

As aglutininas Vi na pesquisa de portadores do bacilo tífico

II — Inquérito entre soldados manipuladores de alimentos na 1.^a Região Militar (Distrito Federal)

por

Gobert Araujo Costa e Washington Augusto de Almeida

Em trabalho anterior (1950), utilizando o antígeno glicerinado proposto por DESRANLEAU (1943) e modificado por GUNTHER (1946), fizemos um inquérito na cidade de Maceió, onde o tifo é endêmico, e onde as condições higiênicas locais eram precárias.

No presente trabalho, procuramos aumentar nossas observações e melhor estudar o comportamento do antígeno com que anteriormente trabalhamos.

Material e métodos de estudo

O inquérito foi feito em fins de 1948, na 1.^a Região Militar, entre soldados manipuladores de alimentos que trabalhavam no rancho de 10 corpos de tropa do Exército. Recebemos 151 amostras de sangue de praças geralmente vacinadas com a vacina mixta Te-TAB fabricada pelo Serviço de Saúde do Exército. Para melhor colheita de dados, distribuimos aos médicos das Unidades as fichas individuais do modelo junto para serem preenchidas.

Ficha

Unidade Número Pôsto Nome
Data Função que tem no rancho, cozinha ou depósito de alimentos Data da última vacinação por T.A.B. ou Te-TAB.
..... Já teve Febre Tifoide? Teve Paratifoide?
Em que data? Tem desarranjos intestinais frequentes?
Já teve Malária? Em que data? Já teve doença febril prolongada? Em que data?

Aglutinação microscópica	{	H: Título	Aglutinação macroscópica	{	H: Título
		Vi: Título			Vi: Título
Cultura de fezes:	1. ^o	2. ^o	3. ^o
” ” urina:	1. ^o	2. ^o	3. ^o
” ” bile:	1. ^o	2. ^o	3. ^o
Outros exames				

Preparo dos Antígenos Vi, O e H

Foram usados dois tipos de antígeno Vi, um para aglutinações em tubos e outro para as aglutinações em lâmina.

1) *Antígeno para aglutinação em tubos* — Uma cultura de 24 hs em agar da amostra Vi I Bhatnagar, em fase V, foi suspensa em solução salina fisiológica e formolada a 0,2%. Acertou-se a turvação ao n.º 3 da escala de Mac Farland. Este antígeno foi usado para dosagem dos sôros aglutinantes Vi e para verificação dos títulos dos sôros Vi positivos, após conservação destes por 30 dias na geladeira. O antígeno tem curta duração, cerca de 10 dias, por isso conservamos a cultura Vi I Bhatnagar por picada em agar simples, com camada de óleo de vaselina na superfície. Os tubos são mantidos na geladeira não havendo perda da sensibilidade e virulência até 30 dias de conservação. Desta cultura, assim mantida, podem-se fazer novas partidas de antígeno.

No quadro abaixo estão assinalados os títulos de aglutinação deste antígeno com sôros Vi, O e H.

Antígeno Vi I Bhatnagar	Títulos de aglutinação			
	S. Bhatnagar Vi I	Ty 0-901	Ty H-901	Solução salina fisiológica
	1:1280-1:2560	1:20	0	0

Preparo de sôros Vi, O e H — O preparo de sôros Vi obedeceu a técnica de KLEIN (1943) e os seus detalhes estão expostos em trabalho anterior (1950). Obtivemos um bom sôro aglutinante, como se vê pelo quadro abaixo:

Sôro aglutinante S. typhosa Vi I Bhatnagar	Títulos de aglutinação			
	S. Ballerup V	S. typhosa Vi I	Ty 0-901	Ty H-901
	1:2560	1:2560	1:160	1:320

Para o preparo dos sôros O e H, seguimos a mesma técnica descrita em trabalho anterior (1950).

2) *Antígeno rápido para aglutinação em lâmina* — Este antígeno foi preparado de acôrdo com a técnica exposta em trabalho anterior (1950).

No quadro abaixo estão registrados os testes de verificação da eficiência do antígeno rápido com os diversos sôros.

SÔROS AGLUTINANTES	Títulos de aglutinação com antígeno rápido S. Bhatnagar Vi I
S. Ballerup V	1:640 ++
S. typhosa Bhatnagar Vi I	1:640 +++
Ty O-901	1:2 negativo
Ty H-901	1:2 negativo
De portador	1:640 ++
Solução salina fisiológica	negativo

Portanto, pelas provas acima, conclue-se que o antígeno Bhatnagar Vi I, para aglutinação em lâmina, se mostrou: a) sensível, pois aglutinava com 3+, mesmo em diluição de 1:640, com o respectivo sôro Vi e aglutinava com 2+ o sôro de um portador comprovado, em diluição de 1:640; b) *resistente e específico*, pois não aglutinava com os sôros Ty O e Ty H, nem na mais baixa diluição de 1:2.

3) *Antígenos concentrados Ty O 901 e Ty H 901* — Para seu preparo foi seguida a técnica recomendada pela Liga das Nações, ou seja, em resumo, isolamento de colônias lisas e, para o antígeno Ty O, adição de álcool a 96%, suspensão em salina, centrifugação, lavagem, resuspensão e diluição em solução tampão formolada isotônica, pH 7.6; para o antígeno Ty H, passagem em meio de Jordan modificado por Edwards e Bruner, dêste meio para agar simples, suspensão e diluição na solução tampão formolada recomendada pela Liga das Nações.

4) *Antígeno rápido Ty H 901* — O preparo dêste antígeno obedeceu a técnica exposta em trabalho anterior (1950).

Pesquisa do Bacilo Tífico

Semeadura direta das fezes nos meios sintéticos SS e de Wilson & Blair (Difco), e das fezes e urina, após 48 horas de enriquecimento em caldo selenito (Difco), nos meios SS e Wilson & Blair. Ao todo, para cada praça, eram empregadas seis placas, procurando-se isolar o maior número possível de colônias suspeitas. Não foi possível dispor de material para exame de todos os militares Vi+ H+.

Dos casos positivos, em número de 49, apenas 20 forneceram fezes e 15 urina. O exame de cultura da bile, que seria o recurso para os casos negativos, também não foi feito.

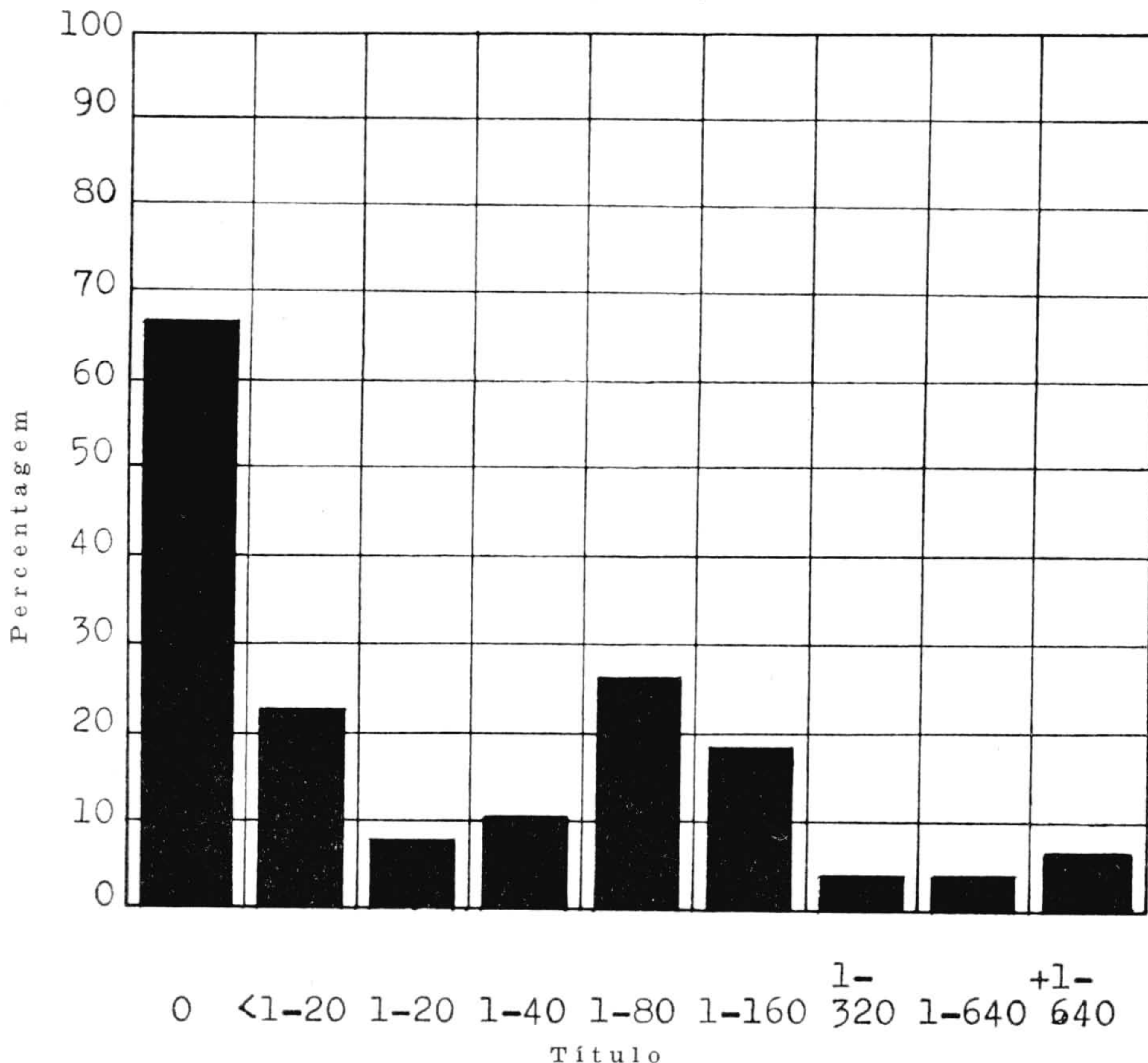
Resultados

A) *Prova de aglutinação* — Foram examinados 151 sôros de praças do rancho e, destes, 49 apresentaram a estrutura Vi+ H+.

A tabela I relaciona todos êstes casos, dando o resultado da aglutinação em face dos antígenos Vi I Bhatnagar glicerinado e formolado, Ty H e Ty O. As reações em lâmina dos antígenos Vi rápido e Ty H com o sôro a 1:2 variaram da intensidade de 1+ a 4+ e os títulos de aglutinação entre os sôros diluídos e demais antígenos variaram desde menos de 1:20 até mais de 1:640.

Na tabela II é apontada a frequência dos títulos das aglutinações Vi, H e O. Observa-se que os títulos de aglutinação Vi dos sôros frescos diluídos em lâmina com o antígeno rápido são mais altos (moda de 1:80, média 1:154.2 e mediana 1:53.6) do que os títulos de aglu-

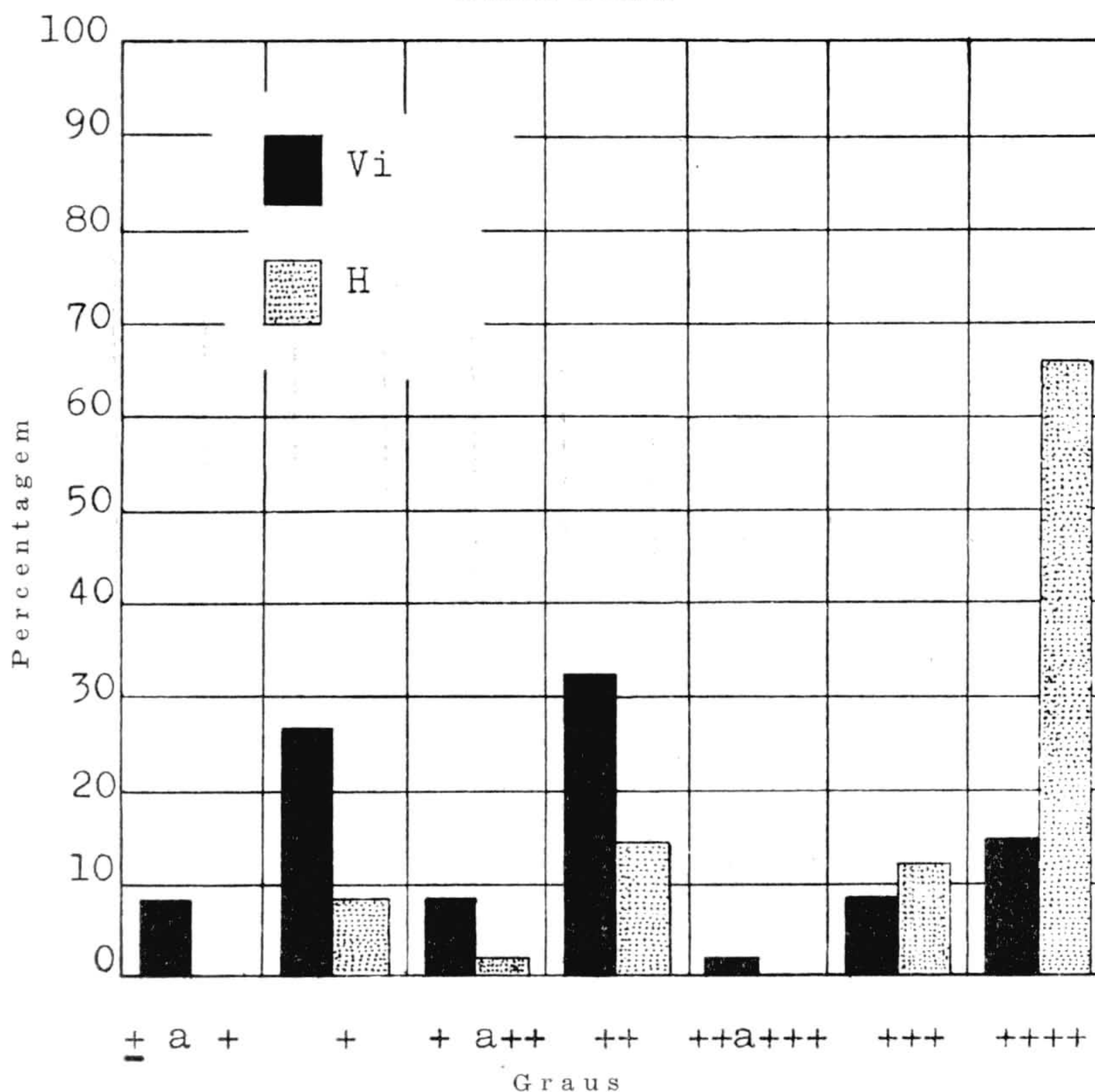
GRÁFICO 1
TÍTULOS DE AGLUTINAÇÃO Vi MICROSCÓPICA DE 151
SOROS DE PESSOAL DO RANCHO
1.ª Região Militar
Distrito Federal



tinação macroscópica dos sôros guardados na geladeira com o antígeno Vi I Bhatnagar formolado (moda 1:20, média 1:93, 4, mediana 1:39, 28). Portanto, o antígeno glicerinado revelou maior sensibilidade, mas o formolado deu apenas 7 títulos abaixo de 1/20 contra 11 do outro. (Gráfico 1).

Com relação às aglutinações Ty O e Ty H em tubo, o título modal foi de 1:160 para ambas, enquanto a média para aglutinação Ty H foi 1:187.2 e para Ty O apenas 1:135.7. Na tabela III, encontra-se a distribuição por Unidades dos títulos de aglutinação Vi em lâmina dos sôros Vi+ H+. Os sôros de títulos mais elevados foram da 1.^a Cia. Pol. Ex. A tabela IV mostra a frequência dos graus de intensidade, expressos em cruzes, das aglutinações Vi e H em lâminas. (Gráfico 2).

GRÁFICO 2
 INTENSIDADE DAS AGLUTINAÇÕES Vi E H MICROSCÓPICAS
 NOS SOROS DE PESSOAL DO RANCHO
 1.^a Região Militar
 Distrito Federal



Verifica-se que as aglutinações TH foram mais intensas. Enquanto a moda, média e mediana de intensidades da aglutinação Vi foram res-

pectivamente 2+, 1.94+ e 1.71+, êstes valores foram mais altos para aglutinação H sendo, respectivamente, 4+, 3.31+ e 3.23+.

Na tabela V, acha-se focalizada a incidência geral e por Unidades de positividade da reação Vi e H. (Gráfico 3). Dos 151 sôros recebidos, 59 ou 39% deram reação Vi positiva, e, dêstes, 49 ou sejam 32.45% apresentaram a fórmula Vi+ H+. Estando incluídos entre os 49 cinco praças que tiveram malária, afecção que produz aglutininas Vi, fica a incidência reduzida a 44 homens ou sejam 29.1%. Finalmente, considerando, com a maioria dos autores, em tórno de 5 a 10% a percentagem de pessoas normais Vi positivas, e admitindo a existência dêsse fato no grupo, ficamos com a incidência reduzida de 38 a 40 praças ou sejam 25,16% a 26.49%.

GRÁFICO 3

DISTRIBUIÇÃO DOS SOROS Vi H POSITIVOS E Vi NEGATIVOS DO PESSOAL DO RANCHO

1.ª Região Militar

Distrito Federal

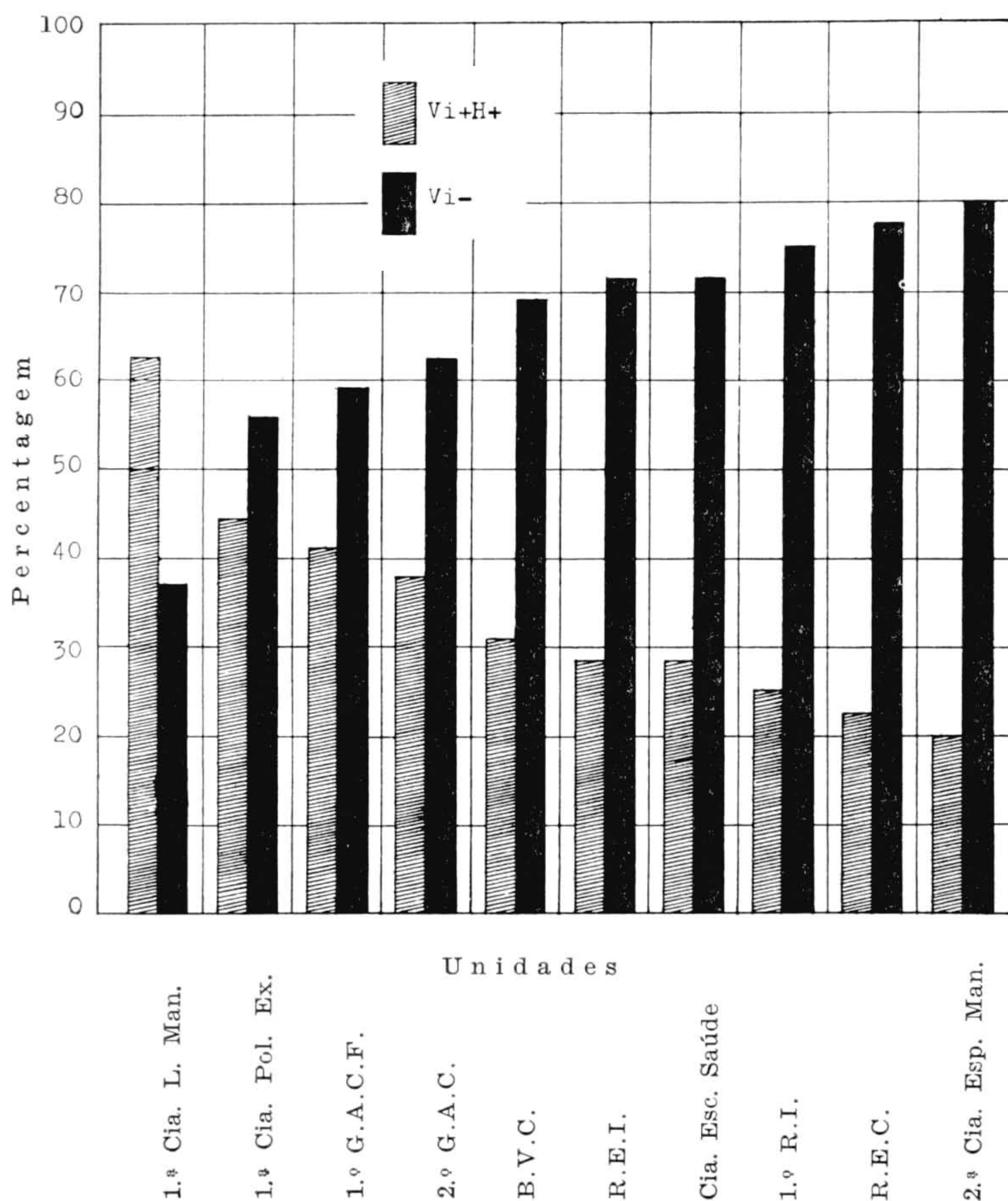


TABELA I

DISCRIMINAÇÃO POR UNIDADES DOS SÓROS Vi + H + DO PESSOAL DO RANCHO COM SEUS RESPECTIVOS TÍTULOS AGLUTINANTES ANTI-Vi, H e O

1.ª Região Militar

Distrito Federal

UNIDADE	NÚMERO		Nome	Vacinação T.A.B.	ANTÍGENOS					
	De ordem	De praça			Vi I Bhatnagar glicerinado (microscópico)		Vi Bhatnagar formulado (macroscópico)	Ty H 901		Ty O 901 (macroscópico)
					Sêro 1:2	Sêro diluído		Sêro 1:2 (microscópico)	Sêro diluído (macroscópico)	
1.ª Cia. Pol. Ex.	2	702	E.M.V.	Sim	++	1:640+	(x)	++++	1:160 a 1:320	(x)
	3	754	P.B.	Sim	++++	1:640+	1: 80 (?)	+++	1:160	1:160 (?)
	5	602	R.J.	Sim	+	1: 80	1:20 mtº fraco	+a+++	1:320	1: 20
	6	668	R.S.	Sim	++	<1: 20	<1: 20	++++	1:640	1: 40
	10	600	N.P.	Sim	+	1: 80 a 1:160	1: 40	++	1:640	1: 80
	12	711	G.J.	Sim	+++	1:640+	1:640	++++	1:640	1: 40
	14	806	E.D.	Sim	± a +	<1: 20	1:20 mtº fraco	++++	<1: 20	1: 80
	15	572	R.M.	Sim	++	1: 40	(x)	+	1: 40	(x)
1.º G.A.C.F.	23	359	J.F.R.	Não?	++	1: 40 a 1: 80	1: 80	++++	1: 80	1:160
	24	360	N.S.S.	Não?	++	1: 80 a 1:160	1: 20	+	1: 40	<1: 20
	26	385	J.B.S.	Não?	+++	1:160	1: 40	++++	1:160	1:160
B.V.C.	28	1 132	A.F.	Sim	+++	1:160	(x)	++++	1:160	(x)
	32	27	R.S.S.	Sim	++++	1: 20 a 1: 40	1: 80	++++	1: 40	1:160
	35	1 525	O.M.F.	Sim	+	1: 40 a 1: 80	(x)	++++	1: 80 a 1:160	(x)
1.ª Cia. L. Man.	38	31	R.L.C.	Sim	++	1: 80	1: 20	++++	1:640	1:640
	39	138	R.O.	Sim	++++	1:160	<1: 20	++++	1:320	1:320
	42	160	J.D.	Sim	+	1: 20	1: 40	++++	1: 80	1: 20
	43	140	W.N.S.	Sim	+ a ++	1:160 a 1:320	1: 80	++++	1:320	1:160
	44	89	I.A.L.	Sim	++++	1: 80	1: 20 fraco	++++	1:160	1: 40
2.º G.A.C.	45	459	E.Q.	Sim	+	1: 80 a 1:160	<1: 20	++++	<1: 20	<1: 20
	49	610	O.B.R.	Sim	± a +	1: 40	1: 20	++++	1: 80	1: 80
	50	545	C.M.	Sim	++	1: 80	1: 20	++++	1:160	1: 40
R.E.I.	54	1 183	M.B.	Sim	++	<1: 20	(x)	+	(x)	(x)
	60	1 073	N.H.	Sim	++	<1: 20	1: 80	+++	1: 80	1: 80
	68	1 487	E.J.	Sim	+++	1: 80	(x)	++	(x)	(x)
	71	1 195	J.B.	Não	+	<1: 20	(x)	++	(x)	(x)
	73	1 586	A.K.	Sim	++++	1:160 a 1:320	(x)	++++	(x)	(x)
	79	553	J.L.M.	Sim	++	1: 80	1: 40	++++	1: 80	1: 40
	82	1 628	P.F.	Sim	++++	1:320 a 1:640	1:160	++	1:160	1:160
	84	1 304	M.G.	Sim	+	1: 80 a 1:160	1:640	++++	1: 80	1: 80
	85	1 346	J.B.P.	Sim	+	1: 80	<1: 20	++++	1: 80	1:160
	87	1 540	J.P.	Sim	+ a ++	1: 40	1:320	++++	1:160	1:320
B.V.C.	88	1 571	A.P.M.	Não?	+	<1: 20	1: 20	++++	1:160	1:320
1.º R.I.	92	917	S.G.	Não?	++ a +++	1: 80	1:160 a 1:320	++	1: 80	1: 80
	93	940	A.P.N.	Não?	+	1: 80	1:320	++++	1: 80 a 1:160	1:160
1.º G.A.C.F.	100	59	D.S.	Não	++	1: 40	(x)	+++	1:640	(x)
	102	114	G.C.	Não	+ a ++	1:160	(x)	++++	(x)	(x)
	104	44	D.C.F.	Não?	± a +	1: 80	1:160	+	1: 20	1:160 a 1:320
	107	376	A.L.S.	Não	+	<1: 20	1: 20 a 1: 40	++++	1:160	1: 80
2.ª Cia. Esp. Man.	110	80	J.J.M.	Sim	± a +	<1: 20	<1: 20	++++	1: 80	1:160
	114	128	A.S.	Sim	++	1: 20	1: 20 fraco	++++	1: 80	1:160
R.E.C.	121	976	A.N.	Sim	++++	1:640	1:160	++++	1:320 fraco	1:160 a 1:320
Cia. Esc. S.	132	129	P.N.	Sim	+	1:160 a 1:320	1: 20	++++	1:160	1:160
	133	138	W.C.S.	Sim	+++	1:640	(x)	++	<1: 20	(x)
R.E.C.	144	872	E.M.S.	Sim	++	<1: 20	1: 40	++	1: 20	1: 80
	148	851	L.V.C.	Sim	++	<1: 20	<1: 20	++++	1:160	1:320
	152	926	J.J.R.	Sim	++	1: 20 fraco	1: 40 fraco	+++	1:320	1: 40
	153	1 010	W.B.	Sim	+	1: 80	<1: 20	+++	1:160	1: 40
	154	491	L.O.	Sim	++	<1: 20	1: 40	++++	1: 80	1: 40

(x) O sêro foi insuficiente para a prova.

TABELA II

FREQUÊNCIA DOS TÍTULOS DE AGLUTINAÇÃO DOS SOROS Vi + H +
DO PESSOAL DO RANCHO COM ANTÍGENOS DIVERSOS

1.ª Região Militar

Distrito Federal

DILUIÇÕES	ANTÍGENOS							
	Vi I Bhatnagar glicerinado (microscópico)		Vi I Bhatnagar formolado (macroscópico)		Ty H-901 (macroscópico)		Ty 0-901 (macroscópico)	
	n.º	%	n.º	%	n.º	%	n.º	%
<1:20	11	22.4	7	18.4	3	6.8	2	5.2
1:20	4	8.1	10	26.3	2	4.5	2	5.2
1:30	—	—	1	2.6	—	—	—	—
1:40	5	10.2	7	18.4	3	6.8	8	21.0
1:80	13	26.5	5	13.1	11	25.0	8	21.0
1:120.....	—	—	—	—	2	4.5	—	—
1:160.....	9	18.3	3	7.8	12	27.2	11	28.9
1:240.....	—	—	1	2.6	1	2.2	2	5.2
1:320.....	2	4.0	2	5.2	5	11.3	4	10.5
1:640.....	2	4.0	2	5.2	5	11.3	1	2.6
>1:640?	3	6.1	—	—	—	—	—	—
Sem resultado.	—	—	11	—	5	—	11	—
TOTAL.....	49	99.6	49	99.6	49	99.6	49	99.6

Valor Central

Moda.....	1:80	1:20	1:160	1:160
Média.....	1:154.2	1:93.4	1:187.2	1:135.7
Mediano.....	1:53.6	1:39.28	1:131.6	1:112

Ora, mesmo não considerando os casos normais e de malária com Vi, não é para surpreender a taxa de 32.45%, sabendo-se que a pesquisa foi feita numa cidade onde os índices de morbidade e mortalidade por febre tifoide foram altos nos anos de 1948 e 1949 (68.57 e 48.49, 11.8 e 7.17, respectivamente) o que são cifras altas em comparação com os outros centros civilizados. COLEMAN & FRALICK, ainda recentemente (1947), referem ter encontrado nos Estados Unidos, examinando 63 indivíduos, uma incidência de 50% de reações Vi+. E' preciso também considerar que todos aqueles 49 homens não tiveram necessariamente febre tifoide mas poderiam ter ficado portadores pelo contacto com doentes.

TABELA III

DISTRIBUIÇÃO POR UNIDADES DOS TÍTULOS DE AGLUTINAÇÃO Vi MICROSCÓPICA DOS SOROS Vi + H + DO PESSOAL DO RANCHO

1.ª Região Militar

Distrito Federal

UNIDADE	Vi NEGA-TIVOS		Vi POSITIVOS POR DILUIÇÕES																SUB TOTAL	
	N.º	%	< 1:20		1:20		1:40		1:80		1:160		1:320		1:640		+1:640		N.º	%
			N.º	%	N.º	%	N.º	%	N.º	%	N.º	%	N.º	%	N.º	%	N.º	%		
1.ª Cia. Pol. Ex.	10	55.5	2	25.0	—	—	1	12.5	2	25.0	—	—	—	—	—	—	3	37.5	8	44.4
1.º G. A. C. F. .	10	58.8	1	14.3	—	—	2	28.6	1	14.3	3	42.8	—	—	—	—	—	—	7	41.1
B. V. C.....	9	69.2	1	25.0	1	25.0	—	—	1	25.0	1	25.0	—	—	—	—	—	—	4	30.7
1.ª Cia. L. Man.	3	37.5	—	—	1	20.0	—	—	2	40.0	2	40.0	—	—	—	—	—	—	5	62.5
2.ª G. A. C.....	5	62.5	—	—	—	—	1	33.3	1	33.3	1	33.3	—	—	—	—	—	—	3	37.5
R. E. I.	25	71.4	3	30.0	—	—	1	10.0	3	30.0	2	20.0	1	10.0	—	—	—	—	10	28.5
1.º R. I.	6	75.0	—	—	—	—	—	—	2	100.0	—	—	—	—	—	—	—	—	2	25.0
2.ª Cia. Esp. Man.	8	80.0	1	50.0	1	50.0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	2	20.0
R. E. C.	21	77.7	3	50.0	1	16.6	—	—	1	16.6	—	—	—	—	1	16.6	—	—	6	22.2
Cia. Esc. S.	5	71.4	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	50.0	1	50.0	—	—	2	28.5
TOTAL.....	102	67.5	11	22.4	4	8.1	5	10.2	13	26.5	9	18.3	2	4.0	2	4.0	3	6.1	49	32.4

TABELA IV

GRAUS DE INTENSIDADE DA AGLUTINAÇÃO NOS SOROS Vi + H + DO PESSOAL DO RANCHO

1.ª Região Militar

Distrito Federal

INTENSIDADE DA AGLUTINAÇÃO	ANTÍGENOS			
	Vi I Bhatnagar glicerinado 1:2 (microscópico)		Ty H-901 1:2 (microscópico)	
	N.º	%	N.º	%
± a +	4	8.1	—	—
+	13	26.5	4	8.1
+ a ++	4	8.1	1	2.0
++	16	32.6	7	14.2
++ a +++	1	2.0	—	—
+++	4	8.1	5	10.2
++++	7	14.2	32	65.3
TOTAL	49	99.6	49	99.8

Valor Central

Moda	2+	4+
Média	1.94+	3.31+
Mediana	1.71+	3.23+

Verifica-se ainda, pelo exame da tabela V, que a Unidade que apresentou maior número de suspeitos portadores foi a 1.ª Cia. L. Man. (62,5%) e que a menos afetada foi a 2.ª Cia. Esp. Man. (20%).

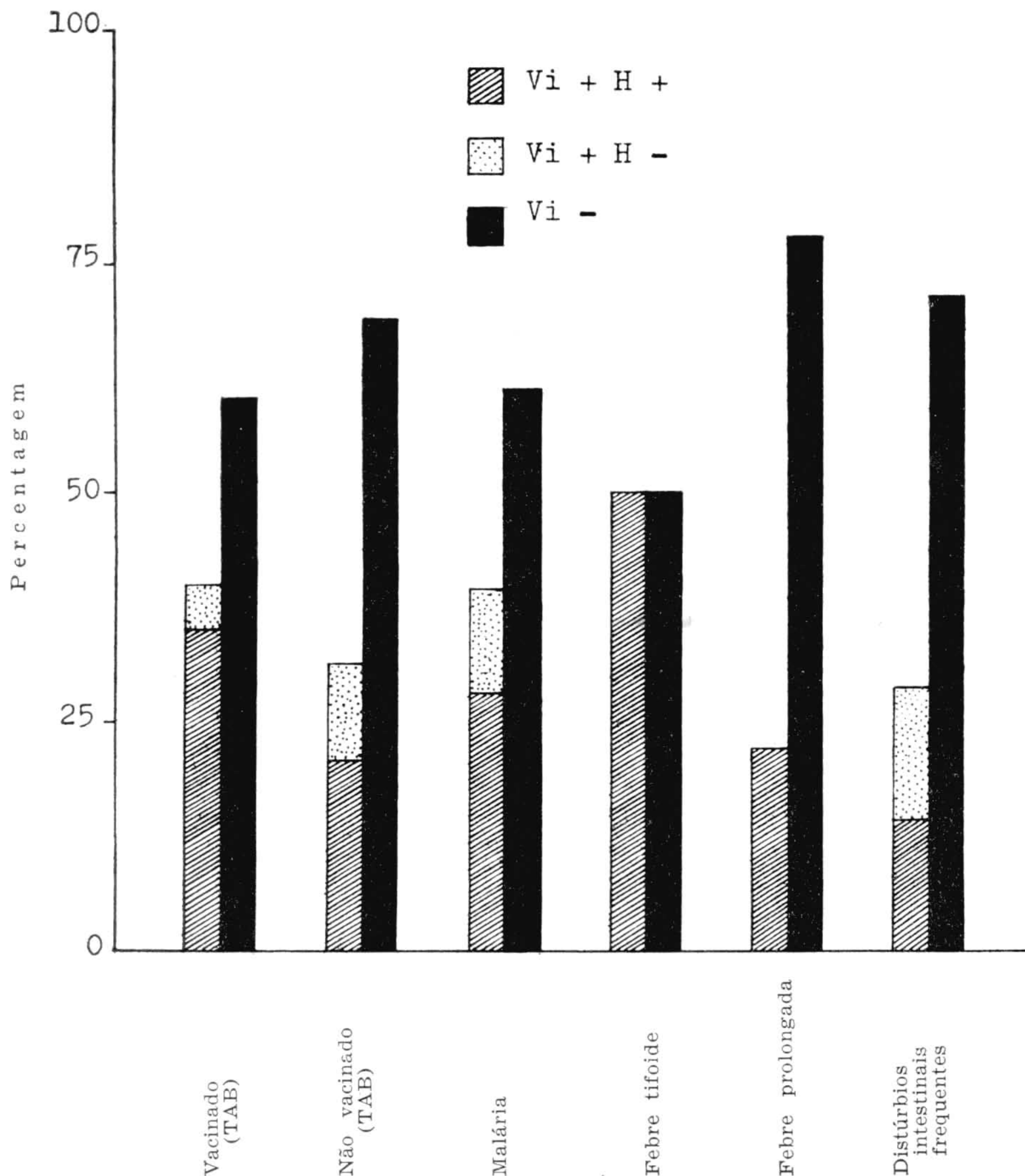
B) *Comprovação bacteriológica do estado de portador* — Recebemos, para exame bacteriológico, fezes e urina de 21 indivíduos. Apesar do cuidadoso exame procedido neste material, não logramos isolar a *S. Typhosa*. Por outro lado, tivemos oportunidade de isolar diversas bactérias intestinais patogênicas como shigellas, salmonelas e paracolis. Fato importante a assinalar é que alguns paracolis e salmonelas foram aglutinados por um soro Vi puro. Suspensões destes germens, após aquecimento a 100°C, perderam a capacidade de serem aglutinadas pelo soro Vi. Estes fatos sugerem a existência nestas bactérias de um antígeno Vi.

Anticorpos Vi, imunização antitífica, malária e outras afecções — Na tabela VI, pode-se verificar a influência da imunização T.A.B., da malária, febre tifoide e outras afecções e síndromes passíveis de determinar, por estímulo primário ou anamnóstico, o aparecimento ou exaltação de aglutininas Vi no grupo de soldados examinados (Gráfico 4).

GRÁFICO 4

RELAÇÃO ENTRE DIVERSOS ESTADOS E AS AGLUTINAÇÕES Vi E Vi H DE SOROS DO PESSOAL DO RANCHO

1.ª Região Militar
Distrito Federal



Observa-se, em relação à vacina T.A.B., que, das 151 praças examinadas, havia informação segura nas fichas de que 108 eram vacinadas das quais 43 (39,8%) apresentavam aglutininas Vi e 65 (60,5%) não. Portanto, se as aglutinações Vi encontradas fossem devidas à vacina, senão a totalidade, ao menos a maioria dos imunizados, devia apresentá-las.

Ora, é justamente o contrário que ocorre. Por outro lado, entre os indivíduos certamente não vacinados, que são 19, há 6 com Vi positivo. A conclusão a tirar deste estudo é que a presença das aglutininas Vi independe da vacinação anti-tífica.

A estrutura Vi+ H+ foi encontrada na maioria (88,3%) dos vacinados, sendo, sem dúvida, devido à vacina o elemento H+ da fórmula. Todavia, 5 praças vacinadas não apresentaram aglutininas H. Nos indivíduos obrigatoriamente vacinados, como é o caso nas forças armadas, não podemos, portanto, adotar a fórmula Vi+ H+ de KLEIN como simbólica do portador. Será esta apenas o Vi+.

TABELA V

DISTRIBUIÇÃO POR UNIDADES DOS SOROS Vi-H POSITIVOS E Vi NEGATIVOS DO PESSOAL DO RANCHO

1.ª Região Militar
Distrito Federal

UNIDADE	ViH POSITIVOS		Vi NEGATIVOS		TOTAL	
	N.º	%	N.º	%	N.º	%
1.ª Cia. Pol. Ex.....	8	44.4	10	55.5	18	99.9
1.º G. A. C. F.....	7	41.1	10	58.8	17	99.9
B. V. C.....	4	30.7	9	69.2	13	99.9
1.ª Cia. L. Man.....	5	62.5	3	37.5	8	100.0
2.º G. A. C.....	3	37.5	5	62.5	8	100.0
R. E. I.....	10	28.5	25	71.4	35	99.9
1.º R. I.....	2	25.0	6	75.0	8	100.0
2.ª Cia. Esp. Man.....	2	20.0	8	80.0	10	100.0
R. E. C.....	6	22.2	21	77.7	27	99.9
Cia. Esc. S.....	2	28.5	5	71.4	7	99.9
TOTAL.....	49	32.4	102	67.5	151	99.9

O fato da vacina empregada pelo Exército não produzir aglutininas Vi está de acordo com a observação da maioria dos autores em relação a outros produtos empregados da maneira clássica, inclusive

a vacina antitífica do Exército americano (KLEIN, 1943). Afim de confirmar êste fato e afastar ainda mais a hipótese de que as aglutininas Vi dos nossos suspeitos portadores poderiam ser devidas à vacinação e não ao estado de portador, realizamos as seguintes provas:

1) Imunizamos coelhos com a vacina T.A.B., série 733, do Instituto de Biologia do Exército, nas doses e via indicadas para a vacinação humana. Provando o poder aglutinante do sôro dêstes animais com os antígenos Ty O, Ty H, AO, AH, BO, BH e Vi, encontramos: Ty O 1/160, TyH 1/640, AO 1/80, AH 1/1280, BO 1/160, BH 1/160, Vi Desranleau microscópico O. A vacina não produziu anticorpos Vi nos coelhos.

TABELA VI

RELAÇÃO ENTRE O ESTADO DE VACINAÇÃO T.A.B. E ALGUMAS AFECÇÕES E SÍNDROMES COM A AGLUTINAÇÃO Vi E Vi H DOS SOROS DO PESSOAL DO RANCHO

1.ª Região Militar

Distrito Federal

	Vi POSITIVO		Vi NEGATIVO		Vi + H +		Vi + H —	
	N.º	%	N.º	%	N.º	%	N.º	%
Vacinado.....	43	39.8	65	60.2	38	88.3	5	11.6
Vacinado?.....	—	—	2	100.0	—	—	—	—
Não vacinado...	6	31.5	13	68.4	4	66.6	2	33.3
Não vacinado?..	10	45.4	12	54.5	7	70.0	3	30.0
Malária.....	7	38.8	11	61.1	5	71.4	2	28.5
Febre tifóide....	2	50.0	2	50.0	2	100.0	—	—
Febre prolongada	2	22.2	7	77.7	2	100.0	—	—
Distúrbios intestinais frequentes	2	28.5	5	71.4	1	50.0	1	50.0
Distúrbios intestinais frequentes + Febre prolongada.....	2	33.3	4	66.6	2	100.0	—	—
Malária + Febre prolongada....	1	50.0	1	50.0	1	100.0	—	—
Málária + Distúrbios intestinais frequentes	1	50.0	1	50.0	—	—	1	100.0

2) Fazendo aglutinação macroscópica de várias partidas da vacina com os sôros de coelhos anti-Ty O, Ty H e Vi, só pudemos fazer leitura da série 733, encontrando o título 1/2560 para TO e TH, enquanto para o Vi o título foi zero. As outras séries (715, 721, 713 e 732) apresentavam testemunha parcial ou totalmente aglutinado.

Quanto à malária, observamos que a maioria das praças que haviam tido esta doença, ou sejam 11 em 18 (61,1%), não apresentaram anticorpos Vi.

Com relação à tifoide, há no rol, trabalhando portanto no rancho, 4 antigos convalescentes dos quais 2 (sold. ns. 1586 do REI e 851 do REC) apresentaram reação Vi positiva. Não conseguimos receber material para comprovar-lhes o estado de portador.

Com referência às outras afecções que incluímos no quadro VI, não há conclusões de importância a tirar, senão que as praças do rancho que acusaram em seu passado febre prolongada, em número de 17, e distúrbios intestinais frequentes, em número de 15 (77,7% e 66,6%, respectivamente), tinham Vi negativo.

Discussão

Uma rápida revisão da literatura mostra haver divergências de opiniões no que respeita ao valor da pesquisa de aglutininas Vi na determinação de portadores do bacilo tífico.

Tais divergências provêm, em parte, das várias técnicas usadas para a prova de aglutinação, assim como do preparo dos antígenos.

Nas provas de aglutinação macroscópica variaram muito as diluições iniciais do sôro a provar, e, com a técnica de absorção prévia dos sôros com a amostra H-901, forçosamente teríamos uma diluição, ficando, muitas vezes, o título do sôro em prova além do seu teor em aglutininas Vi. Outro ponto importante é que nas provas de saturação com a amostra H-901 de FELIX há sempre uma retirada de pequena parte de aglutininas Vi devido à presença deste antígeno nesta amostra, como assinala KLEIN (1943).

Com o uso da amostra Bhatnagar Vi I, rica em Vi, e destituída de O e H, houve melhoria nas técnicas usadas pois permitiu uma aglutinação direta dos sôros sem saturação prévia.

Mesmo assim, havia o problema da estabilidade do antígeno usado, que se degrada facilmente, tendo um limite de uma semana para uso, e, além do mais, não havia uma standardização na concentração da suspensão a ser empregada. Apesar de FELIX (1938) ter estabelecido um antígeno padrão para as provas aglutinantes, tal antígeno tem vida curta, dificultando seu uso em larga escala.

Evidentemente, grande progresso trouxe a técnica de DESRANLEAU (1943) quando utiliza a aglutinação microscópica e prepara um antígeno em condições standardizadas e bem estável. Confirmamos a opinião de GUNTHER (1946) no que respeita à estabilidade do antígeno de DESRANLEAU e é de ressaltar a importância prática desta verificação, pois permite o uso da reação pelos serviços de Saúde Pública em laboratórios longínquos no interior.

Com referência à interpretação da prova, as opiniões variam. Se as técnicas usadas divergem de muito, a interpretação de seus resultados diverge mais.

Nos primeiros trabalhos, considerava-se como portador um indivíduo cujo sôro possuisse aglutininas Vi em títulos acima de 1/10 a 1/40. Ainda não existe uniformidade neste sentido, cada pesquisador usando uma diluição inicial diferente.

FELIX (1938), BENSTED (1940), DAVIS (1940) e RADOWSKY (1942) adotam diluir o sôro a 1:5. A opinião geral recomenda 1:10 — 1:20, como diluições mais baixas para o sôro ser considerado positivo. Também GIOVANARDI (1937) e BHATNAGAR (1938) trabalharam com sôros diluídos a 1:10. HORGAN e DRYSDALE (1940) fazem o teste com sôro a 1:12,5, PIJPER e CROCKER (1937), ELIOT (1940) e outros, consideram significativa uma aglutinação no título de 1:20. KLEIN (1943) preconiza trabalhar com o sôro na diluição de 1:2 e declara que, dêste modo, se descobrem mais 14% de positivos em comparação com a diluição de 1:5 e mais 29% do que adotando 1:10. WILSON e MILES (1947) aconselham as diluições finais do sôro a 1:5 ou mais.

Utilizamos a diluição de 1:2 recomendada por GUNTHER (1946), o que torna possível verificar pequenas quantidades de aglutininas nos sôros em prova.

De grande importância é o local onde é feita a prova, pois, em populações sujeitas a pequenas epidemias, há naturalmente um nível alto de aglutininas Vi, o mesmo acontecendo em pessoas comunicantes. Êste fato esclarece por que as taxas normais de aglutininas Vi encontradas por vários pesquisadores variam um pouco. Além do mais, é lógica uma alta incidência de portadores em população com alto índice de morbidade, uma vez que a continuidade da existência do bacilo tífico depende, em última análise, dos portadores de gérmens.

Assim, FELIX (1938), BHATNAGAR (1938), PIJPER e CROCKER (1937) negaram a existência de aglutininas Vi nos indivíduos sãos. A maioria dos autores registra uma taxa de 5 a 8% (média 6,5%) de indivíduos normais que apresentam aglutininas Vi. Por outra parte, RAUSS (1940) lembra a possibilidade de infecções tíficas por gérmens sem antígeno Vi e, nesse caso, quando se estabelecesse um estado de portador, não haveria formação de aglutininas Vi. KLEIN (1943) refere que o teste de aglutinação Vi isolado dá 6,5% de resultados falsos positivos o que significa ter uma especificidade de 93,5%.

Todavia, se pesquisarmos as aglutininas H e considerarmos suspeitos de portadores apenas os indivíduos que apresentarem a fórmula Vi+ H+, a percentagem dos falsos positivos reduz-se a 3,4% e a especificidade da prova passa, portanto, a 96,6%. Por conseguinte, quando se substitue a expressão simplista "Vi+" do portador pela fórmula Vi+ H+, há um aumento de 3,1% na especificidade.

Outro aspecto a ressaltar é a presença de aglutininas Vi em indivíduos em que não se consegue demonstrar o germe nas fezes, urina ou secreção biliar. Para alguns pesquisadores (DAVIS, 1940 e RADOWSKY, 1942), êste fato evidencia que as aglutininas não são indicativas do estado de portador.

E' claro que a localização do bacilo sendo, por exemplo, numa lesão óssea, o indivíduo será Vi positivo mas não tem possibilidade, senão remota, de eliminar o gérmen pelas fezes e pela urina. A cultura, ainda que repetidamente negativa, não pode preponderar sôbre um teste sorológico positivo.

E' preciso lembrar que a eliminação é interrompida por intervalos e que, em certas ocasiões, a descarga é tão reduzida que os meios de cultura atuais não conseguem revelar o germe. Recomenda-se mesmo, quando o teste Vi é positivo e a coprocultura sistematicamente negativa, examinar o suco de estase duodenal porque os portadores biliares, via de regra, excretam os bacilos intermitentemente.

Considerando todos êstes fatores, conclue-se que a comprovação pela cultura do estado de portador denunciado pela aglutinação é, em realidade, um trabalho que demanda persistência na repetição dos exames. Temos de convir que as técnicas de pesquisa, especialmente nas fezes, embora aprimoradas, não são isentas de falhas sendo necessário o emprêgo simultâneo de diversos meios e ainda o estudo de grande número de colônias suspeitas para o isolamento do maior número de enterobactérias patogênicas e comprovação da presença do bacilo tífico.

Se adotarmos o conceito de PIJPER e CROCKER (1943), isto é, portador não é obrigatòriamente sinônimo de excretor, podendo ser simplesmente um hospedador ("harbourer"), teremos de dar grande valor a uma reação de Vi positiva. Neste caso, comprovada ou não a eliminação, o indivíduo seria catalogado como suspeito de portador.

Segundo WILSON e MILES (1946), as experiências efetuadas até agora na Inglaterra e nos Estados Unidos fazem crer que o teste sorológico Vi tem valor presuntivo, servindo como valioso recurso preliminar na pesquisa de portadores para se fazer uma seleção ou triagem dos suspeitos, porém não necessariamente portadores, afim de limitar a tarefa, por demais árdua, da comprovação reservada ao exame pela cultura. Só êste, pelo isolamento do germe, fornecerá a prova indiscutível. Portanto, mesmo para êstes casos, a adoção do teste sorológico é de valor, permitindo poupar tempo e gasto de material.

Fato importante a analisar é a possibilidade da formação de anticorpos Vi em indivíduos com outras afecções ou em vacinados. E' o caso da malária, produzindo aglutininas Vi, como mostrou COLEMAN (1944), e nós (1950) o confirmamos em 50% dos 20 sôros que examinamos, no primeiro inquérito, e em 7 de 18 maláricos, no segundo.

Esta possibilidade reduzia de muito a especificidade da reação mas a fórmula antigênica completa do portador, adotada por KLEIN, parece ter solucionado, em parte, o problema.

Verificamos que os indivíduos com malária, sem nunca terem tido febre tifoide ou terem sido vacinados, não possuem aglutininas H. Se êste achado fôr confirmado em maior número de casos, teremos afastado essa causa de êrro no malárico que pode possuir aglutininas Vi mas nunca terá aglutininas H. Esta diretriz deve ser tomada quando o inquérito individual mostrar que o indivíduo nunca foi vacinado ou

sofreu infecção tífica, afastando, assim, a possível influência do antígeno tífico.

KLEIN (1943) mostrou que estudantes vacinados contra o tifo podem possuir aglutininas Vi, porém a porcentagem de reagentes é bem pequena e sem maior significação. De fato, as estatísticas apresentadas coincidem com o número de indivíduos normais possuidores de aglutininas Vi.

Há ainda a assinalar a possibilidade da formação de aglutininas Vi circulantes produzidas por infecções devidas a germens com antígeno Vi diferentes do bacilo tífico. Seria o caso de salmonellas, paracolis e colis com antígeno Vi, produzindo infecções e, em consequência, formação de anticorpos Vi. Tal causa de erro pode ser contornada com a pesquisa de aglutininas H naqueles casos onde não houvesse vacinação antitífica, pois aí ficaria garantida a especificidade da reação.

Analisando os resultados obtidos nos dois inquéritos realizados por nós, verifica-se, de início, uma alta porcentagem de sôros com aglutininas Vi e H.

Do confronto dos dois inquéritos nas amostras examinadas, conclue-se haver grande número de indivíduos suspeitos de serem portadores. Não é de se estranhar tal fato, uma vez que a incidência da febre tifoide nos locais onde se procederam os inquéritos é reconhecidamente elevada.

Na realidade, várias causas de erro, falseando as reações, poderão ser apontadas. Como principal delas, queremos frisar a vacinação antitífica obrigatória no Exército e, com isto, a presença constante de aglutininas H, com perda da especificidade da fórmula, o mesmo acontecendo em grande parte da população de Maceió onde se havia intensificado recentemente a vacinação.

Mesmo assim, tomando só em consideração as aglutininas Vi, que não foram influenciadas pela vacinação, a porcentagem é bem elevada ainda deduzindo as maiores incidências normais que podem atingir 10% de indivíduos com aglutinina Vi.

A pesquisa para isolamento do bacilo tífico nos excreta dos indivíduos Vi+ H+ não correspondeu entretanto à expectativa. Só no material examinado em Maceió, logramos isolar por duas vezes o germen. Apesar da exaustiva pesquisa empreendida no material obtido no Exército, não conseguimos isolar o bacilo tífico. Não é de se admirar tal fato, uma vez que a bibliografia cita vários achados idênticos e, no nosso meio, PEREZ (1945) também não obteve culturas de indivíduos Vi positivos.

Por motivos estranhos à nossa vontade, não conseguimos efetuar exames sistemáticos, como seria o indicado. Dêste modo, não podemos afirmar que tenha havido divergência entre o método sorológico e o isolamento. Entretanto, é forçoso assinalar a presença, nos excretas de muitos dêstes indivíduos, de germens com comportamento sorológico que sugere a presença do antígeno Vi.

Êste fato leva-nos a pensar na possibilidade de tais germens produzirem aglutininas Vi.

Mesmo analisando tôdas estas possíveis causas de erro na pesquisa de aglutininas Vi, parece que a prova é eficiente para separar indivíduos suspeitos sujeitos a um contrôle posterior pelas provas de isolamento do bacilo tífico necessariamente repetidas.

Conclusões

- 1) Num inquérito sorológico para pesquisa de portadores do bacilo tífico, realizado em 151 soldados manipuladores de alimentos, encontraram-se 39% aglutinando o antígeno Vi.
- 2) Dos 151 soldados examinados, 32,45% possuíam aglutininas Vi e H.
- 3) Não se conseguiu isolar o bacilo tífico dos 21 soldados colhidos ao acaso e com aglutininas Vi e H no sangue. Foram isoladas amostras de shigella, paracoli e salmonella.

BIBLIOGRAFIA

1. BENSTED, H. J.
1940. Bacterium typhosum. The development of Vi — antigen and Vi — antibody. I. Royal Army Med. Corps., 74 : 19-35.
2. BHATNAGAR, S. S.
1938. Vi agglutination in the diagnosis of typhoid fever and the typhoid carrier condition. Brit. Med. J., 2 : 1195-1196.
3. COLEMAN, M. B.
1944. Vi agglutinative properties for Bacterium typhosum demonstrated following infection with malaria parasites. J. Lab. and Clin. Med., 29 : 916.
4. COLEMAN, M. B. & FRALICK, E.
1947. Vi agglutination with typhoid bacilli. Annual Rep. Divis. Lab. Res. 69.
5. COSTA, G. A. & ALMEIDA, W. A.
1950. As aglutininas Vi na pesquisa de portadores do bacilo tífico. I. Inquérito em Maceió. Mem. Inst. Osw. Cruz, 48 :
6. DAVIS, L. J.
1940. The distribution and significance of typhoid Vi agglutinins in normal sera of African natives. J. of Hyg., 40 : 406-413.
7. DESRANLEAU, I. M.
1943. The preparation and preservation of typhoid suspensions for the Vi agglutination test. Canad. J. Pub. Health, 34 : 502-508.
8. EDWARDS, P. R. & BRUNER, D. W.
1942. Sorological identification of Salmonella cultures. Circular 54 — Agricultural Experiment Station.
9. ELIOT, C. P.
1940. The Vi agglutination test as an aid in the detection of chronic typhoid carriers. Am. J. of Hyg., 31 : 8.

10. FELIX, A.
1938. Detection of chronic typhoid carriers by agglutination tests. *The Lancet*, 2 : 738-741.
 11. GIOVANARDI, A.
1937. Die Antigenstruktur des *B. typhi* und ihre Bedeutung, für die, Herstellung von Typhus impstoffen. *Zeif. f. Hyg. Infekt.*, 120 : 273-295.
 12. GUNTHER, C. B.
1946. Studies on the Vi agglutination test for the detection of typhoid carries. *Am. J. Clin. Path.*, 16 : 293-305.
 13. HORGAN, E. S. & DRYSDALE, A.
1940. Vi agglutination in the detection of typhoid carriers. *Lancet* 1. 1084.
 14. KLEIN, M.
1943. The Vi antigen in the detection of typhoid carriers. *J. Inf. Dis.*, 72 : 49-57.
 15. PIJPER, A. & CROCKER, C. G.
1937. The agglutinins of typhoid carriers. *J. of Hyg.*, 37 : 332-339.
 16. RADOWSKY, H.
1942. Note on typhoid Vi agglutin in Rhodesian Natives. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 36 : 45.
 17. RAUSS, K.
1940. Die Rolle des Antigens Vi bei der Variation des Typhusstürme. *Zeitschr. f. Immunit.*, 97 : 281-305.
 18. PIJPER, A. & CROCKER, C. G.
1943. Typhoid carriers and Vi agglutinins. *J. Hyg., Camb.*, 43 (3) : 201.
 19. FELIX, A. & GARDNER, A. D.
1937. *Bull. Trim. Org. Hyg. Soc. Nat.*, VI (2) : 233.
 20. WILSON, G. S. and MILES, A. A.
1946. *Topley and Wilson's Principles of Bacteriology and Immunity*, 3d. ed., Baltimore.
 21. NORONHA PEREZ, J.
1945. Aglutininas Vi e portadores de bacilo tífico. *Arq., Inst. Quim. Biol. Est. M. G.*, 1 : 33-40.
-