passagens nos meios artificiais. Uma delas, que estudamos em particular, possuía uma fração antigênica semelhante ao bacilo Flexner tipo II, sendo aglutinado por um soro Flexner tipo II total até diluição 1/1280 (título do soro 1/3.200) e pelo soro tipo II (absorvido) até 1/320. O soro do doente aglutinava não só a amostra do coliforme como amostra Flexner II até 1/640, não tendo sido possível isolar das fezes, em 2 culturas feitas, bacilo paradisentérico.

Existem ainda 2 tipos de bacilos paradisentéricos que, pelas anomalias de seu comportamento bioquímico, merecem especial menção.

CLAYTON e WARREN (1929), estudando um surto disentérico na cidade de Newcastle (Inglaterra), em 1925, isolaram um germe que, para eles, seria o responsável pela epidemia, mas que não podia ser classificado dentro dos esquemas propostos para identificação dos bacilos disentéricos. Apresentava a particularidade de produzir pequena quantidade de gás na dextrose, dulcita e maltose e de não acidificar a manita. Sob o ponto de vista sorológico, possuíam esses germes antígenos comuns com o grupo paradisentérico (V, W, Y e Z de Andrewes e Inman) mas também possuíam antígenos próprios. Posteriormente, DOWNIE e colab. (1933) isolaram, na cidade de Manchester (Inglaterra), um germe semelhante ao bacilo *newcastle*, caracterizando-se pela produção de ácido e gás na manita, sendo as demais reações culturais e comportamento sorológico inteiramente idênticos aos do bacilo *newcastle*. BOYD (1938) demonstrou que esses 2 germes deveriam ser enquadrados dentro do grupo paradisentérico, porque ambos eram antigênicamente idênticos ao bacilo paradisentérico isolado por ele na Índia e conhecido como tipo Boyd 88. Ficou, assim, esclarecida a posição sistemática dos bacilos *newcastle* e *manchester*, atualmente conhecidos como bacilos disentéricos do grupo paradisentérico, classificados como tipo sorológico VI na classificação de Wheeler. A capacidade de produzir gás nos meios habituais de identificação, constituindo uma anormalidade bioquímica no enquadramento desses germes no gênero *Shigella*, não deve ser interpretada de maneira tão absoluta. Na literatura sobre o assunto, de alguns anos atrás, encontram-se referências à produção de pequenas quantidades de gás por bacilos disentéricos.

Recentemente, EWING e TAYLOR (1945), verificando o comportamento bioquímico de diversas amostras de *Sh. paradysenteriae* tipo VI, utilizando, como substrato nas provas de fermentação, 4 variedades de peptona, concluíram que o tipo de peptona usado influenciava na produção de gás. Portanto, a mesma amostra podia ser aerogênica ou não, dependendo do tipo de peptona utilizado.

Quanto à não utilização da manita, carboidrato chave na classificação dos paradisentéricos, já foi verificada, embora em caráter transitório, em outros bacilos paradisentéricos. Neste caso, poder-se-ia admitir que a característica se tornara fixa, não sendo esse fato suficiente para afastá-los do grupo paradisentérico, como o faz o MANUAL DE BERGEY (1948).

A presença de germes desse tipo já foi assinalada por LEITE RIBEIRO (1946) e MONTEIRO FILHO (1946), no Rio, e por ALMEIDA e colab. (1948), em São Paulo, quando chamamos a atenção para esse grupo que, pelo seu comportamento anômalo, pode se prestar a confusões com outros germes entéricos, motivando interpretações errôneas quanto à sua verdadeira significação patogênica.

Situação semelhante apresenta o bacilo disentérico descrito por DENIER e HUET (1912), que tinha a particularidade de fermentar a maltose, não alterando a lactose, manita e sacorose. Propuzeram a denominação de bacilo Saïgon, para especificar o local onde fôra isolado, tendo DENIER (1915) isolado esse germe em 18,78% dos casos de disenteria bacilar por êle verificados. Esse germe também tinha, como característica sorológica, ser aglutinado por soros anti-Flexner.

PACHECO e RODRIGUES (1928) isolaram, no Rio de Janeiro, um bacilo semelhante ao descrito por Denier e Huet ao qual denominaram *Shigella saïgonensis*. MONTEIRO (1947) isolou de um caso de disenteria em adulto um germe semelhante ao chamado tipo Saïgon. Estudou-o, comparativamente, com a amostra de Pacheco e Rodrigues, concluindo que ambas eram idênticas. Verificou também a alta aglutinabilidade da amostra Saïgon por um sôro Flexner polivalente, concluindo: "O bacilo Saïgon, pois, um tipo sorológico de *Sh. paradysenteriae*, compreendendo na sua estrutura um antígeno comum ao tipo Y (Hiss-Russel), quer se considere a independência deste tipo, quer seja considerado como fase de grupo de *Shigella flexner*. Entretanto, a sua constituição antigênica parece-nos bem mais complexa, exigindo um estudo sorológico apurado que prossegue no momento de escrevermos êste trabalho."

WEIL e colab. (1948), fazendo uma revisão sôbre as 2 amostras acima citadas e incluindo uma nova amostra, também isolada no Rio de Janeiro por Assis, de um caso de disenteria aguda, sugerem que êsses germes sejam considerados como *Shigella* tendo encontrado um antígeno "major" diferente de qualquer outro presente no comum dos bacilos disentéricos, e antígenos secundários, semelhantes aos encontrados na fase b da *Sh. paradysenteriae* tipo Boyd 103. Por último, sugeriram a denominação de *Sh. rio* para essa nova espécie.

Tivemos oportunidade, em 1944, de isolar um bacilo deste tipo. Nessa ocasião, verificamos que as suas propriedades bioquímicas e constituição antigênica se enquadravam nas características descritas por Denier e Huet. O quadro clínico era o de disenteria bacilar típica e as fezes do doente tinham muito muco e sangue. O sôro do doente, logo após a cura clínica, foi capaz de aglutinar o germe em questão até a diluição de 1/1.280.

Durante os anos de 1946 e 1947, amostras semelhantes foram sendo isoladas em nosso laboratório, motivo pelo que resolvemos estudá-las com maior cuidado.

Verificamos que todos germes isolados eram aglutinados totalmente por um sôro tipo-específico IV e por um sôro polivalente do grupo Flexner. Concluimos que esse germe deveria ser classificado como uma variante manita-negativa da amostra Boyd 103, ou *Sh. paradysenteriae* IV, uma vez que, segundo Boyd e Wheeler, para diferenciação dos vários tipos de *Sh. paradysenteriae*, devemos dar valor a variações qualitativas. As amostras

por nós isoladas possuíam o antígeno tipo-específico IVa, provavelmente com um antígeno de grupo diferente.

Essa conclusão não concorda com as verificações de WELL e colab. (1948) descrevendo um antígeno "major" diferente de qualquer outro presente no comum dos bacilos disentéricos, motivo pelo qual retornamos ao assunto.

Contrariando o que até hoje foi verificado, tivemos oportunidade de isolar de 2 casos uma amostra desse tipo que, em repiques sucessivos, adquiriu a propriedade de fermentar a manita, propriedade esta que se estabilizou, não nos sendo possível obter uma variante manita-negativa numa série de transplantes que fizemos para esse carboidrato.

Tivemos também a oportunidade de isolar de um caso típico de disenteria bacilar um bacilo paradisentérico tipo IV. Examinando, novamente, as fezes desse doente, uma semana e um ano depois da moléstia, isolamos um bacilo com as características do bacilo de Denier e Huet, o que nos leva a crer que se trate do mesmo germe com propriedades bioquímicas alteradas.

Verificamos um fato já observado por Monteiro e Pacheco, qual seja o da utilização tardia da xilose pelos germes desse grupo, o que não é comum ao grupo paradisentérico. As provas bioquímicas, a nosso ver, se mostravam contraditórias e insuficientes para o estudo do grupo, sendo necessário, portanto, se proceder à análise de sua constituição antigênica.

Preparamos 4 soros, a partir de amostras desse tipo, que haviam sido isoladas em nosso laboratório, e um 5.º com uma amostra *rio* II, que nos foi enviada por Arlindo de Assis.

Nessa ocasião, já tínhamos isolado 8 amostras manita-negativa e possuíamos 2 amostras *rio* (II e III). As provas de aglutinação direta com os 4 soros foram positivas para todas as amostras em títulos iguais ou próximos ao título do soro. Os soros absorvidos por qualquer das amostras usadas para as provas da aglutinação direta perdiam as suas aglutininas e, raramente, obtínhamos reações positivas além da diluição de 1/40. Assim sendo o grupo é antigênicamente uniforme, restando verificar as suas relações com o grupo *Sh. paradysenteriae*.

Tomamos, novamente, os 5 soros por nós preparados e verificamos aglutinação direta com os tipos *Sh. paradysenteriae* e I a VI e amostras X e Y.

No quadro 5 estão expressos os resultados que obtivemos.

QUADRO 5

Amostras <i>Sh. paradysente- riae</i>	Soro D 131	Soro D 121	Soro D 166	Soro D 689	Soro Rio II
	título 1/6400	título 1/12800	título 1/6400	título 1/3200	título 1/12800
I	1/640	1/1280	1/2560	1/1280	1/640
II	1/1280	1/640	1/2560	1/320	1/2560
III	1/640	1/1280	1/640	1/1280	5/10240
IVa	1/5120	1/5120	1/5120	1/5120	1/10260
V	1/1280	1/2560	1/5120	1/2560	1/640
VI	1/10	1/640	1/40	1/320	1/320
X	1/5120	1/2560	1/640	1/1280	1/5120
Y	1/5120	1/5120	1/5120	1/5120	1/10240

Logo de início, verificamos que todos os soros aglutinaram, de modo mais uniforme, os tipos paradisentéricos IV e Y, sendo variáveis os resultados com os outros tipos.

Absorvemos cada um dos soros com o tipo IVa e obtivemos os seguintes resultados :

QUADRO 6

	Sêro D 131 absorvido IVa	Sêro D 121 absorvido IVa	Sêro D 166 absorvido IVa	Sêro D 689 absorvido IVa	Sêro Rio II absorvido IVa
I	0	1/320	1/160	1/40	0
II	1/40	1/80	1/320	1/40	1/20
III	1/40	1/320	1/320	1/40	1/1280
IVa-b	0-1/320	0-1/320	0-1/320	0-1/320	0-1/320
V	1/320	1/320	1/320	1/320	1/320
VI	0	0	0	0	0
X	0	1/160	1/80	1/80	0
Y	1/320	1/320	1/320	1/320	0

Por essas provas de absorção, pensamos que as variações relativas ao comportamento antigênico das nossas amostras correspondem mais a variações no antígeno de grupo que a variações no antígeno tipo-específico, pois qualquer delas foi capaz de remover todos os anticorpos do sêro correspondentes ao tipo IVa, deixando ainda aglutininas para o tipo IVb, que, como já foi dito, é uma variante do tipo IVa.

Insistimos absorvendo êsse mesmo sêro, desta vez com IVb e Y, achando-se os resultados no quadro seguinte :

QUADRO 7

	Sêro D 131 absorvido IVa depois IVb e Y	Sêro D 121 absorvido IVa depois IVb e Y	Sêro D 166 absorvido IVa depois IVb e Y	Sêro D 689 absorvido IVa depois IVb e Y	Sêro Rio II absorvido IVa depois IVb e Y
I	0	0	0	0	0
II	0	0	0	0	0
III	0	0	0	0	1/640
IVa-b	0	0	0	0	0
V	1/20	0	0	1/80	1/160
VI	0	0	0	0	0
X	0	0	0	0	0
Y	0	0	0	0	0

As frações aglutinantes restantes puderam ser removidas do soro por absorção com os tipos III e V, o que demonstra que êsses germes são variantes manita-negativa do tipo IV da *Sh. paradysenterix*, algumas vêzes com antígenos de grupo diferentes do tipo IV clássico, mas comuns ao grupo paradisentérico.

Portanto, não vemos razão para criar um novo tipo de *Shigella* e preferimos classificá-los como variante manita-negativa da *Sh. paradysenterix* tipo IV.

NELSON (1947), tendo isolado culturas desse tipo, verificou o mesmo: identidade sorológica com a *Sh. paradysenterix* tipo IV. Variações semelhantes do antígeno de grupo também já foram encontradas por VEAZIE (1949) em amostras tipo IV, além das que já anteriormente foram descritas por Boyd.

No fim deste trabalho, daremos a freqüência dos vários tipos de bacilos paradisentéricos isolados nos anos de 1946 a 1950 (1.º semestre). De todos os bacilos disentéricos, o paradisentérico foi o mais comum, sendo interessante verificar que, excluído o tipo II (o mais freqüente), tivemos variações grandes na incidência dos vários tipos pelos vários anos.

Ainda no grupo paradisentérico deve ser incluída a mais nova de todas as shigelas, isto é, a *Sh. etousæ*, de HELLER e WILSON (1946), ou *Sh. la-vington*, descrita por LAVINGTON e colab. (1946).

Êste bacilo possui caracteres biomorfológicos idênticos aos do grupo paradisentérico. Não possui antígenos comuns com qualquer outra shigela descrita até hoje, mas suas propriedades bioquímicas se assemelham muito às da *Sh. paradysenterix* tipo XII, o que fez EWVING (1946) propor sua inclusão no grupo paradisentérico. Segundo orientação de Wheeler, êste novo tipo deverá ser *Sh. paradysenterix* tipo XIII. Até hoje, não tivemos notícia desse tipo haver sido isolado no Brasil.

SHIGELLA ALKALESCENS e SHIGELLA TIETÊ

A *Shigella alkalescens*, descrita pela 1.ª vez por ANDREWES (1918), pertence ao grupo dos bacilos disentéricos manita-xilose-indol-positivos. Andrewes, em sua descrição original, não lhe atribuiu importância patogênica para o homem, pelo fato de ser fraco produtor de anticorpos e não ser patogênico para o coelho.

Tal opinião perdurou por muitos anos, chegando mesmo alguns autores, como GILBERT e COLEMAN (1934), a acreditar que o bacilo *alkalescens* fosse um germe banal, aparecendo freqüentemente nos doentes com infecção eberthiana, aconselhando, nestes casos, a pesquisar, com mais cuidado, a presença do bacilo tífico.

BROWN e ANDERSON (1936) não conseguiram evidenciar nenhuma relação entre o bacilo *alkalescens* e o bacilo tífico. Em 28 casos de doentes com afecções intestinais, foi possível isolar êsse germe das fezes em 28,6%, ao passo que, de 129 indivíduos normais, só em 1,4% foi encontrado.

NABARRO e EDWARD (1939), fazendo uma revisão sobre o assunto, concluíram que o germe pode provocar disenterias agudas ou colites crônicas no homem, achando que os portadores assintomáticos são mais freqüentes

do que os encontrados para outros tipos de shigelas ; daí, talvez, a maior frequência da invasão secundária das vias urinárias e sangüíneas, por êsse germe. Entre nós, Assis (1939) foi o primeiro a atribuir-lhe papel patogênico, mostrando sua importância em patologia humana.

NETER (1942), na sua revisão sobre o gênero *Shigella*, admite que fatos positivos nos levam a crer que a *Sh. alkalescens* pode ocasionar formas graves ou ligeiras de enterites e constata, no sangue de doentes com bacilo *alkalescens* nas fezes, a presença de anticorpos específicos. Hoje em dia, não há mais dúvidas sobre o papel patogênico desempenhado pelo bacilo *alkalescens* e devemos ressaltar que muito se deve a Arlindo de Assis, no que respeita à elucidação desse problema.

Estabelecido esse ponto, passemos às propriedades bioquímicas diferenciais e à constituição antigênica do grupo. Dava-se muita importância, como caráter diferencial, à alcalinização do leite-tornassol e acidificação da dulcita e xilose, para diferenciação com o grupo Flexner.

ASSIS (1939) é de opinião que a glicerina a 5% é a única substância de valor diferencial entre a *Sh. alkalescens* e *Sh. flexneri*. Em trabalho posterior (1947), admite a possibilidade de existirem variantes acidificadoras da lactose, verificação já anteriormente feita por NABARRO e EDWARD (1939), tornando, portanto, difícil, muitas vezes, a identificação bioquímica do germe, aceitando esse autor ser de maior valor, para a identificação, o estudo sorológico da amostra.

O estudo da constituição antigênica foi iniciado por ANDREWES (1918) que, em sua descrição, se refere à sua pouca aglutinabilidade frente a soros específicos, notando ainda a existência de aglutininas comuns com bactérias do grupo Flexner ; WELCH e MICKLE (1934) relatam a presença, no soro *alkalescens*, de aglutininas para vários outros bacilos disentericos, chegando a conclusões semelhantes NETER e RAPPOLE (1938).

NETER (1938), estudando a constituição antigênica da *Sh. alkalescens*, conclui que existem pelo menos 2 antígenos : um característico da espécie e outro comum ao grupo paradisenterico. Assis (1939a), de modo geral, confirma as verificações de Neter quanto à individualidade sorológica da espécie e suas relações com os paradisentericos, mas mostrou que, dentro da espécie, pelo menos existem 2 sub-grupos sorológicos, denominados por êle de *alkalescens* tipo I e tipo II. STUART e colab. (1943), verificando 141 culturas típicas de *Sh. alkalescens* que correspondem ao tipo I de Assis, puderam individualizar 4 frações antigênicas do *B. alkalescens*, denominadas por êles de A, B, C e D, sendo que a fração A representa o antígeno tipo-específico da espécie *alkalescens* e as frações B, C e D são encontradas também em bacilos coliformes, do grupo *paracoli* e do grupo paradisenterico. Quanto ao tipo II de Assis, não encontraram nenhum antígeno em comum com o tipo I.

NETER (1944), estudando 2 amostras bioquimicamente semelhantes ao *B. alkalescens*, uma delas por êle isolada e outra recebida de W. H. Ewing com a denominação de amostra 2.193, foi de opinião que se deveria dividir a *Sh. alkalescens* em 4 tipos sorológicos : os 2 primeiros seriam os tipos descritos por Assis, o 3.º corresponde à amostra 2.193 e o 4.º, a uma amostra descrita por êle. Segundo Neter, cada um desses tipos possui um antígeno

específico que o caracteriza, podendo ainda ter antígenos secundários comuns a outras bactérias, principalmente para o grupo Flexner.

A existência de 4 tipos sorológicos de bacilos *alkalescens* tem sido motivo de controvérsias. Não há dúvida quanto às verificações de STUART e colab. (1943) com relação ao tipo I; o tipo II de Assis não é aceito como tipo válido de *Shigella*, por alguns autores, consoante se lê em publicação recente de EWING (1949). O tipo III, como se verifica pelo trabalho de Assis (1947), também ainda não foi bem definido e, finalmente, o tipo IV é representado até hoje por uma única amostra.

Em nosso laboratório, é bastante freqüente o isolamento de germes com características biomorfológicas de shigelas que, numa verificação su-

QUADRO 8

	Lactose	Dulcita	Sorbita	Leite tornassol		Lactose	Dulcita	Sorbita	Leite tornassol		Lactose	Dulcita	Sorbita	Leite tornassol		Lactose	Dulcita	Sorbita	Leite tornassol
1	—	+	+	Al	27	—	+	+	Al	53	—	+	+	Al	79	—	—	—	Al
2	—	—	+	Al	28	—	+	+	Al	54	—	+	+	Al	80	—	—	+	Al
3	—	+	+	Al	29	—	+	+	Al	55	—	+	+	Al	81	—	—	—	Al
4	—	+	+	Al	30	—	+	—	Al	56	+	+	+	Ac	82	—	—	—	Al
5	—	+	+	Al	31	—	+	+	Al	57	+	—	+	Ac	83	—	—	—	Al
6	—	+	+	Al	32	—	—	—	Al	58	+	+	+	Ac	84	—	—	—	Al
7	—	+	+	Al	33	—	+	+	Al	59	+	—	+	Ac	85	—	—	—	Al
8	—	+	+	Al	34	—	+	+	Al	60	+	+	+	Ac	86	+	—	—	Ac
9	—	+	+	Al	35	—	+	+	Al	61	+	—	+	Ac	87	+	—	—	Ac
10	—	+	+	Al	36	—	+	+	Al	62	+	—	—	Ac	88	+	—	—	Ac
11	—	—	+	Al	37	—	+	+	Al	63	+	—	+	Ac	89	+	—	—	Ac
12	—	+	+	Al	38	—	+	+	Al	64	+	—	+	Ac	90	+	—	—	Ac
13	—	—	—	Al	39	—	+	+	Al	65	+	+	+	Ac	91	+	—	—	Ac
14	—	—	—	Al	40	—	—	+	Al	66	+	—	+	Ac	92	+	—	—	Ac
15	—	+	+	Al	41	—	+	+	Al	67	—	+	—	Al	93	+	—	—	Ac
16	—	—	—	Al	42	—	—	+	Al	68	—	—	—	Al	94	+	—	—	Ac
17	—	+	+	Al	43	—	+	—	Al	69	—	—	—	Al	95	+	—	—	Ac
18	—	—	+	Al	44	—	+	—	Al	70	—	+	+	Al	96	+	—	+	Ac
19	—	+	+	Al	45	—	+	+	Al	71	—	—	—	Al	97	+	—	—	Ac
20	—	+	—	Al	46	—	+	—	Al	72	—	—	—	Al	98	+	+	—	Ac
21	—	+	—	Al	47	—	—	+	Al	73	—	—	—	Al	99	+	—	—	Ac
22	—	+	+	Al	48	—	+	+	Al	74	—	—	—	Al	100	+	—	—	Ac
23	—	—	+	Al	49	—	+	+	Al	75	—	—	—	Al	101	—	—	+	Al
24	—	+	+	Al	50	—	+	+	Al	76	—	—	—	Al	102	—	—	+	Al
25	—	+	+	Al	51	—	+	—	Al	77	—	—	—	Al					
26	—	+	+	Al	52	—	—	—	Al	78	—	—	—	Al					

mária de suas propriedades, se enquadram dentro do grupo *alkalescens*. Conseguimos reunir 102 amostras, aí incluindo as que nos foram enviadas por Arlindo de Assis, que nos serviram para as verificações que passamos a relatar.

Inicialmente, procedemos à verificação das propriedades bioquímicas de tôdas, utilizando os seguintes carboidratos: dextrose, lactose, sacarose, manita, maltose, xilose, dulcita, glicerina, sorbita e salicina em meio semi-sólido Hiss, com indicador de fenol vermelho, sendo a concentração do carboidrato de 1%, com exceção da glicerina, que usamos a 5%, conforme recomendação Assis (1939). Incubação de 20 dias, em estufa a 37.°C. Verificamos ainda a produção de indol (em água peptonada), hidrogênio sulfurado (papel acetato de chumbo), utilização do citrato (meio de Koser), capacidade de desdobrar uréia (meio de Stuart), ação sôbre o leite tornassolado, produção de acetilmetilcarbinol (Clark-Lubs) e verificação da motilidade em caldo comum, em sementeira de 24 horas à temperatura ambiente.

No quadro 8 estão tabelados os resultados obtidos.

No quadro, só foram anotados os carboidratos que apresentaram fermentação diversa para as várias amostras.

Tôdas as culturas acidificaram dextrose, manita, maltose, xilose e glicerina; não agiram sôbre a sacarose e a salicina, não utilizaram citrato, não desdobraram uréia, não produziram acetilmetilcarbinol e hidrogênio sulfurado; produziram indol e eram imóveis. Sendo estas propriedades comuns às shigelas, pensamos poder considerar tôdas as amostras como pertencentes ao gênero.

Analisando o quadro, verificamos que muitas das nossas amostras acidificaram a lactose e o leite tornassol, sendo também variável a ação dos germes sôbre a dulcita e a sorbita. No entanto, como já foi referido anteriormente, aceita-se, hoje em dia, que a *Sh. alkalescens* pode apresentar variantes acidificadoras da lactose, o que nos levou a completar a identificação por meio de provas de aglutinação, para depois comparar os resultados.

Preparamos 4 soros aglutinantes correspondendo aos 4 tipos sorológicos descritos por Neter; as amostras para o preparo dos soros nos foram fornecidas por Arlindo de Assis e tinham os números 53-648-2.193-9.734; as duas primeiras, isoladas por êle e as duas últimas, recebidas de E. Neter como sendo *Sh. alkalescens* tipo III e IV (Amostra 25, 74, 101 e 102).

O modo de preparação dos soros foi idêntico ao já descrito em capítulos anteriores. As provas de aglutinação foram feitas em estufa, a 37.°C, com incubação de 18 horas; a emulsão de germes usada como antígeno foi autoclavada por 1 hora, em vapor fluente. Esse método foi o que deu melhor resultado, em trabalho por nós realizado anteriormente (1942).

A diluição do sôro foi de 1/100 a 1/6.400.

No quadro seguinte, estão os resultados obtidos.

QUADRO 9

Amostra	Sôro 53	Sôro 648	Sôro 2193	Sôro 9731	Amostra	Sôro 53	Sôro 648	Sôro 2193	Sôro 9731	Amostra	Sôro 53	Sôro 648	Sôro 2193	Sôro 9731	Amostra	Sôro 53	Sôro 648	Sôro 2193	Sôro 9731
1	6400	0	0	0	27	6400	0	0	0	53	6400	0	0	0	79	0	6400	1600	0
2	6400	0	0	0	28	6400	0	0	0	54	6400	0	0	0	80	0	6400	1600	0
3	6400	100	0	0	29	6400	0	0	0	55	6400	0	0	0	81	0	6400	1600	0
4	6400	0	0	0	30	6400	0	0	0	56	6400	0	0	0	82	0	6400	3200	0
5	6400	0	0	0	31	6400	0	0	0	57	6400	0	0	0	83	0	6400	1600	0
6	6400	200	0	0	32	6400	0	0	0	58	6400	0	0	0	84	0	6400	1600	0
7	6400	0	0	0	33	6400	0	0	0	59	6400	0	0	0	85	0	6400	1600	0
8	6400	0	0	0	34	6400	0	0	0	60	6400	0	0	0	86	0	6400	1600	0
9	6400	0	0	0	35	6400	0	0	0	61	6400	0	0	0	87	0	6400	3200	0
10	6400	0	0	0	36	6400	0	0	0	62	6400	0	0	0	88	0	6400	1600	0
11	6400	0	0	0	37	6400	0	0	0	63	6400	0	0	0	89	0	6400	3200	0
12	6400	0	0	0	38	6400	0	0	0	64	6400	0	0	0	90	0	6400	1600	0
13	6400	100	0	0	39	6400	0	0	0	65	6400	0	0	0	91	0	6400	1600	0
14	6400	0	0	0	40	6400	0	0	0	66	6400	0	0	0	92	0	6400	1600	0
15	6400	0	0	0	41	6400	0	0	0	67	0	6400	1600	0	93	0	6400	1600	0
16	6400	0	0	0	42	6400	0	0	0	68	0	6400	1600	0	94	0	6400	1600	0
17	6400	0	0	0	43	6400	0	0	0	69	0	6400	3200	0	95	0	6400	1600	0
18	6400	0	0	0	44	6400	0	0	0	70	0	6400	1600	0	96	0	6400	1600	0
19	6400	0	0	0	45	6400	0	0	0	71	0	6400	1600	0	97	0	6400	1600	0
20	6400	0	0	0	46	6400	0	0	0	72	0	6400	1600	0	98	0	6400	1600	0
21	6400	0	0	0	47	6400	0	0	0	73	0	6400	1600	0	99	0	6400	1600	0
22	6400	0	0	0	48	6400	0	0	0	74	0	6400	1600	0	100	0	6400	1600	0
23	6400	0	0	0	49	6400	0	0	0	75	0	6400	1600	0	101	0	3200	6400	0
24	6400	0	0	0	50	6400	0	0	0	76	0	6400	3200	0	102	0	0	0	6400
25	6400	0	0	0	51	6400	100	0	0	77	0	6400	6400	0					
26	6400	0	0	0	52	6400	100	0	0	78	0	6400	3200	0					

Pelo quadro, verifica-se que o sôro 53 aglutinou a maioria das amostras. Os soros 648 e 2.193 aglutinaram as mesmas amostras, se bem que em títulos diferentes, o que faz suspeitar não serem idênticos. O sôro 9.731 só aglutinou a amostra que serviu para a sua preparação.

Tomamos 20 amostras pertencentes ao grupo 53, 10 lactose-positivas e 10 lactose-negativas; procedemos a absorções desse sôro com cada uma das 20 amostras e, depois, testamos, novamente, frente a tôdas elas.

Verificamos que, apesar da ação variável sobre a lactose, tôdas as amostras testadas removeram as aglutininas do sôro para si e para as outras. Tôdas as absorções feitas neste sôro também removeram as aglutininas para a amostra que serviu para seu preparo, o que demonstra serem tôdas elas antigênicamente idênticas.

Nos quadros 10 e 11 estão os resultados das absorções feitas nos soros 468 e 2.193, com as amostras que foram aglutinadas por êles.

QUADRO 10

SÔRO 648

Absorvido com

Amostras	67	68	69	70	71	72	73	74	75	76	77	80	82	101	84	86	88	90	94	97
67	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	400	0	0	3200	0	0	0	0	0	0
68	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	200	0	0	3200	0	0	0	0	0	0
69	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	800	0	0	3200	0	0	0	0	0	0
70	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1600	0	0	3200	0	0	0	0	0	0
71	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	200	0	0	3200	0	0	0	0	0	0
72	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	400	0	0	3200	0	0	0	0	0	0
73	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	400	0	0	3200	0	0	0	0	0	0
74	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100	0	0	3200	0	0	0	0	0	0
75	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100	0	0	3200	0	0	0	0	0	0
76	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100	0	0	3200	0	0	0	0	0	0
77	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	400	0	0	0	0	0	0
80	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100	0	0	3200	0	0	0	0	0	0
82	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100	0	0	3200	0	0	0	0	0	0
101	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
84	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	200	0	0	3200	0	0	0	0	0	0
86	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	400	0	0	3200	0	0	0	0	0	0
88	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100	0	0	3200	0	0	0	0	0	0
90	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	400	0	0	3200	0	0	0	0	0	0
94	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	200	0	0	3200	0	0	0	0	0	0
97	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	200	0	0	3200	0	0	0	0	0	0

As absorções feitas com os soros 648 e 2.193 confirmaram a diferença já evidenciada pela aglutinação direta. As duas amostras possuem antígenos comuns, mas os antígenos principais são diferentes. Entre as amostras por nós estudadas, encontramos uma, de n.º 77, que parece constituir um tipo intermediário entre os grupos 648 e 2.193. Remove grande parte das aglutininas de ambos os soros, sem, entretanto, ser capaz de esgotar qualquer dos soros.

Comparando propriedades bioquímicas e sorológicas desses germes, verificamos que parece não ser acertado afastar, do grupo *alkalescens*, germes acidificadores da lactose, uma vez que são sorologicamente idênticos. Por outro lado, não existe um carboidrato de valor diferencial absoluto entre os grupos sorológicos. De todos utilizados por nós, foi a dulcita o que mostrou um comportamento mais constante e a maioria das amostras correspondentes ao grupo sorológico 53 acidificaram-na, ao passo que as do grupo 648 deixaram de fazê-lo.

QUADRO 11

SÔRO 2193

Absorvido com

Amostras	67	68	69	70	71	72	73	74	75	76	77	80	82	101	84	86	88	90	94	97
67	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
68	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
69	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
70	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
71	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
72	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
73	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
74	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
75	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
76	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
77	320	320	640	160	320	320	640	320	640	640	0	640	320	0	640	320	640	320	320	320
80	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
82	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
101	5120	5120	5120	5120	5120	5120	5120	5120	5120	5120	640	5120	5120	0	5120	5120	5120	5120	5120	5120
84	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
86	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
88	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
90	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
94	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
97	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Estas verificações, na parte referente à acidificação da lactose, estão de acôrdo com as anteriores de NABARRO e EDWARD (1939) e, principalmente, com as de ASSIS (1947).

Assim sendo, pudemos constatar a existência dos 2 tipos sorológicos de *Sh. alkalescens*, já descritos por Assis. Não encontramos, entre os germes por nós estudados, nenhum pertencente aos tipos III e IV.

Diante dessas propriedades bioquímicas variáveis e da regularidade no comportamento sorológico, acreditamos que o estudo do grupo *alkalescens* deva ser feito prevalecendo os caracteres antigênicos sôbre os biomorfológicos. Portanto o grupo sorológico I (sôro 53) representa o verdadeiro bacilo *alkalescens* e sua constituição antigênica, do que pudemos verificar, deve ser a que é descrita por STUART e colab. (1943).

O grupo sorológico II merece uma referência especial. Assis (1939), na descrição original, descreve um bacilo disenterico do grupo *alkalescens* acidificador da salicina, antigênicamente distinto do *B. alkalescens* clássico.

O fato de êsse germe acidificar a salicina e de ser constituído por uma só amostra fêz com que não fosse reconhecido como um bacilo disentérico e sim como possível coliforme. Ainda recentemente, EWING (1949) diz, textualmente, o seguinte: "It suffices to state that the so called *S. alkalescens* II is not a *Shigella alkalescens* type, nor, in fact, any *Shigella* type but is a member of the *Escherichia* group" (Ewing unpublished data; Kauffmann and Frantzen, personal communication).

Êsse ponto de vista parece-nos não concordar com os fatos. Em nosso laboratório, é freqüente o isolamento de germes identificáveis ao de Assis 648, com tôdas as características de *Shigella*. Já o isolamos de vários casos de disenteria bacilar aguda típica, tanto de adultos como de crianças e de casos de enterocolites crônicas.

As nossas amostras diferem das de Assis unicamente pela incapacidade de acidificar a salicina. Aliás, trabalhando com a amostra 648 e usando meio semi-sólido de Hiss, também não verificamos a acidificação da salicina.

Como já foi visto, apresentamos verificações feitas em 20 amostras isoladas por nós e que correspondem ao tipo II de Assis. Além dessas, já foram isoladas outras e sua freqüência, em S. Paulo, pode ser avaliada quando analisamos a incidência dos vários tipos de bacilos disentéricos, na parte final dêste trabalho.

Procuramos também estabelecer relações antigênicas entre êsse germe e outras shigelas; o componente antigênico comum entre as amostras 648 e tipo 2.193 já foi analisado. Não pudemos encontrar relações maiores com qualquer outro tipo de *Shigella*.

Assim sendo, estamos perfeitamente de acôrdo com ASSIS (1947a), que diz "... por enquanto, não existe ainda uma opinião geral bem aceita sôbre o que se deva chamar 'grupo alkalescens', o caminho mais lógico é individualizar o novo tipo por meio de uma denominação específica, baseada exclusivamente na sua constituição antigênica *major* e sem depender de possíveis divergências nos caracteres fermentativos das respectivas amostras individuais".

Em face dos fatos apresentados, achamos que essa bactéria deve ser considerada como um tipo de *Shigella*, sendo justa a denominação *Sh. tietê*, proposta por Assis.

WEIL e SLAFKOVSKY (1948) reconhecem também a *Sh. tietê* como um tipo válido de *Shigella*, encontrado, por enquanto, na Turquia e em localidades do Brasil, como se pode verificar pelo trabalho de Assis, anteriormente citado, assim como pelo relato de seu isolamento, em Belém do Pará, por VERNIN (1948).

Recentemente, CARPENTER e STUART (1950) são de opinião que *Sh. tietê* deve ser um tipo de *Sh. dispar* e que, para o futuro, se for reconhecida como tipo de *Sh. dispar*, tenha a denominação de *Proshigella tietê*.

Quanto ao grupo III e IV, nada fizemos além do que já foi referido; com relação ao grupo III, ASSIS (1947) mostra as vicissitudes por que tem passado êsse germe para ser incluído entre os bacilos disentéricos. Achamos que deva ser incluído no grupo da *Sh. tietê*, uma vez que possui antígenos

de grupo comuns e também pelo fato de existirem outros tipos nesse grupo, como nos faz suspeitar a nossa amostra 77.

Terminando, em nosso laboratório usamos somente as denominações de *Sh. alkalescens* para aqueles germes pertencentes ao tipo 53 e os correspondentes ao tipo 648 são classificados como *Sh. tieté*, tipo autônomo de *Shigella*, parecendo-nos serem os únicos germes desses tipos existentes entre nós.

SHIGELLA SONNEI

A primeira descrição do bacilo de Sonne como possível agente de disenteria bacilar foi feita por DUVAL (1904).

Sua ação patogênica foi confirmada, mais tarde, principalmente pelos trabalhos de Sonne, na Dinamarca (vide MONTEIRO FILHO, 1947); daí a razão de o bacilo trazer seu nome.

É *Shigella* do grupo acidificador da manita, capaz de desdobrar a lactose em geral em alguns dias. Os caracteres bioquímicos mais importantes para distingui-la de outras shigelas são: acidificação tardia da lactose, não agir sobre a xilose e não produzir indol de água peptonada.

Além das provas utilizadas para identificação bioquímica, é hoje de emprêgo corrente a identificação sorológica que, para estas bactérias, apresenta certas características interessantes.

O suposto dimorfismo que ocorreria com o bacilo de Sonne foi verificado desde muito tempo. Pensou-se que seria uma variação S-R que ocorreria com essa bactéria; entretanto, GLYNN e STARKEY (1939) mostraram a existência de pelo menos 2 tipos sorológicos independentes da variação S-R. O soro tipo I só teria ação sobre as colônias do tipo I, agindo fracamente sobre culturas do tipo II. O soro do tipo II aglutina culturas do tipo I e II. Encontraram ambos os tipos em placas de isolamento, sendo, entretanto, mais freqüente o tipo I.

WHEELER e MICKLE (1945), retomando o assunto, interpretaram esse tipo de variação antigênica de maneira diferente. Para eles, existem 3 tipos de colônias: I e II, que ocorrem naturalmente, e R, em culturas velhas. As duas primeiras seriam os dois tipos característicos de espécie; entretanto, as culturas em fase I tendem a progredir para fase II e perder suas características de fase I.

A variação da fase I para fase II aparece rapidamente e ambas podem ser isoladas do intestino, havendo também aglutininas anti-fase II no sangue de doentes portadores de bacilo *sonnei*, o que fala contra a variação S-R. Sorologicamente, as fases I e II são independentes, não havendo aglutinação cruzada entre os 2 tipos, concluindo que essa variação se enquadra mais no tipo de variação difásica, descrita por BOYD (1938) com relação à *Shigella paradysenteriae*.

Chamam ainda a atenção para a ação impediante de certos meios no aparecimento de colônias em fase II (desoxicolato-citrato e ágar S. S.). Por outro lado, colônias em fase I e fase II, ou até mesmo unicamente em fase II, podem aparecer nas placas de meios menos seletivos.

Conservamos em nosso laboratório culturas de *Sh. sonnei* que eram muito bem aglutinadas por um soro *sonnei* fase I. Depois de algum tempo, deixaram de ser aglutinadas por êsse soro, passando a aglutinar com soro *sonnei* fase II. Estas culturas não apresentavam qualquer característica de variação S-R e essa mudança se apresentou com caráter irreversível, mesmo após várias passagens em camundongo.

É interessante observar que essa variação de fase nem sempre ocorre. Tivemos uma cultura de *Sh. sonnei* em fase I que conservou suas características por mais de 2 anos. Em outras amostras, a mudança foi rápida, passando, às vêzes, por uma fase intermediária, sendo aglutinadas por soros fase I e II. Não nos foi possível verificar diferenças entre colônias em fase I e fase II e, somente uma vez, isolamos um bacilo *sonnei* em fase II, de um caso de disenteria bacilar.

Diante dessa possibilidade, é necessário que os soros para diagnóstico possuam aglutininas para as duas fases. WHEELER e MICKLE (1945), examinando 7 soros diagnósticos, só encontraram um no qual os dois tipos de aglutininas estavam presentes.

A preparação de soros em fase I não apresenta dificuldade; em geral, são fáceis de serem obtidos e não têm aglutininas secundárias para outras shigelas. O soro mixto, ou fase II puro, é quase sempre de difícil preparo, dada a afinidade entre *Sh. sonnei* fase II e *Sh. paradysenterix* tipo XI. De 4 soros que preparamos só um conservou título aglutinante satisfatório para uso diagnóstico, depois de absorvido pela *Sh. paradysenterix* tipo XI.

Depois do grupo paradisentérico, a *Sh. sonnei* ocupa o 2.º lugar, como agente etiológico da disenteria bacilar. O quadro clínico pode variar desde enterite branda até a forma grave, muito tóxica. Entre nós, o seu achado é, aparentemente, menos comum do que ocorre nos outros países, segundo PACHECO e RODRIGUES (1928, 1930), PACHECO e MENDONÇA (1930) e RANGEL PESTANA e FARACO (1942). Temos a impressão de que êsse fato é devido à indentificação incompleta do germe, sendo confundido com o grupo paradisentérico. Os nossos achados mostram que o bacilo *sonnei* é comum entre nós, ocupando o 2.º lugar em nossa estatística.

SHIGELLA DISPAR

ANDREWES (1918) denominou *Shigella dispar* o germe isolado das fezes com caracteres semelhantes aos do grupo disentérico, capazes de acidificar a lactose num período de 24 horas a 24 dias. Admitiu a possibilidade de não ser uma espécie homogênea, podendo ser constituída por diferentes tipos.

CASTELLANI (1907, 1911) já tinha observado o mesmo, descrevendo, detalhadamente, germes disenterígenos, idênticos à *Shigella dispar* de Andrewes. Chamou-os de *Eberthella ceylonensis* A, *Eberthella ceylonensis* B e *Eberthella madampensis*, designações essas adotadas em parte pelo Manual de Bergey, edição de 1948.

Para CASTELLANI (1937), êsses germes são responsáveis por formas agudas de disenterias ou por colites crônicas de difícil tratamento, que se instalam com ou sem acidente disentérico inicial.

A importância desses germes como agentes de síndromes disentéricas ainda não está bem estabelecida, pelo fato de serem isolados com relativa frequência das fezes de indivíduos normais, exceção feita do bacilo *ceylo-nensis* A, que, mais tarde, foi identificado como sendo idêntico à *Sh. sonnei*.

Em trabalho anterior (1942), verificando uma série de amostras rotuladas como *Sh. dispar*, não fomos capazes de encontrar uma prova bioquímica que permitisse separar os 2 tipos descritos por Castellani; daí, preferirmos provas sorológicas para estudo desse grupo. Concluímos que a *Sh. dispar* seria constituída de pelo menos 2 tipos sorológicos, um deles muito semelhante à *Sh. alkalescens*.

CARPENTER (1943), estudando a estrutura antigênica da *Sh. dispar*, conclui que existem pelo menos 3 tipos sorológicos.

CARPENTER (1944) completou suas verificações achando que existem pelo menos 4 tipos sorológicos, não havendo provas bioquímicas capazes de separar tipos. Daí ser injustificada a divisão de *Sh. dispar* em *Sh. ceylo-nensis* e *Sh. madampensis*.

Atualmente, dos 4 tipos sorológicos descritos por Carpenter, a maioria é insubsistente. Assim, o tipo IV foi verificado como sendo idêntico à *Sh. sonnei* em fase II (WHEELER e MICKLE, 1945). O tipo II seria semelhante à *Sh. alkalescens* tipo III (COX e WALLACE, 1948). O tipo III, como foi encontrado uma só vez, dentro de centenas de amostras, não deve ser considerado como tipo sorológico (CARPENTER e STUART, 1950), restando, portanto, ser considerado como *Sh. dispar* o tipo I.

ASSIS (1948) descreveu um tipo novo de *Shigella*, *Sh. guanabara*, isolada de casos de disenteria aguda ou sub-aguda, no Rio de Janeiro (14 em crianças e 1 em adulto).

Esse germe possui caracteres bioquímicos semelhantes aos de *Sh. dispar* e, de um modo geral, pelas suas características biomorfológicas, se enquadra dentro do gênero *Shigella* (exceção feita da produção de hidrogênio sulfurado e acidificação da salicina). Sorologicamente, não possui antígenos relacionados com nenhum tipo de *Shigella* até hoje descrito.

As amostras classificadas como *Sh. dispar* que constam desta verificação foram as que aglutinaram somente como soro *dispar* tipo I. Não encontramos nenhuma amostra que correspondesse ao tipo *guanabara*, que, a nosso ver, deve, por enquanto, ser incluído no grupo *dispar*.

GRUPO NÃO ACIDIFICADOR DA MANITA

A acidificação ou não da manita é das provas mais usadas em laboratório para diferenciação dos bacilos disentéricos. Dentre os germes que não acidificam esse carboidrato, está colocado o bacilo de Shiga, que é a espécie tipo do gênero e o primeiro a ser descrito como agente da disenteria bacilar do homem.

Até bem pouco tempo, o grupo manita-negativa era constituído por 2 espécies: *Sh. dysenteriae* (bacilo de Shiga) e *Sh. ambigua* (bacilo de Schmitz), ambas reconhecidas como patogênicas para o homem.

Recentemente, SACHS (1943) descreveu uma série de bacilos que, segundo ele, devem ser considerados como pertencentes ao gênero *Shigella*;

são patogênicos para o homem, pertencem ao grupo não acidificador da manita, são sorolôgicamente heterogêneos e não têm aglutininas em comum com as duas espécies acima citadas. Segundo Sachs, alguns desses germes já tinham sido descritos, anteriormente, por Large e Sankaran.

Assim sendo, o grupo formado pelas shigelas não acidificadoras da manita ficou constituído pelos bacilos de Shiga, de Schmitz e pelo grupo conhecido como de Large-Sachs, a que se aduziram, posteriormente, tipos novos descritos por outros autores.

Shigella dysenteriae (bacilo de Shiga) — Como já foi dito, o bacilo de Shiga foi o primeiro bacilo disenterico descrito. Foi encontrado pela primeira vez por Shiga (1898), no Japão, que o isolou de casos de disenteria aguda. Mais tarde, verificações de Kruse, em 1900, confirmaram os trabalhos de Shiga, ficando o germe como espécie tipo do gênero, sendo o único bacilo disenterico capaz de produzir exotoxina de ação neuro-enterotóxica.

Esse tipo se caracteriza pela acidificação da dextrose, com incapacidade de agir sobre outros carboidratos. Assis (1930a) assinalou a capacidade do bacilo de Shiga de acidificar a lactose, fato este confirmado, recentemente, por WHEELER e STUART (1946), que verificaram o mesmo, principalmente com culturas conservadas em coleção por muitos anos.

A espécie *Sh. dysenteriae* é sorolôgicamente homogênea, possuindo aglutininas em comum para as outras shigelas em quantidade muito pequena, tendo sido relatadas aglutinações cruzadas com a *Sh. ambigua* (In TOPLEY e WILSON, 1946) e *Sh. alkalescens* (WHEELER e STUART, 1946).

A preparação dos soros aglutinantes para uso dianóstico não apresenta dificuldade. Bons soros são obtidos facilmente, devendo-se levar em conta que o germe é muito tóxico para os coelhos, motivo pelo qual se deve tatear a sensibilidade do animal ao se preparar o soro. É germe freqüentemente encontrado no Oriente e, raramente, nos outros países. Entre nós, existe certo desacôrdo quanto à freqüência desse germe. MENDONÇA (1931) dá uma incidência de 21%; ARAGÃO e LEITE RIBEIRO (1945), em crianças, de 13,8%; RANGEL PESTANA e FARACO (1942), em 1.356 exames positivos para bacilos disentericos, o encontraram em 8,2% dos casos. Nas nossas verificações, a incidência desse germe está muito abaixo de qualquer uma das acima citadas, sendo a freqüência por nós encontrada relatada na 2.ª parte deste trabalho.

Shigella ambigua (bacila de Schmitz) — Isolado pela primeira vez por Schmitz, na Rumânia, é bacilo muito semelhante ao bacilo de Shiga, dêle se diferenciando pela capacidade de acidificar a ramnose e de produzir indol de água peptonada. CARVALHO LIMA e QUEIROZ TELLES (1940) assinalam a capacidade desse germe de produzir hidrogênio sulfurado, conforme a peptona usada no meio. Sorolôgicamente, é homogêneo, tendo BOYD (1935) descrito a existência de 2 antígenos: tipo-específico e de grupo. Não resta, hoje em dia, a menor dúvida quanto à ação patogênica desse germe para a espécie humana e êle tem sido encontrado em várias partes do mundo. Em São Paulo, RANGEL PESTANA e FARACO (1942), em 1.356 exames positivos o encontraram 53 vezes; no Rio de Janeiro, ARAGÃO e LEITE RIBEIRO (1945), em 65 exames, encontraram 4 vezes e MENDONÇA (1931), em 1,8% dos casos.

GRUPO LARGE-SACHS — Todos que estão familiarizados com a bacteriologia intestinal frequentemente encontram germes com características biomorfológicas do gênero *Shigella*, incapazes de acidificar a manita, mas que não são aglutinados pelos soros diagnósticos Shiga ou Schmitz.

SACHS (1943), realizando estudo sistemático de todos bacilos manita-negativa isolados das fezes de indivíduos com perturbações gastrintestinais, chegou à conclusão de que, dentro deste grupo, existem pelo menos 8 tipos sorológicos, além dos clássicos bacilos Shiga e Schmitz. Alguns dos germes estudados por esse autor já tinham sido estudados, anteriormente, por Large; daí, o grupo ser conhecido como de Large-Sachs.

CRISTENSEN e GOWEN (1944) trabalhando no norte da África, e GOBER e colab. (1944), nos Estados Unidos, descrevem novos tipos de bacilos disentéricos, pertencentes ao grupo manita-negativa. MAC LENNAN (1945), revendo grande número de germes desse grupo, encontrou, além dos tipos de Sachs, outro tipo novo. WAHEELER e STUART (1946), fazendo a revisão nesse grupo, concluem que os tipos Large-Sachs Q771, Q1.167, Q454, Q1.030, Q902 possuem propriedades biomorfológicas que permitem sua inclusão no gênero *Shigella*; o tipo Sachs Q771 é idêntico à *Sh. arabinotarda* A de Cristensen e Gowen e à *Shigella sp.* G8.524; concluem ainda que o tipo Q1.167 é idêntico à *Sh. arabinotarda* B de Cristensen e Gowen. Os tipos Sachs I e B 105 não se incluem no gênero por serem móveis, produzirem gás, utilizarem radical citrato como fonte de carbono. O tipo A 12, produzindo gás somente na glicose, deve ser excluído do gênero, a não ser que sejam demonstradas as suas relações com tipos sorológicos já existentes, ou que se evidencie a existência de variantes anaerogênicas. Por sua vez, descrevem um novo tipo manita-negativa, indol-positivo, *Shigella sp.* 1.831.

Repetimos o trabalho de Wheeler e Stuart em nosso Laboratório com amostras que nos foram enviadas pelo primeiro e chegamos a conclusões idênticas.

Já, anteriormente, tínhamos verificado (1948b) que as provas bioquímicas para separação de tipos neste grupo, em geral, são insatisfatórias. Resultados rápidos e seguros foram obtidos com soros tipo-específicos, por meio de aglutinação em lâmina, para identificação dos vários tipos de shigelas do grupo manita-negativa.

É desnecessário encarecer a importância de usarmos os métodos de identificação sorológica sempre que tivermos de proceder à identificação de bacilos disentéricos do grupo manita-negativa. Como já assinalamos (1948b), reclassificando amostras rotuladas como bacilo de Shiga, somente 25% realmente eram *Sh. dysenteriae*, ao passo que as restantes foram classificadas como *Shigella* Sachs Q771. Igualmente, RANGEL PESTANA e QUEIROZ TELLES (1947), realizando um estudo com amostras de shigelas manita-negativa, só puderam separar o bacilo Shiga do tipo Q771, por meio de provas sorológicas. Tivemos também a oportunidade de verificar o mesmo em nosso laboratório, constatando, ao mesmo tempo, que o achado do bacilo Sachs Q771 coincidia com perturbações gastrintestinais, variando de enterite leve até forma aguda de disenteria bacilar.

Além do tipo Sachs Q771, isolamos, de 3 casos de disenteria bacilar típica, um germe que, pelos seus caracteres bioquímicos e sorológicos, foi identificado como sendo *Shigella* Sachs Q454. Dois desses pacientes resi-

diam na mesma localidade, sendo que de um nos foi dado acompanhar a evolução da moléstia. Apresentou todos os sintomas de disenteria bacilar aguda, com quadro muito tóxico, apesar de ser adulto muito bem constituído, tendo todos os sintomas regredido, rapidamente, com tratamento pela sulfaguanidina.

Num terceiro paciente, obtivemos sangue para provas de aglutinação, que foram positivas até a diluição de 1/160.

Três amostras, que nos foram enviadas pelo Serviço Especial de Saúde de Araraquara, também foram identificadas como sendo *Shigella* Sachs Q454.

Verificamos que, em São Paulo, além dos clássicos bacilos de Shiga e de Schmitz, existem pelo menos 2 tipos de *Shigella* Sachs, sendo, portanto, indispensável proceder, como rotina, à identificação sorológica de toda shigela manita-negativa.

Insistimos na identificação sorológica do grupo manita-negativa, ainda por razões de ordem terapêutica. De todas as formas de disenteria bacilar, a única que ainda é, até hoje, algumas vezes tratada pela soroterapia específica é a causada pelo bacilo de Shiga. Sabendo-se que esse germe pode se confundir com outros bacilos disentéricos do grupo manita-negativa, a administração do sôro, além de inútil, pode ser prejudicial. Além do mais, o conceito de maior toxicidade do bacilo de Shiga precisa ser revisto, uma vez que a confusão com os tipos Sachs Q771, Q454 e Q1.030 invalidam a maioria das conclusões sobre maior patogenicidade do bacilo Shiga.

Em nosso laboratório, admitimos como tipos de shigelas não fermentadoras da manita as seguintes:

Sh. dysenteriae

Sh. ambigua

Sh. Sachs Q771

Sh. Sachs Q1.167

Sh. Sachs Q454

Sh. Sachs Q902

Sh. Sachs Q1.030

O tipo *Shigella* sp. 1.831, assim como o descrito por Mac Lennan, não foi incluído porque ainda não houve confirmação de seu achado em outros lugares.

2.^a PARTE

MATERIAL DE ESTUDO

O material com que trabalhamos pode ser dividido em 3 grupos : 1.º) fezes de crianças de 0 a 3 anos com perturbações intestinais ; 2.º) fezes que nos foram enviadas para pesquisa de germes patogênicos e 3.º) fezes de doentes com diagnóstico clínico de enterocolopatia crônica.

Todos os exames foram realizados na secção de Coprocultura do Instituto Adolpho Lutz (laboratório de Saúde Pública do Estado).

1.º GRUPO :

Foi nossa finalidade, ao estudar êsse grupo, não só analisar a incidência das shigeloses na primeira infância, como também comparar métodos e verificar a freqüência das shigeloses em crianças.

Cada exame era dividido em 3 partes, a saber :

- 1.º) Colheita direta no reto, por meio de bastão ; semeadura imediata em uma placa de ágar S. S. e uma placa de ágar eosina-azul de metileno.
- 2.º) Semeadura de fezes logo depois de emitidas, em solução salina glicerinada tamponada e assim transportadas para o laboratório.
- 3.º) Fezes transportadas "in natura" para o laboratório e passadas para placas, num tempo variável de 4 a 6 horas após a emissão.

Para cada material semeado, usamos 1 placa de ágar S. S. e 1 placa de ágar eosina-azul de metileno ; o isolamento e a identificação obedeceram ao critério descrito na parte de métodos.

Usando êsses processos, além de verificar incidência das shigeloses em crianças, pudemos coligir dados que nos são importantes :

- 1.º) Comparar o valor do exame, pelo bastão, com relação a fezes emitidas naturalmente.
- 2.º) Verificar se o transporte de fezes "in natura" prejudica o exame, desde que a semeadura seja feita num máximo de 6 horas após emissão.
- 3.º) Comparar o valor dos meios de cultura usados por nós.

Nesses 307 exames, conseguimos evidenciar a presença de bacilos disentericos em 28, o que nos dá uma porcentagem de 9,1% de exames positivos, assim distribuídos por espécie encontrada :

Shigella sonnei : 12
Shigella paradysenterix : 9
Shigella alkalescens : 6
Shigella ambigua : 1

Apesar de a pesquisa ter sido feita usando técnicas tão variadas, encontramos incidência baixa de bacilos disentericos. Trabalhos anteriores feitos no Brasil mostram maior freqüência da disenteria bacilar em crianças portadoras de afecções intestinais. ARAGÃO e LEITE RIBEIRO (1945), no Rio de Janeiro, em 265 casos suspeitos, puderam identificar o bacilo disenté-

rico como causa etiológica da doença entérica, em 32,82%. Em trabalho anterior (1945), em 200 casos de diarreias infantís, obtivemos porcentagem de 16,5% de casos positivos para bacilos disentéricos. FARIA e PACHECO (1923), em 20 crianças com perturbações intestinais, de 15 isolaram germes do grupo disentérico.

Essa porcentagem, relativamente baixa, de enterites por *Shigella* deve ser devida ao fato de têmos examinado fezes de crianças com qualquer perturbação entérica, mesmo quando, já de antemão, podíamos afastar, quase com certeza, a etiologia bacteriana, fato êste que nos permite considerar que nossa verificação mostra alta incidência da moléstia na primeira infância.

COLHEITA DIRETA : Usamos o processo preconizado por HARDY e WATT (1944), que consiste em se introduzir, no anus da criança, uma cânula de borracha, com a ponta em bisel, lubrificada em vaselina e passar, pelo orifício da cânula, um estilete metálico com a ponta envolvida em algodão; imprimir movimentos ao estilete de modo a fazer ligeira massagem na mucosa retal; retirar o bastão e passar a ponta engastada em algodão nas placas para isolamento.

As placas devem ser aproveitadas em tôda a superfície, evitando-se passar o estilete 2 vêzes pelo mesmo lugar, para que se obtenham colônias bem isoladas, semeando primeiro a placa de ágar S. S.

Os dados comparativos foram os seguintes :

Culturas positivas : colheita direta	75%
Culturas positivas : das fezes	57%

o que mostra uma grande superioridade para o método de colheita direta.

TRANSPORTE DE FEZES "IN NATURA" E EM SOLUÇÃO SALINA GLICERINADA TAMPONADA :

Dada a natureza de nosso laboratório, recebemos sempre fezes transportadas "in natura", o que é desaconselhado pela maioria dos autores. O exame é, em geral, iniciado numa média de 6 horas após a colheita, motivo pelo qual procuramos verificar se êsse lapso de tempo seria muito prejudicial. Comparamos as semeaduras feitas da glicerina tamponada (sol. glicerina 30%), onde as fezes eram colocadas, logo após serem emitidas, e as semeaduras das fezes transportadas para o laboratório e, aí, semeadas 4 a 6 horas após emissão.

Os resultados foram os seguintes :

fezes transportadas em glicerina 57% positivas
fezes transportadas "in natura" 57% positivos

o que mostra, dentro dêste período de tempo, não haver vantagem de um ou outro método.

VALOR DOS MEIOS DE CULTURA USADOS :

Comparamos exclusivamente os meios de ágar S. S. e eosina-azul de metileno de Holt-Harris-Teague.

Como era de esperar, o primeiro apresentou grande vantagem sobre o segundo. Obtivemos 89,3% de casos positivos do meio ágar S. S. e somente 57,1% do meio H. H. T.

Como é sabido, o meio de ágar S. S. possui substâncias bacteriostáticas que impedem o desenvolvimento da *Sh. alkalescens*. Na nossa verificação, por 2 vêzes, a *Sh. alkalescens* só foi isolada do meio H. H. T. dos 6 casos positivos para essa bactéria. Quanto às outras shigelas, só uma vez isolamos um bacilo *sonnei* do H. H. T. sem ter sido evidenciada sua presença no meio ágar S. S.

Sabemos que o número de casos por nós estudados, principalmente os positivos, é pequeno para que possamos tirar conclusões mais precisas. Nossos resultados levam-nos a acreditar que a colheita direta é muito superior ao exame de fezes emitidas naturalmente, apresentando ainda a grande vantagem de, dada sua simplicidade, poder ser realizada a qualquer momento.

Quanto à escolha de meios, sempre é necessário usarmos 2 tipos diferentes, o que justificamos na parte referente aos métodos.

Por último, a título de curiosidade, vamos transcrever os dados que nos foram fornecidos pelo Hospital da Cruz Vermelha de Indianópolis sobre a mortalidade no grupo portador da enterite bacilar :

De 28, faleceram 5 $\left\{ \begin{array}{l} \textit{Sh. paradysenteriae} \text{ 1} \\ \textit{Sh. sonnei} \text{ 2} \\ \textit{Sh. alkalescens} \text{ 2} \end{array} \right.$

sendo interessante notar que a mortalidade mais elevada foi no grupo *Sh. alkalescens*, considerando que o germe estava presente num número muito menor de casos.

2.º GRUPO :

O 2.º grupo analisado compreende exames realizados na secção de coprocultura do Instituto Adolpho Lutz, de 1946 até o 1.º semestre de 1950, para eventual diagnóstico de moléstia entérica de etiologia bacteriana.

O material não se prestava muito para avaliar, com exatidão, a freqüência da disenteria bacilar entre nós, porquanto grande número de exames feitos não tinha a menor suspeita de moléstia microbiana. A maioria das fezes examinadas não apresentava nenhuma das características comuns das fezes de doentes de disenteria bacilar (muco e sangue), sendo, em geral, fezes moldadas. No entretanto, dado o número razoável de exames que foram feitos, pensamos que os resultados são interessantes para avaliar a freqüência dos vários tipos de bacilos disentéricos, num período de 4 anos e meio para um total de 5.211 exames.

Infelizmente, dada a natureza de nosso serviço, dificilmente conseguimos obter dados referentes aos pacientes, de modo a poder relacionar o caso clínico ao exame de laboratório.

Examinamos fezes de indivíduos residentes na cidade de São Paulo e arrabaldes. O material para exame foi-nos enviado sem sabermos o tempo que mediou entre a emissão das fezes e o início do exame. Nunca recebemos fezes já semeadas em líquido conservador. A técnica que empregamos está descrita, detalhadamente, na parte referente aos métodos.

No quadro estão tabelados os resultados.

QUADRO 12

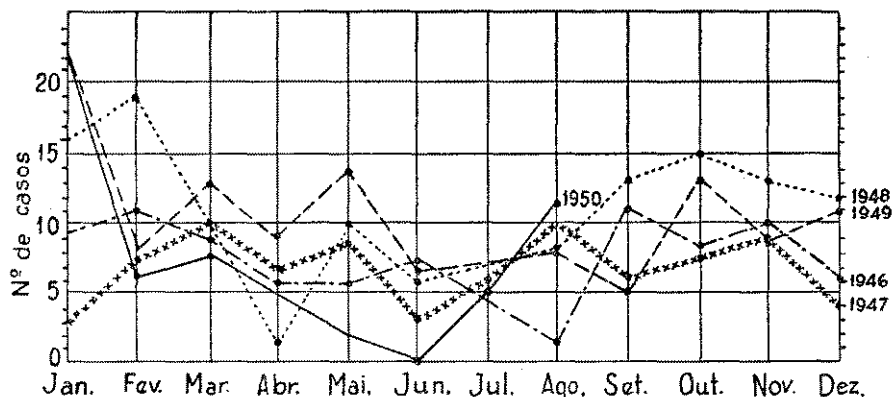
		1946		1947		1948		1949		1950		Total	
		Pos.	Neg.	Pos.	Neg.	Pos.	Neg.	Pos.	Neg.	Pos.	Neg.	Pos.	Neg.
<i>Sh. paradysenteriae</i>	Tipo I	5		0		4		2		5		16	
	Tipo II	9		20		29		28		11		97	
	Tipo III	3		2		3		15		7		30	
	Tipo IV	4		5		6		8		5		28	
	Tipo V	5		2		2		2		0		11	
	Tipo VI	2		0		4		12		2		20	
	Tipo VII	0		0		0		4		0		4	
	Tipo VIII	1		1		0		0		0		2	
<i>Sh. paradysenteriae</i> *		18*		0		0		0		0		18	
<i>Sh. alkalescens</i>		12		12		29		11		9		73	
<i>Sh. tieté</i>		5		3		18		15		9		50	
<i>Sh. sonnei</i>		9		30		30		19		12		100	
<i>Sh. dispar</i>		2		4		0		2		8		21	
<i>Sh. dysenteriae</i>		4		1		1		0		0		6	
<i>Sh. ambigua</i>		4		2		3		4		1		14	
<i>Sh. sp. Sachs Q771</i>		0		3		0		0		0		3	
<i>Sh. sp. Sachs Q454</i>		0		0		0		1		3		4	
Total		83	1040	85	935	129	1324	128	968	72	447	497	4714
Total de exames													5211

* 18 amostras de *Sh. paradysenteriae* que não foram tipadas.

O exame do quadro fornece dados interessantes : verificamos que foi encontrada a maioria dos tipos de bacilos disentericos até agora descritos, inclusive alguns dos bacilos tipo Sachs. Como era de se prever, o maior número de casos positivos pertence ao grupo da *Sh. paradysenteriae* e, a seguir, ao da *Sh. sonnei* ; o bacilo de Shiga foi raramente encontrado.

Dentro do grupo paradysentérico, com exceção do tipo II, verificamos flutuações de ano para ano, notadamente nos tipos III e VI.

No quadro seguinte colocamos em gráfico a incidência por meses nos vários anos.



3.º GRUPO

O 3.º grupo refere-se a doentes internados no Hospital das Clínicas da Universidade de São Paulo, com diagnóstico de moléstia intestinal crônica. Ainda hoje se discute se, em certas afecções intestinais crônicas com exame positivo para bacilos disenterícos, o germe é o agente etiológico da afecção intestinal, ou se o doente é unicamente portador de germes, como é o caso do bacilo tífico. Na 3.ª edição da obra "Topley and Wilson's Principles of Bacteriology and Immunity", revista por WILSON e MILES (1946), encontramos a afirmativa da existência de portadores sãos de bacilos disenterícos, admitindo eles também a existência de enterocolopatias crônicas, causadas por bacilos disenterícos. WATT, HARDY e DECAPIPO (1942) acham que, nas regiões onde a moléstia é endêmica, o número de portadores sãos pode ser relativamente alto, tendo os autores encontrado a cifra de 3,8%.

FELSEN (1945) não concorda com a existência de portadores sãos; para ele, todo portador de bacilos disenterícos é um doente e a ausência de sintomatologia clínica não é de valor absoluto, porquanto êsses indivíduos quase sempre apresentam hiperplasia dos nódulos linfáticos intestinais, inflamação ou ulceração da mucosa intestinal. Sômente em alguns casos, em que o germe isolado foi a *Sh. alkalescens*, não encontrou lesões intestinais.

ASSIS (1937), em 163 pacientes portadores de retite crônica, isolou, de 38 dêles, bacilos do grupo Flexner. Chama a atenção para a alta porcentagem de exames positivos e para a melhora dêsses pacientes, com tratamento pela autovacina.

Praticamos exames de fezes seriados em 100 doentes internados no Serviço de Gastrenterologia do Hospital das Clínicas da Universidade de São Paulo, sempre um mínimo de três, com intervalos de uma semana, em fezes emitidas normalmente, fezes purgadas e, quando possível, por colheita direta no reto, realizada segundo a técnica de FELSEN (1945) (42 vezes).

Em 23 doentes, pudemos evidenciar a presença de bacilos disenterícos nas fezes. Agrupamos, num quadro, todos os casos positivos, juntamente com os exames que foram realizados.

QUADRO 14

Nome	Diagnóstico Clínico	N.º ex.	Frequência do aparecimento do germe	Col. retal	Agglutinação sangue doente	Germe isolado
1) C.S.	Enterocolite fermentativa.	6	3.º-4.º-6.º	+	0	<i>Sh. alkalescens</i>
2) F.V.	Enterocolite fermentativa.	7	7.º	+	1/320	<i>Sh. flexner</i>
3) H.C.	Enterocolite fermentativa.	6	2.º-4.º	—	1/320	<i>Sh. flexner</i>
4) A.P.	Enterocolite fermentativa.	11	1.º Flexner 9.º-10.º-11.º- <i>Alkales.</i>	—	Flexner 1/40 <i>Alkales.</i> 1/80	<i>Sh. flexner</i> <i>Sh. alkalescens</i>
5) A.F.	Enterocolite fermentativa.	6	4.º	—	0	<i>Sh. dispar</i>
6) J.M.	Enterocolite fermentativa.	9	1.º-4.º	—	0	<i>Sh. alkalescens</i>
7) A.J.S.	Enterocolite fermentativa.	4	3.º	não	0	<i>Sh. alkalescens</i>
8) A.M.	Enterocolite fermentativa.	7	4.º	—	1/160	<i>Sh. flexner</i>
9) A.A.	Enterocolite psicogénica ..	9	3.º-4.º-5.º-6.º-7.º	—	1/160	<i>Sh. alkalescens</i>
10) T.M.	Enterocolite psicogénica ..	16	5.º-12.º 8.º	—	<i>Sh. alkal.</i> 1/640 <i>Sh. sonnei</i> não foi feito	<i>Sh. alkalescens</i> <i>Sh. sonnei</i>
11) T.S.	Enterocolite psicogénica ..	3	1.º-3.º	não	Não foi feito	<i>Sh. alkalescens</i>
12) S.B.	Enterocolite psicogénica ..	6	1.º-3.º-4.º	—	1/160	<i>Sh. dispar</i>
13) L.P.	Enterocolite psicogénica ..	4	1.º	não	Não foi feito	<i>Sh. dispar</i>
14) S.S.	Enterocolite psicogénica ..	6	3.º	não	Não foi feito	<i>Sh. sonnei</i>
15) E.R.	Enterocolite simples.....	3	1.º-2.º	não	Não foi feito	<i>Sh. flexner</i>
16) J.N.	Enterocolite simples.....	15	1.º-2.º-3.º-9.º-10.º 15.º	—	1/640	<i>Sh. flexner</i>
17) A.Z.	Enterocolite simples.....	5	3.º	não	0	<i>Sh. dispar</i>
18) A.A.S.	Schistozomose	7	6.º	+	Não foi feito	<i>Sh. flexner</i>
19) J.G.	Enterocolite alérgica	3	2.º-3.º	não	Não foi feito	<i>Sh. alkalescens</i>
20) R.F.	Enterocolite alérgica	3	2.º-3.º	não	Não foi feito	<i>Sh. alkalescens</i>
21) E.R.S.	Enterocolite alérgica	6	2.º-3.º-4.º-5.º-6.º	+	1/80	<i>Sh. dispar</i>
22) A.R.B.	PoliPOSE intestinal	5	10.º	não	Não foi feito	<i>Sh. alkalescens</i>
23) E. J.	Enterocolite carencial	6	1.º-2.º	—	Não foi feito	<i>Sh. sonnei</i>

Analisando o quadro, verificamos que, por 2 vèzes, foram encontrados 2 tipos diferentes de bacilos disentéricos no mesmo paciente; em 60 dos casos, o achado do mesmo bacilo se repetiu por mais de uma vez, havendo períodos em que não era possível o isolamento do germe. Êsse fato foi muito característico com um paciente em que foram realizados 15 exames, sendo os 3 primeiros positivos, depois, uma série negativa, para tornar-se positivo, novamente, na 9.ª cultura; dêste paciente, nas 6 vèzes que foi isolado um bacilo disentérico, sempre foi do mesmo tipo (*Sh. paradysenterix* tipo II). A colheita direta no reto não trouxe vantagem. Sòmente em 2 casos o germe foi isolado do material colhido do reto, sem antes ter sido isolado das fezes.

Dos casos em que foi possível pesquisar aglutininas no sangue, encontramos, em alguns títulos, sangüíneos bastante significativos, principalmente quando o germe encontrado nas fezes pertencia ao grupo paradisentérico.

Diante desses resultados, mostrando porcentagem alta de bacilos disentéricos nas fezes de doentes com enterocolopatas crônicas e aglutininas no sangue, acreditamos que um bacilo disentérico pode ser responsável por moléstia intestinal crônica. Também não podemos excluir a hipótese de existirem portadores, seja em casos de doença intestinal ou de portadores sãos, como já nos foi dado observar num caso sem sintomatologia intestinal, no qual isolamos, por período de um ano, sempre o mesmo germe (*Sh. paradysenteriae* tipo IV). Essa verificação mostra a importância que esses doentes podem ter, como disseminadores da moléstia.

Desta pesquisa, achamos importante assinalar que um único exame não basta para avaliar a freqüência dos bacilos disentéricos em indivíduos com doença intestinal crônica; nossa experiência mostra que são necessários pelo menos 3 culturas seguidas, realizadas com intervalos de uma semana.

MEIOS DE CULTURA EMPREGADOS

GLICERINA-CLORETO DE SÓDIO TAMPANADA

Glicerina	300 cm ³
Cloreto de sódio	6,0 g
Fosfato dipotássico (anidro)	3,1 g
Fosfato monopotássico	1,0 g
Água destilada	700 cc
pH. 7,6.....	

(Connecticut Bureau of Laboratories)

HOLT, HARRIS E TEAGUE (ISOLAMENTO DE GERMES INTESTINAIS)

Extrato de carne	5,0 g
Peptona	10,0 g
Cloreto de sódio	5,0 g
Ágar	15,0 g
Água destilada	1000,0 cm ³
Sol. lactose-sacarose, esteril (10% de lactose e 10% de sacarose)	50,0 cm ³
Sol. de eosina amarela a 3%, esteril	13,3 cm ³
Sol. de azul de metileno a 0,5% esteril	20,0 cm ³

Dissolver o extrato, a peptona e o cloteto de sódio na água, aquecendo. Ajustar ao pH 7,4. Autoclavar, a 121.°C, 30 minutos. Filtrar em algodão. Completar o volume de 1.000 cm³. Distribuir 750cm³ em balões de um litro. Esterilizar a 120°C, 30 minutos. No momento de usar, fundir a base e ajuntar, para cada balão de 750cm³ de base: 37,5cm³ da solução lactose-sacarose, 10cm³ da sol. de eosina e 15cm³ da sol. de azul de metileno. (A solução de lactose-sacarose deve ser esterilizada por filtração e as soluções dos corantes, pelo aquecimento a vapor corrente, 20 minutos). Agitar e distribuir em placas.

J. Infect. Diseases 1916, **18** : 596.

S. S. AGAR

Extrato de carne Difco	5,0 g
Proteose peptona	5,0 g
Lactose	10,0 g
Sal biliar (n.º 3) Difco	8,5 g
Citrato de sódio	8,5 g
Tiosulfato de sódio	8,5 g
Citrato férrico	1,0 g
Ágar	17,0 g
Solução verde brilhante 0,5%	0,066 cm ³
Vermelho neutro	0,025 cm ³
Água destilada	1000,0 cc

- 1.º) Junte todos os ingredientes, menos os corantes e o citrato férrico a 250 cc de água fria.
- 2.º) Dissolva o citrato férrico e o vermelho neutro em pequena quantidade de água. Aqueça, se for necessário.
- 3.º) Aqueça 750cc de água destilada até fervura e junte a mistura de ágar, com constante agitação.
- 4.º) Aqueça até ferver, por 1 ou 2 minutos.
- 5.º) Junte citrato férrico e corantes. Misture bem.
- 6.º) Ajuste pH a 7,0.
- 7.º) Distribua conforme necessidade.

(Michigan Dept. of Health)

TRÍPLICE AÇÚCAR MODIFICADO

Extrato de carne	3,0 g
Peptona	5,0 g
Lactose	10,0 g
Sacarose	10,0 g
Dextrose	0,7 g
Sulfato ferroso	0,2 g
Cistina	0,15 g
Ágar Bacto	1,4 g
Cloreto de sódio	5,0 g
Indicador Andrade	30,0 cm ³
Água destilada q. s. p.	1000,0 cm ³

PH 7,4.

Preparação : Dissolver o ágar, a peptona e o extrato de carne em 800 cm³ de água, em banho-maria. Dissolver o sulfato ferroso em 50 cm³ de água e a cistina em 2 cm³ de solução normal de ácido clorídrico, a quente. Ajuntar estas 2 soluções, os açúcares e o indicador à solução de ágar. Completar o volume com água destilada.

Ajustar o pH 7,4

(Modificação de E. Rugai — não publicada).

HISS-MEIO SEMI-SÓLIDO COM CARBOIDRATO E INDICADOR

Extrato de carne	1,0 g
Peptona	10,0 g
Gelatina	40,0 g
Cloreto de sódio	2,0 g
Gelose	8,0 g
Água destilada	1000,0 cm ³
Sol. fenol vermelho 0,2%	10,0 g
Carboidrato	10,0 g

Dissover o extrato de carne em 200 cm³ de água. Esterilizar a 121.°C, 20 minutos. Esfriar, semear com *B. coli* e incubar 24 horas, a 37.°C. Aquecer 10 minutos em autoclave, a 120.°C, para esterilizar. Ajuntar o resto da água e os outros ingredientes, menos o indicador e o carboidrato. Fundir em autoclave a 120.°C, 20 minutos. Ajustar o pH 7,4 com carbonato de sódio normal. Precipitar a 123.°C, 10 minutos. Filtrar em algodão. Completar o volume de 1.000 cm³. Ajuntar o indicador. Distribuir em balões. Esterilizar a vapor 121.°C, 30 minutos. No momento de usar, fundir e ajuntar o carboidrato sob a forma de solução a 20%, esterilizada por filtração.

MEIO STUART

Fosfato monopotássico	3,64 g
Fosfato dissódico	3,80 g
Uréia	8,00 g
Ext. de levedo	0,04 g
Fenol vermelho 0,02%	20,000 cm ³
Água	380,00 cm ³

Dissolver todos os elementos na água, menos o indicador. Ajustar o pH 6,8. Ajuntar o indicador e esterilizar por filtração. Distribuir assepticamente 2 cm³ ± em tubos 12x120.

J. Bacteriology 1945, 49 : 437.

SIMMONS — ÁGAR CITRADO DE SÓDIO (PARA DIFERENÇAR GERMES DE GRUPO COLI-AERÓGENES)

Água destilada	1000,0 cm ³
Ágar	20,0 g
Cloreto de sódio	5,0 g
Sulfato de magnésio (cristalizado)	0,2 g
Fosfato de amônio	1,0 g
Fosfato de dipotássico	1,0 g
Citrato de sodium anidrol	1,0 g
Azul de bromotimol em sol. alcoólica a 1,5%	10,0 g

Dissolver todos os sais na água. Ajuntar o ágar. Fundir a 120.°C, 20 minutos. Filtrar em algodão. Ajustar ao pH 6, 8. Ajuntar o bromo-

timol. Distribuir em tubos de 16x160. Esterilizar a 120.°C, 20 minutos.

J. Infect. Diseases 1926, 39 : 209.

DUNHAM — ÁGUA POPTONADA (PES. DE INDOL)

Cloreto de sódio	2,5 g
Peptona P. Davis	10,0 g
Água destilada	1000,0 g

Dissolver a peptona na água, aquecendo. Ajustar ao pH 7, 6. Dar fervura e juntar o cloreto de sódio e filtrar em papel. Distribuir em tubos de 16x160. Esterilizar a 121.°C, 12 minutos.

J. Infect. Diseases 1905, 11 : 309.

REATIVO DE EHRLICH

Paradimetil-amino-benzoaldeído	4,0 g
Alcool etílico a 96.°	380 cc
Ácido clorídrico concentrado	80 cc

Cultivar o germe em água peptonada, por 24 horas. Estratificar o reativo sobre o caldo de cultura. Se a reação for positiva, há formação de um anel vermelho-violeta.

CLARK E LUBS

Peptona Difco.....	10,0 g
Dextrose	10,0 g
Fosfato de potássio bibásico	2,0 g
Água destilada	1000,0 cm ³

Dissolver os ingredientes na água. Dosar ao pH 7, 5. Filtrar. Distribuir em tubos de 16x160. Esterilizar a vapor corrente durante 30 minutos.

CLARK E LUBS (PESQUISA DO ACETILMETILCARBINOL)

Reação de Voges-Proskauer (pesquisa acetilmetilcarbinol)

A 1 cm³ da cultura de 5 dias no meio de Clark-Lubs, junte:

Solução alcoólica de alfa naftol a 5%	0,6 cm ³
Hidróxido de potássio (sol. 40%).....	0,2 cm ³

Agitar. A reação é positiva quando aparece uma coloração rósea, 2 a 5 minutos após agitação.

RESUMO

Depois de breve revisão sobre a literatura brasileira referente às shigeloses, o autor descreve os métodos e o material que usou na execução deste trabalho.

Usou, como meios de cultura para isolamento de bacilos disentéricos, o ágar S. S. e o ágar de Holt, Harris e Teague. Na identificação das bactérias isoladas, empregou provas bioquímicas usuais e, em seguida, aglutinação com soros polivalentes e, quando necessário, soros monovalentes. O método de obtenção desses soros assim como a técnica da aglutinação foram descritas detalhadamente.

Não pretendendo discutir questões de sistemática bacteriana, divide os bacilos disentéricos em 3 grupos.

- 1.º grupo : manita + lactose — { *Sh. paradysenterix*
Sh. alkalescens
Sh. tietê
- 2.º grupo : manita + lactose — { *Sh. sonnei*
Sh. dispar
- 3.º grupo : manita — lactose + { *Sh. dysenterix*
Sh. ambigua
Sh. sp. grupo Large-Sachs

Estudando cada grupo isoladamente, adota o critério de J. S. K. Boyd modificado por K. M. Wheeler para diferenciação dos vários tipos do grupo paradisentérico. Neste grupo, não conseguiu encontrar diferenças antigênicas entre *Sh. paradysenterix* tipo IV e com o tipo descrito como *Sh. saigon* e, posteriormente, como *Sh. rio*, a não ser em pequenas variações nos componentes antigênicos de grupo.

Adota o critério de Assis, separando a *Sh. tietê* da *Sh. alkalescens*, aceitando a existência, neste grupo, de variantes acidificadoras da lactose.

Estuda o grupo manita-negativa, aceitando, em parte, como bacilos disentéricos, os tipos descritos por Large e Sachs.

O material estudado pode ser dividido em 3 grupos : 1.º) Pesquisa de bacilos disentéricos em 307 crianças, comparando o método do bastão retal com o da sementeira das fezes. Os resultados foram os seguintes :

	Culturas positivas
Bastão retal.....	75%
Cultura de fezes	57%

As bactérias isoladas foram as seguintes :

<i>Sh. sonnei</i>	12
<i>Sh. paradysenterix</i>	9
<i>Sh. alkalescens</i>	6
<i>Sh. ambigua</i>	1

Dentre estes, houve 5 casos fatais :

<i>Sh. paradysenterix</i>	1
<i>Sh. sonnei</i>	2
<i>Sh. alkalescens</i>	2

2.º) Estuda os resultados de 5.211 coproculturas realizadas num período de 4 anos em fezes com suspeita ou não de shigelose. O número de exames positivos foi de 497 e as espécies encontradas foram as seguintes :

<i>Sh. paradysenterix</i>	{	tipo I	16
		„ II	97
		„ III	30
		„ IV	28
		„ V	11
		„ VI	20
		„ VII	4
		„ VIII	2
		Não tipadas	18
<i>Sh. alkalescens</i>		73	
<i>Sh. tietê</i>		50	
<i>Sh. sonnei</i>		100	
<i>Sh. dysenterix</i>		6	
<i>Sh. ambigua</i>		14	
<i>Sh. sp.</i> Sachs Q 771		3	
<i>Sh. sp.</i> Sachs Q 454		4	

3.º) Estuda a incidência de bacilos disentéricos nas fezes de 100 doentes portadores de enterolites crônicas. Em 23 doentes, pôde evidenciar a presença de shigelas nas fezes ; as espécies isoladas foram as seguintes :

<i>Sh. paradysenterix</i>	7
<i>Sh. sonnei</i>	3
<i>Sh. alkalescens</i>	8
<i>Sh. dispar</i>	5

sendo que, em 2 casos, havia 2 bacilos disentéricos. O número de exames feitos nestes doentes variou de 2 a 15, com intervalos em geral de 1 semana, sendo interessante notar períodos longos em que o germe não podia ser evidenciado.

SUMMARY

In this paper there are given the results obtained in the bacteriologic diagnosis of organisms of the *Shigella* genera in São Paulo, Brazil, corresponding to the work of more than four years. The methods adopted are described and discussed, underlining the importance at the present state of knowledge regarding the antigenic structure of the organisms under consideration, with details about the methods for the obtention of the diagnostic sera used.

Without discussing details about the classification of the "Shigella", the author gives the 3 following groups :

1rst. group : manitol + lactose —	{	<i>Sh. paradysenterix</i>
		<i>Sh. alkalescens</i>
		<i>Sh. tietê</i>
2nd. group : manitol + lactose —	{	<i>Sh. sonnei</i>
		<i>Sh. dispar</i>
3rd. group : manitol — lactose —	{	<i>Sh. dysenterix</i>
		<i>Sh. ambigua</i>
		<i>Sh. sp. grupo Large-Sachs</i>

In the differentiation of the components of the *paradysenterix* group, the criterion used by J. S. K. Boyd, modified by K. M. Wheeler, is adopted. It has not been possible to find any antigenic difference between the *Sh. paradysenterix* type VI and the new type described as *Sh. rio*.

Like A. Assis, the author believes that *Sh. tietê* must be considered as a new shigella type and admits also the possibility of variants lactose positive in this group.

His personal observations refer to :

1rst.) The use of the swab method compared with the stool culture in 307 children with and without clinical diagnosis of diarrhea.

	Positive cultures
Swab	75%
Stool culture	57%

The positive cultures were :

<i>Sh. sonnei</i>	12
<i>Sh. paradysenterix</i>	9
<i>Sh. alkalescens</i>	6
<i>Sh. ambigua</i>	1

The death rate was :

<i>Sh. paradysenterix</i>	1
<i>Sh. sonnei</i>	2
<i>Sh. alkalescens</i>	2

2nd.) From 5,211 stool cultures made during a period of four years, 497 were positive for *Shigella*. The *Shigella* types encountered were :

<i>Sh. paradysenteriae</i>	{	type I	16
		" II	97
		" III	30
		" IV	28
		" V	11
		" VI	20
		" VII	4
		" VIII	2
		No typed	18
<i>Sh. alkalescens</i>		73	
<i>Sh. tietê</i>		50	
<i>Sh. sonnei</i>		100	
<i>Sh. dysenteriae</i>		6	
<i>Sh. ambigua</i>		14	
<i>Sh. sp.</i> Sachs Q 771		3	
<i>Sh. sp.</i> Sachs Q 454		4	

3rd). One hundred patients with chronical intestinal disease. In 23 the author was able to demonstrate the presence of a shigella organism in the stool :

<i>Sh. paradysenteriae</i>	7
<i>Sh. sonnei</i>	3
<i>Sh. alkalescens</i>	8
<i>Sh. dispar</i>	5

In two instances there was found more than one shigella type. The stool culture was made every week and for the same patient was a minimum of 2 to a maximum of 15. It was interesting that in the same patients the shigella was not found in the stool for long periods.

Desejo agradecer a colaboração do Dr. Mário Mursa, Dr. José Fernandes Pontes e Dr. José Roberto C. Novaes, assim como das auxiliares da Secção de Coprocultura do Instituto Adolpho Lutz D. Maria José Faraco, Ethel Sandoval Peixoto, Orlanda Branco, Renée C. Maugé e da Irmã Eppinghaus, do Hospital da Cruz Vermelha, que tornaram possível a execução dêste trabalho.

BIBLIOGRAFIA

- ALMEIDA, S. S. de, A. de E. TAUNAY, J. R. C. NOVAES e A. P. TRIGO — 1947 — Tipos sorológicos de *Sh. paradysenteriae* encontrados em São Paulo. *Rev. Inst. Adolfo Lutz* 7 : 75-84.
- ALMEIDA, S. S. de, A. de E. TAUNAY, J. R. C. NOVAES e A. P. TRIGO — 1948 — Bacilos disentéricos tipo Boyd 88 — Manchester — isolados em São Paulo. *Hospital* 33 (1) : 1-6.
- ANDO, K. — 1929 — A simple method of obtaining soluble specific substances from various bacteria (*Streptococcus viridans*, *B. dysenteriae* and *B. mallei*). *J. Immunology* 17 : 555-557.
- ANDREWES, F. W. — 1918 — Dysentery bacilli : the differentiation of the true dysentery bacilli from allied species. *Lancet* I : 560-563.
- ANDREWES, F. W. e A. C. INMAN — A study of the serological races of the Flexner group of dysentery bacilli. London, Med. Res. Council, 1919 ; Special Report n.º 42. Citado por J. Felsen in *Bacillary dysentery colitis and enteritis*. Philadelphia, Saunders, 1945.
- AOKI, K. — 1921 — Classification of dysentery bacilli by agglutination. *Tohoku J. Exp. Med.* 2 : 142.
- ARAGÃO, R. M. de e V. R. L. RIBEIRO — 1945 — Estudo sobre as shigeloses em crianças do Rio de Janeiro. *Hospital* 28 (1) : 345-376.
- ASSIS, A. de — 1930 — Observações sobre a fermentação da maltose pelos bacilos disentéricos e paradysentéricos. (Flexner-Hiss). *Bol. Inst. Vital Brasil* 13 : 3-19.
- ASSIS, A. de — 1930 a — Sobre o comportamento do bacillo de Shiga em relação a alguns hydratos de carbono. *Brasil-Medico* 44 : 1353-1357.
- ASSIS, A. de — 1935 — Shigeloses crônicas. *Arch. Bras. Med.* 25 : 133.
- ASSIS, A. de — 1937 — Contribuição ao estudo das infecções crônicas por bacilos disentéricos. *Arq. Higiene* 7 : 9-26.
- ASSIS, A. de — 1939 — Estudos sobre *Shigella alkalescens* Andrewes. I. Comportamento fermentativo. *Hospital* 15 (3) : 447-456.
- ASSIS, A. de — 1939 a — Estudos sobre *Shigella alkalescens* Andrewes. II. Comportamento sorológico. *Hospital* 15 (4) : 655-666.
- ASSIS, A. de — 1947 — A propósito de *Shigella alkalescens* tipo III Neter. *Hospital* 31 (5) : 671-684.
- ASSIS, A. de — 1947 a — *Shigella tietê*, novo tipo sorológico de bacilo disentérico. *Hospital* 32 (5) : 667-671.
- ASSIS, A. de — 1948 — *Shigella guanabara*, tipo sorológico destacado do grupo do *B. ceylonensis-dispar*. *Hospital* 33 (4) : 505-519.
- ASSIS, A. de, A. MONTEIRO FILHO e V. R. L. RIBEIRO — 1946 — Tipos sorológicos de *Shigella paradysenteriae* no Rio de Janeiro. *Hospital* 30 (3) : 367-374.
- ARAGÃO, R. M. de — 1943 — Da ação impediante de certos meios seletivos sobre o crescimento do *B. alkalescens*. *Hospital* 23 : 387-392.
- BANGXANG, E. e C. P. ELIOT — 1940 — An investigation of preserving solutions for the recovery of dysentery bacilli from fecal specimens. *Am. J. Hyg.* 31 (Section B) : 16-30.
- BOIVIN, A. e L. MESROBEANU — In Topley and Wilson's principles of Bacteriology and Immunity. 3. ed. rev. por Wilson and Miles, Baltimore, Williams & Wilkins, 1946 ; p. 693.
- BOJLEN, K. — Dysentery in Denmark. Copenhagen, Bianco Lunos Bogtrykkeri A/S, 1934. Citado por J. Felsen in *Bacillary dysentery Colitis and enteritis*. Philadelphia, Saunders, 1945.

- BORNSTEIN, S., I. SAPHRA e J. B. DANIELS — 1941 — The occurrence of Salmonella antigens in dysentery bacilli. *J. Immunology* 42 : 401-404.
- BOYD, J. S. K. — 1935 — Bacillus dysenteriae, Shmitz, with brief note on certain other non-mannite fermenting bacilli. *J. Roy Army Med. Corps* 64 : 289-299.
- BOYD, J. S. K. — 1938 — The antigenic structure of the mannitol-fermenting group of dysentery bacilli. *J. Hygiene* 33 : 477-499.
- BOYD, J. S. K. — 1940 — The laboratory diagnosis of bacillary dysentery. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.* 33 : 553-571.
- BREED, R. S., E. G. D. MURRAY e A. P. HITCHENS — BERGEY'S manual of determinative Bacteriology. 6. ed., Baltimore, Williams & Wilkins, 1948.
- BROWN, M. H. e E. A. ANDERSON — 1936 — B. Alkalescens (Andrewes) : Its relation to members of the typhoid-dysentery group. *Canad. Pub. Health J.* 27 : 560-562.
- CARPENTER, P. L. — 1943 — Antigenic relationships of the species Shingella dispar. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 53 : 129-130.
- CARPENTER, P. L. — 1944 — Biochemical and serological properties of Shigella dispar. *J. Bacteriology* 47 : 419-420.
- CARPENTER, P. L. e C. A. STUART — 1950 — Relationships of Proshigella to other members of the enterobacteriaceae. *J. Immunology* 64(3) : 237-244.
- CASTELLANI, A. — 1907 — Notes on cases of fever frequently confounded with typhoid and malaria in the tropics. *J. Hygiene* 7 : 1-12.
- CASTELLANI, A. — 1911 — Reports of the Advisory Committee for the Tropical Diseases Research Found.
- CASTELLANI, A. e M. DOUGLAS — 1937 — Biochemical characters and agglutinative reactions of the metadysentery bacilli. *J. Trop. Med. Hyg.* 40 : 197-200.
- CHRISTENSEN, W. B. e G. H. GOWEN — 1944 — An arabinose-fermenting bacterium of the lactose-negative, mannitol-negative Shigella group. *J. Bacteriology* 47 : 171-176.
- CLAYTON, F. H. A. e S. H. WARREN — 1929 — Further study of unusual bacillus recovered from cases presenting symptoms of dysentery. *J. Hygiene* 29 : 191-200.
- COX, C. D. e G. I. WALLACE — 1948 — A study of Shigella isolated in India and Burma, with special reference to two previously undescribed sero-types. *J. Immunology* 60 : 465-473.
- DAVISON, W. C. — 1920 — Divisions of the so called flexner group of dysentery bacilli. *J. Exp. Med.* 32 : 651-663.
- DENIER, A. — 1915 — La dysenterie bacillaire à Saïgon. *Bull. Soc. Path. Exot.* 8 : 720-725.
- DENIER, A. e HUET — 1912 — La dysenterie à Saïgon. *Bull. Soc. Path. Exot.* 5 : 263-265.
- DOWNIE, A. W. e E. WADE — 1933 — An organism resembling the newcastle type of dysentery bacillus associated with cases of dysentery. *J. Hygiene* 33 : 196-203.
- DUVAL, C. W. — 1904 — Another member of the dysentery group. *J. A. M. A.* 43 : 381-383.
- EWING, W. H. — 1946 — An additional Shigella paradysenteriae Serotype. *J. Bacteriology* 51 : 433-445.
- EWING, W. H. — 1949 — The relationship of Shigella dispar to certain coliform bacteria. *J. Bacteriology* 53 : 497-500.
- EWING, J. O. e TAYLOR, J. — 1945 — Variations in the fermentative reactions of antigenically identical strains of Bact. Newcastle. *Month. Bull. Min. Health Emerg. Publ. Health Lab. Serv.* 4 : 130-133 e *Bull. Hygiene* 20 : 576.
- FARIA, G. de e G. PACHECO — 1923 — Ainda duas palavras sobre a dysentaria bacillar no Rio de Janeiro. *Brasil-Medico* 37 : 313-314.
- FELSEN, J. — Bacillary dysentery colitis and enteritis. Philadelphia, Saunders, 1945.
- FERGUSON, W. W. e W. E. WHEELER — 1946 — Two paracolon cultures related antigenically to Shigella paradysenteriae. *J. Bacteriology* 51 : 107-112.
- FERGUSON, W. W., M. BRANSTON, G. L. MCCALLUM e M. J. CARLSON — 1947 — Rapid identification of Shigella in a public health laboratory. *J. Lab. Clin. Med.* 32 : 349-359

- FICKER, M. — 1915 — Sobre a dysenteria em São Paulo. *An. Paul. Med. Cir.* 5 : 335-339.
- FLEXNER, S. — 1900 — On the etiology of tropical dysentery. *Bull. Johns Hopkins Hosp.* 11(115) : 231-242.
- GESTEIRA, M. — 1930 — A dysenteria bacillar no lactente. *Pediatria Pratica* 3 : 1-10.
- GILBERT, R. e M. B. COLEMAN — 1934 — Evidense that *B. alkalescens* (Andrewes) may be a variant of *B. typhosus*. *Am. J. Pub. Health* 24 : 449-452.
- GLYNN, J. H. e D. H. STARKEY — 1939 — The cultural and antigenic properties of *Shigella sonnei*. *J. Bacteriology* 37 : 315-331.
- GOBER, M., V. STACY e M. WOODROW — 1944 — A probably new type of nonmannitol-fermenting *Shigella*. *Am. J. Hyg.* 40 : 209-211.
- GODINHO, V. — 1917 — Dysenteria bacillar. *Ann. 1.º Cong. Med. Paul.* 2 : 119-124.
- GOEBEL, W. F., F. BINKLEY e E. PERLMAN — 1945 — Studies on the Flexner group of dysentery bacilli. I. The specific antigens of *Shigella paradysenteriae* (Flexner). *J. Exp. Med.* 81 : 315-330.
- GONZALEZ, L. M. e P. M. OTERO — 1945 — Antigenic and biochemical studies of *Sh. paradysenteriae* isolated in Puerto Rico. *J. Immunology* 50 : 373-376.
- GUIMARÃES, A. — 1922 — Epidemia de dysenteria bacillar. *Bol. Soc. Med. Cir. S. Paulo* 4 (2.ª série) : 293-295.
- GUIMARÃES, A. — 1922a — Bacteriologia e vacinoterapia da dysenteria. *Bol. Soc. Med. Cir. S. Paulo* 4 (2.ª série) : 342-343.
- GUIMARÃES, A. G. e M. CORTEZ — 1918 — Dysenteria bacillar. *Bol. Soc. Med. Cir. S. Paulo* 1 (2.ª série) : 67-76.
- HARDY, A. V., J. WATT e T. DECAPITO — 1943 — Studies of the acute diarrheal diseases. XI. The typing of *Shigella dysenteriae* Flexner. *Pub. Health Rep.* 58 : 696-699.
- HARDY, A. V. e J. WATT — 1944 — Newer procedures in laboratory diagnosis and therapy in the control of bacillary dysentery. *Am. J. Pub. Health* 34 : 503-509.
- HELLER, G. e S. G. WILSON — 1946 — A new species of *Shigella*. *J. Path. Bact.* 58 : 98-100.
- HISS JR., P. H. — 1904 — On fermentative and agglutinative characters of bacilli of the dysentery group. *J. Med. Research* 13 (1) : 1-51.
- HISS JR., P. H. e F. F. RUSSEL — 1903 — A study of a bacillus resembling the bacillus of Shiga, from a case of fatal diarrhea in a child; with remarks as the serognition of dysentery, typhoid, and allied bacilli. *Medical News N. Y.* 32 : 289-295.
- KLIGLER, I. J., E. OLEINIK e I. CZAZKES — 1943 — Improved tecnic for isolation of dysentery bacteria from stools by formaldehyde inactivation of bacteriophage. *Am. J. Pub. Health* 33 : 682-684.
- KRUSE, RITTERSHAUS, KEMP e METZ — 1907 — Dysenterie und pseudodysenterie. *Ztschr. f. Hygiene* 57 : 417-488.
- LAVINGTON, R. J., A. J. MATHESON, J. TAYLOR e W. J. D. FLEMING — 1946 — An institutional outbreak of diarrhoea due to a hitherto undescribed dysentery bacillus. *J. Path. Bact.* 58 : 101-103.
- LENTZ, O. e R. PRIGGE — Dysentery. *In Handbuch der pathogenen mikroorganismen.* 3. ed., Jena, Gustav Fischer, 1931 ; 3 : 1377-1584.
- LIMA, J. P. C. e L. Q. TELLES — 1940 — Produção de hidrogênio suflorado pela *Shigella ambigua* (Andrewes) Weldin. *Hospital* 17 (5) : 823-831.
- LUTZ, A. — 1898 — Relatório dos trabalhos do Instituto Bacteriologico durante o ano de 1897. *Rev. Med. S. Paulo* 1 : 177-178.
- MACLEANNAN, J. D. — 1945 — The non-mannitol-fermenting bacilli. *J. Path. Bact.* 57 : 307-315.
- MENDONÇA, F. C., de — 1931 — Investigações nas dysenterias do Rio de Janeiro no anno de 1930. *Brasil-Médico* 45 : 124-129.
- MONTEIRO FILHO, A. — 1946 — Nota sobre shigelose produzida por bacilo Manchester. *Hospital* 30 (5) : 797-801.

- MONTEIRO FILHO, A. — Contribuição ao estudo da bacteriologia das shigeloses. Tese de Concurso Faculdade Fluminense de Medicina, Rio de Janeiro, Gráfica Olímpica, 1947; p. 1-90.
- NABARRO, D. e D. G. EDWARD — 1939 — The pathogenicity of *Bacterium alkalescens*. *J. Path. Bact.* **49**: 515-528.
- NELSON, M. G. — 1947 — Non-mannitol-fermenting *Shigella flexneri*, type 103. *J. Path. Bact.* **59**: 316-318.
- NETER, E. — 1938 — The antigenic structure of *Shigella alkalescens* (Andrewes) and the demonstration of antibodies in the serum of patient with *Shigella alkalescens* infections. *J. Immunology* **35**: 339-350.
- NETER, E. — 1942 — The genus *Shigella* (dysentery bacilli and allied species). *Bact. Reviews* **6**: 1-36.
- NETER, E. — 1944 — Antigenic types of *Shigella alkalescens*. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **57**: 200-203.
- NETER, E. e F. RAPOLLE — 1938 — Pathogenicity and antigenic structure of *Shigella alkalescens* (Andrewes). *Arch. Pathology* **25**: 298.
- PACHECO, G. — 1925 — A dysentria bacillar na cidade da Bahia. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* **18**: 5-41.
- PACHECO, G. e F. C. MENDONÇA — 1930 — Um anno de investigações nas dysenterias do Rio de Janeiro. *Arch. Hygiene* **4**: 5-39.
- PACHECO, G. e C. RODRIGUES — 1928 — Sobre as características bacteriológicas dos bacillos dysentéricos. *Arch. Inst. Biol.* **1**: 217-233.
- PACHECO, G. e C. RODRIGUES — 1930 — Sobre as características bacteriológicas dos bacillos dysentericos. *Arch. Inst. Biol.* **3**: 145-176.
- PERLMAN, E. e W. F. GOEBEL — 1946 — Studies on the Flexner group of dysentery bacilli. IV. The serological and toxic properties of the somatic antigens. *J. Exp. Med.* **84**: 223-234.
- PESTANA, B. R. e M. J. FARACO — 1940 — Do emprego de agar-desoxycholato de sodium-citrato (Leifson) para isolar bacilos disentéricos. *An. Paul. Med. Cir.* **40**: 307-314.
- PESTANA, B. R. e M. J. FARACO — 1942 — Exame bacteriológico de fezes. *Rev. Inst. Adolfo Lutz* **2**: 269-287.
- PESTANA, B. R. e L. Q. TELLES — 1947 — Membros manita-indol-negativos do gênero *Shigella*. *Rev. Inst. Adolfo Lutz* **7**: 8-40.
- PLANET DO AMARAL, J. — Antígenos de *Salmonella* em bacilo Flexner II. Trabalho apresentado na III.ª Reunião Conjunta das Sociedades de Biologia do Brasil. Bahia, agosto de 1949.
- RIBEIRO, V. R. L. — 1946 — Verificação de bacilos disentéricos do grupo Newcastle-Boyd-88 no Rio de Janeiro. *Hospital* **29** (3): 383-391.
- SACHS, A. — 1943 — Report on investigation into characteristics of new types of non-mannitol-fermenting bacilli isolated from cases of bacillary dysentery in India and Egypt. *J. Roy. Army Med. Corps* **80**: 92-991.
- SHIGA, K. — 1898 — Ueber den Dysenteriebacillus (*Bacillus dysenteriae*). *Centralblatt f. Bacteriologie*, I. Abt. Orig. **24**: 817-828.
- SMOLENS, J., S. P. HALBERT, S. MUDD, B. W. DOAK e L. M. GONSALES — 1946 — Studies with the somatic antigen of *Shigella paradysenteriae* (Flexner). *J. Immunology* **52**: 41-58.
- STRONG, R. P. e W. E. MUSGRAVE — 1900 — Reports on the etiology of the dysenteries of Manila-Report of the Surgeon General of the Army 251, Washington, D. C. Citado por J. Felsen in *Bacillary dysentery colitis and enteritis*, Philadelphia, Saunders, 1945.
- STUART, C. A., R. RUSTIGIAN, A. ZIMMERMAN e F. V. CORRIGAN — 1943 — Pathogenicity, antigenic relationships and evolutionary trends of *Shigella alkalescens*. *J. Immunology* **47**: 425-437.
- TAUNAY, A. de E. e M. J. FARACO — 1942 — Comportamento sorológico da *Shigella alkalescens*. *Rev. Inst. Adolfo Lutz* **2**: 248-252.

- TAUNAY, A. de E. e M. J. FARACO — 1943 — Contribuição ao estudo da *Shigella* dispar. *Rev. Inst. Adolfo Lutz* 3 : 236-243.
- TAUNAY, A. de E., G. A. CORRÊA e C. T. FLEURY — 1945 — Frequência de alguns agentes microbianos nas chamadas diarreias infantis em São Paulo. *Rev. Inst. Adolfo Lutz* 5 : 331-336.
- TAUNAY, A. de E., S. S. de ALMEIDA e J. R. C. NOVAES — 1948 — Sorologia da *Sh. paradysenteriae*. *Rev. Inst. Adolfo Lutz* 8 : 31-40.
- TAUNAY, A. de E., S. S. de ALMEIDA, J. R. C. NOVAES e M. J. FARACO — 1948a — Bacilo Flexner com um componente antigênico de salmonela. *Hospital* 33 (2) : 211-214.
- TAUNAY, A. de E., J. R. C. NOVAES, S. S. de ALMEIDA e R. C. MAUGÉ — 1948b — Tipos de shigelas não fermentadoras da manita encontradas em São Paulo. *Hospital* 33 : 49-56.
- TOPLEY, W. W. C. e G. S. WILSON — Principles of Bacteriology and Immunity. 3. ed. rev. por Wilson and Miles, Baltimore, Williams & Wilkins, 1946.
- VEAZIE, L. — 1949 — A new type of phase variation in the 103 race of *Shigella paradysenteriae*. *J. Immunology* 61 : 307-314.
- VERNIC, C. S. — 1948 — Verificação de portadores de bacilo Manchester e de *Shigella tietê* em Belém, Pará. *Rev. Serv. Esp. Saúde Púb.* 1 (4) : 967-976.
- WATT, J., A. V. HARDY e T. DeCAPITO — 1942 — Studies of the acute diarrheal diseases. VII. Carriers of *Shigella dysenteriae*. *Pub. Health. Rep.* 57 : 524-529.
- WEIL, A. J. — 1943 — Review. Progress in the study of bacillary dysentery. *J. Immunology* 46 : 13-46.
- WEIL, A. J. — 1947 — Dysentery. A progress report for the years 1942 to 1946. *J. Immunology* 55 : 363-405.
- WEIL, A. J., J. BLACK e K. FARSETTA — 1944 — The serological types of *Shigella paradysenteriae* (Flexner). I. Types with single primary antigen. *J. Immunology* 49 : 321-340.
- WEIL, A. J. e H. SLAFKOVSKY — 1948 — *Shigella tietê*. *J. Bacteriology* 55: 759-762.
- WEIL, A. J., A. ASSIS e H. SLAFKOVSKY — 1948 — *Shigella rio*, a new type of *Shigella*. *J. Immunology* 58 : 23-26.
- WELCH, H. e F. L. MIKLE — 1934 — Relationship of *Shigella alkalascens* to other members of the *Shigella* group. *Am. Pub. Health* 24 : 219-228.
- WHEELER, K. M. — 1944 — Antigenic relationships of *Shigella paradysenteriae*. *J. Immunology* 48 : 87-101.
- WHEELER, K. M. — 1944a — Serological identification of dysentery bacilli. *Am. J. Pub. Health* 34 : 621-629.
- WHEELER, K. L. e F. L. MIKLE — 1945 — Antigens of *Shigella sonnei*. *J. Immunology* 51 : 257-267.
- WHEELER, K. M. e C. A. STUART — 1946 — The mannitol-negative *Shigella* group. *J. Bacteriology* 51 : 317-325.