

EVOLUÇÃO DA PREVALÊNCIA ANUAL DE FAGÓTIPOS HOSPITALARES DE STAPHYLOCOCCUS AUREUS EM RIBEIRÃO PRETO, SP, NO DECÊNIO 1966-1976

C. SOLÉ-VERNIN (1), B. de CAMPOS-SALLES (2), A. M. UTHIDA-TANAKA (3) e E. SIMÃO (4)

RESUMO

Em 1966 o Conjunto Básico de fagos conseguiu fagotipar mais de 85% das amostras então prevalentes. A reatividade a um Conjunto Experimental de fagos era mínima. Depois do período crítico de 1971-72, que apresentou níveis muito baixos de tipabilidade, o Conjunto Básico de fagos, a partir de 1974, vai readquirindo importância crescente até atingir a mais de 60% de tipabilidade das amostras prevalentes no final do decênio. Com a contribuição indispensável da boa reatividade aos Fagos Experimentais, essa tipabilidade total vai crescendo a partir de 1974 até ultrapassar o nível de 85% em 1976. O clássico complexo "52, 52A, 80, 81" que predominava em 1966 (e, também em 1971-72), a partir de 1974 mantém-se em baixo nível de prevalência. O complexo "83A, 84, 85", que tinha tido certa importância em 1966, mantém-se em baixo nível no resto do decênio. O contrário sucedeu com os fagótipos "Outros" do Grupo III, cuja importância crescente atingiu absoluto predomínio em 1976. Os fagótipos do Grupo II atingem em 1974 nível de certa significância (30%) que vai gradualmente decrescendo até 1976. A reatividade aos Fagos Experimentais das amostras não-tipáveis pelo Conjunto Básico cresceu alcançando nível significativo em 1974, que se manteve até o final do decênio.

INTRODUÇÃO

Durante os últimos 20 anos algumas amostras de *Staphylococcus aureus* vieram sucessivamente tornando-se endêmicas em hospitais. Algumas, em certas épocas, predominaram em certos locais, outras alcançaram uma distribuição geográfica ampla, e nenhuma foi erradicada³.

Foi possível documentar como se processou a evolução da prevalência de fagótipos implicados nesses casos em Ribeirão Preto a par-

tir de 1966, questão que constitui o objeto desta comunicação.

MATERIAL E MÉTODOS

1) Amostras

Foram incluídas neste estudo 448 amostras de *Staph. aureus* isoladas de igual número de casos consecutivos de infecção hospitalar num hospital geral de Ribeirão Preto (HC da FMRP, (USP)).

Apresentado ao VII Congresso Brasileiro de Microbiologia, Porto Alegre, RS, 25 a 29 de julho de 1976. Este estudo pôde ser feito, em parte, graças a auxílios da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo.

- (1) Professor Titular (Microbiologia) do Departamento de Parasitologia, Microbiologia e Imunologia, FMRP, USP.
- (2) Professor-assistente (Microbiologia), Departamento de Parasitologia, Microbiologia e Imunologia, FMRP, USP.
- (3) Professor Livre Docente (Dermatologia), Departamento de Clínica Médica, FMRP, USP.
- (4) Professor Assistente Doutor (Dermatologia), Departamento de Clínica Médica, FMRP, USP.

A distribuição anual do número de amostras foi a seguinte: 54, de 1966⁹; 59, num período anual de 1971 a 1972²; 146, de 1974; 136, de 1975, e 53, no 1.º semestre de 1976. Os anos não-representados correspondem a períodos em que não houve colheita de amostras.

A preservação das amostras foi feita em sangue desfibrinado estéril de coelho normal à temperatura de "deep freezer"⁸.

2) Fagotipagem

Empregaram-se processos de fagotipagem oficialmente recomendados^{1,4,5,7}. O decênio em apreço testemunhou algumas alterações no elenco de fagos e na metodologia empregados na fagotipagem; essas modificações foram oportunamente adotadas em nosso serviço de rotina. Para o fim especial de comparar as prevalências anuais de susceptibilidade(*) das amostras aos fagos fez-se, portanto, necessário, manter uniformidade do elenco e da metodologia para todo o decênio.

À época de sua instalação (1970), o Laboratório de Ribeirão Preto empregava somente o Conjunto Básico de fagos(**) então vigente, que se compunha de 22 fagos, a saber, Grupo I: 29, 52, 52A, 79, 80; Grupo II: 3A, 3C, 55, 71; Grupo III: 6, 42E, 47, 53, 54, 75, 77, 83A, 84, 85; Grupo IV: 42D; e Miscelânea: 81, 187. A partir de 1972 porém, começou-se a empregar certos novos fagos em caráter experimental, Fagos Experimentais(***), fornecidos pelo Laboratório Internacional (Londres), a saber: 86, 89, 90, 92, 94, 95 e 96, na esperança de conseguir a tipagem das amostras Não-Tipáveis pelo Conjunto Básico.

No que se refere ao meio de cultura para fagotipagem houve modificações de adaptação

(*) Reação de intensidade 2+, ou seja, a formação de, pelo menos, 50 plaques na área da gota da «RTD» («Routine Test Dilution») do fago.

(**) O Conjunto Básico de fagos é, por definição do Sub-Comitê Internacional de Fagotipagem, de uso obrigatório para todos os Laboratórios oficiais. Esse Sub-Comitê é um dos componentes do Comitê de Nomenclatura da Associação Internacional das Sociedades de Microbiologia.

(***) Os Fagos Experimentais podem variar, de Laboratório para Laboratório, de acordo com as necessidades da área geográfica a que servem, e sua finalidade imediata é manter em nível adequado a tipabilidade das amostras (85%) (6).

das recomendações do Laboratório Internacional de Londres. Mas o ágar-ágar, componente de importância crítica⁷, foi sempre o mesmo (Bacto-Agar, Difco).

RESULTADOS

- 1) **Evolução da proporção anual de amostras fago-tipáveis.** As proporções de amostras fago-tipáveis pelo Conjunto Básico, pelos Fagos Experimentais e pelo concurso de ambos os Conjuntos, estão na Tabela I e Fig. 1.
- 2) **Evolução da prevalência anual dos fagótipos fundamentais obtidos pelo Conjunto Básico.** As proporções dos fagótipos fundamentais obtidos pelo Conjunto Básico estão na Tabela II e Fig. 2.
- 3) **Evolução das reações anuais com os Fagos Experimentais das amostras Não-Tipáveis pelo Conjunto Básico.** Estas proporções encontram-se na Tabela III.

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

O maior número de casos de infecção estafilocócica hospitalar observados a partir de 1974 não reflete necessariamente um aumento de incidência, já que o número de "pacientes-dia" sofreu considerável aumento nessa época (comunicação pessoal do Centro de Processamento de Dados Hospitalares do Hospital em apreço).

O Conjunto Básico, por sua finalidade precípua, deve atingir a um nível desejável de tipabilidade, estabelecido em 85% das amostras submetidas à fagotipagem⁶. Em 1966 (Tabela I e Fig. 1), ele atinge 87%, mas cai a um nível agudamente crítico (34%) em 1971-72, depois do que, vai aos poucos, melhorando sua contribuição até o fim do período. Atinge, então, a proporção de 64%, sem poder dispensar, portanto, a contribuição dos Fagos Experimentais.

Os Fagos Experimentais, de contribuição mínima no princípio do decênio, adquirem, de 1974 em diante, um nível significativo.

O concurso de ambos os conjuntos, Conjunto Básico e Fagos Experimentais, atingiu nível muito alto em 1966 (93%), mas no período de 1971-72 ficou muito aquém das neces-

TABELA I

Evolução da Proporção Anual de Amostras Fago-Tipáveis(*) pelo Conjunto Básico de Fagos e pelos Fagos Experimentais, 1966-1976, Ribeirão Preto, SP.

Fagos \ Anos	1966	1971-72	1974	1975	1976 (1º semestre)
Conjunto Básico	47 (87%)	20 (34%)	67 (46%)	68 (50%)	34 (64%)
Experimentais(**)	3 (6%)	7 (12%)	52 (36%)	47 (35%)	15 (28%)
Amostras Tipáveis	50 (93%)	27 (46%)	119 (82%)	115 (85%)	49 (92%)
Não-tipáveis	4 (7%)	32 (54%)	27 (18%)	21 (15%)	4 (8%)
Total	54 (100%)	59 (100%)	146 (100%)	136 (100%)	53 (100%)

(*) de *Staphylococcus aureus* envolvidas consecutivamente em doenças adquiridas num Hospital Geral (HC da FMRP, USP). Ver Fig. 1

(**) empregados nas Não-Tipáveis pelo Conjunto Básico

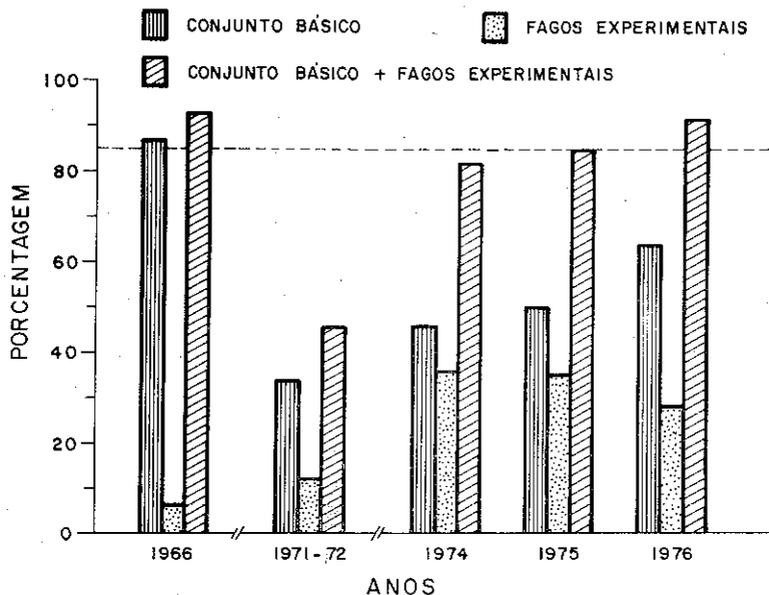


Fig. 1. — Evolução das proporções de amostras fago-tipáveis, Ribeirão Preto, S.P. (Tabela I)

sidades (46%). A partir de 1974, leva a um aumento crescente da tipabilidade das amostras, atingindo, desse modo, no fim do decênio, um nível tão elevado quanto era no princípio do período.

Das amostras tipáveis pelo Conjunto Básico (Tabela II e Fig. 2) notamos que os fagótipos do complexo "52, 52A, 80, 81", assim como os do "83A, 84, 85" apresentam tendência decrescente de prevalência; o contrário ocorreu com os "Outros" do Grupo III. Quanto ao

Grupo II, sofreu oscilações em nível relativamente baixo.

Na reatividade aos Fagos Experimentais das amostras Não-Tipáveis com o Conjunto Básico (Tabela III) observou-se que:

a) no princípio do decênio, 3 dos Fagos Experimentais reagem, mas apenas 1 em 1971-72; de 1974 a 1976, todos reagem, ainda que em diferentes proporções; b) a reatividade aos Fagos Experimentais das amostras Não-Tipáveis pelo Conjunto Básico, parecendo boa

TABELA II
Evolução da Prevalência Anual de Fagótipos Fundamentais Obtidos pelo Conjunto Básico de Fagos 1966-76, Ribeirão Preto, SP. (*)

Fagótipo \ Anos	1966	1971-72	1974	1975	1976 (1º semestre)
Complexo «52, 52A, 80, 81»	21 (45%)	11 (55%)	9 (13%)	10 (15%)	1 (3%)
Grupo II	8 (17%)	1 (5%)	20 (30%)	18 (26%)	7 (20%)
Complexo «83A, 84, 85»	10 (21%)	2 (10%)	8 (12%)	6 (9%)	3 (9%)
«Outros»(**)	8 (17%)	6 (30%)	30 (45%)	34 (50%)	23 (68%)
Total	47 (100%)	20 (100%)	67 (100%)	68 (100%)	34 (100%)

(*) Ver Fig. 2

(**) Fagótipos formados por reação a fagos do Grupo III outros que não os do Complexo «83A, 84, 85»

TABELA III
Evolução das Reações(*) Anuais com Fagos Experimentais de Amostras Não-Tipáveis com o Conjunto Básico de Fagos, 1966-76, Ribeirão Preto, SP.

Fagos \ Anos	1966	1971-72	1974	1975	1976 (1º semestre)
86	0 (0%)	7 (18%)	12 (15%)	9 (13%)	2 (11%)
89	0 (0%)	0 (0%)	12 (15%)	19 (28%)	6 (32%)
90	1 (14%)	0 (0%)	17 (22%)	19 (28%)	6 (32%)
92	0 (0%)	0 (0%)	12 (15%)	9 (13%)	1 (5%)
94	2 (29%)	0 (0%)	5 (6%)	3 (4%)	1 (5%)
95	0 (0%)	0 (0%)	14 (18%)	8 (12%)	3 (16%)
96	2 (29%)	0 (0%)	7 (9%)	5 (12%)	3 (16%)
Amostras Tipáveis	3 (49%)	7 (18%)	52 (66%)	47 (69%)	15 (79%)
Não-Tipáveis(**)	4 (51%)	32 (82%)	27 (34%)	21 (31%)	4 (21%)
Total	7 (100%)	39 (100%)	79 (100%)	68 (100%)	19 (100%)

(*) Nesta Tabela não consideramos fagótipos propriamente ditos. Às vezes, a reação da amostra se fez simultaneamente a mais de um dos Fagos Experimentais; isto ocorreu, por ex., numa certa frequência, com relação aos fagos 94 e 96. Desse modo o Total representa o número de amostras que foram submetidas aos Fagos Experimentais e não coincide necessariamente com o número de reações havidas.

(**) Neste caso, portanto, nem com o Conjunto Básico a que foram anteriormente submetidas.

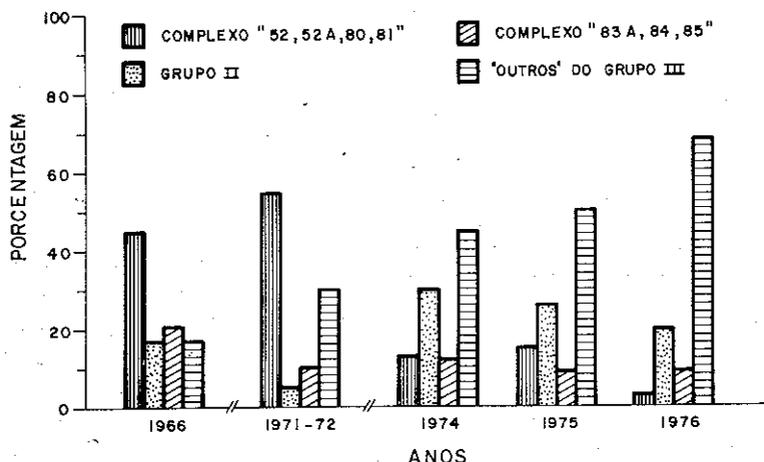


Fig. 2 — Evolução da prevalência de fagótipos obtidos pelo conjunto básico Ribeirão Preto, S.P. (Tabela II)

em 1966 (49%), foi pouco significativa em 1971-72 (18%). Mas, de 1974 a 1976, adquire importância crescente até atingir nível altamente significativo no final do período (respectivamente 66%, 69% e 79%); c) as proporções de reatividade individual dos Fagos Experimentais nos anos de 1974 a 1976 mostraram oscilações. Enquanto que os fagos 89, 90 e 96 mostram crescente reatividade (em maior nível para os dois primeiros), os fagos 86, 94 e 95 mantiveram-se em seus respectivos níveis (o fago 94 em nível bem mais baixo que os outros dois), mas o 92 mostrou reatividade decrescente; d) a contribuição dos Fagos Experimentais em aditamento ao Conjunto Básico para a tipabilidade das amostras (Tabela I) pareceu pouco significativa em 1966 e 1971-72 (respectivamente 6 e 12%) mas, a partir de 1974 se mantém num bom nível (respectivamente 36%, 35% e 28%).

Desse modo, o ano 1971-72 foi um período agudamente crítico, com as seguintes características:

A) A tipabilidade com o Conjunto Básico caiu ao nível excessivamente baixo de 34%.

B) O apelo aos Fagos Experimentais foi, entretanto, muito pouco frutífero: a) o número de Fagos Experimentais reagentes dentre os sete empregados (reatividade individual) foi o mais baixo do decênio: só o Fago Experimental 86 reagiu; b) a reatividade dos Fagos Experimentais em conjunto foi a mais baixa do decênio; c) a contribuição dos Fagos Experimentais, para a tipagem das amostras de outro modo não-tipáveis, foi a segunda mais baixa do decênio.

Nesse período, a responsabilidade do clássico complexo "52, 52A, 80, 81" atingiu seu mais alto nível no decênio daí para diante caindo acentuadamente. Verificou-se também a primeira elevação de proporção dos fagótipos "Outros" do Grupo III, tendência que deveria acentuar-se até o final do decênio. Por fim os fagótipos do Grupo II atingem seu mais baixo nível.

Durante todo o decênio, verificou-se que não houve erradicação dos antigos fagótipos, variando embora seu nível de prevalência.

Em linhas gerais, o fenômeno da deficiência do Conjunto Básico na tipabilidade das

amostras ocorrido em Ribeirão Preto foi verificado também em outras áreas geográficas, algumas com características peculiares⁶. Por essa razão, o Sub-Comitê Internacional conduziu oportunamente investigações (de que participaram Laboratórios Nacionais, inclusive o de Ribeirão Preto) no sentido da verificação do possível valor de vários bacteriófagos empregados em caráter experimental. Fundamentado nesses achados, o referido Sub-Comitê decidiu, em 1974⁷, elevar alguns dos fagos, até então experimentais, à categoria do Conjunto Básico (fagos 94,95 e 96), daí retirando os fagos inoperantes 42D e 187, que passaram à condição de extra.

Diante destas flutuações de reatividade com os diferentes fagos fica caracterizada a importância da liderança de um organismo como o Sub-Comitê Internacional no estabelecimento dos necessários controles, padronização, estudos e modificações de comprovada oportunidade.

SUMMARY

Evolution of the annual prevalence of hospital phage-types of *Staphylococcus aureus* in Ribeirão Preto, SP, Brasil, during the decennium 1966-1976

In 1966 the Basic Set of phages was capable of phage-typing more than 85% of the strains prevalent at that time. The reactivity to an Experimental Set of phages was very small. Following the 1971-72 critical year, in which the levels of typability were very low, the Basic Set of phages from 1974 onwards started regaining increasing importance, reaching more than 60% of typability of the strains prevalent at the end of that decennium. With the indispensable contribution of the good reactivity to the Experimental Set of phages, the total typability of the strains goes on increasing from 1974 onwards, reaching beyond the 85% level in 1976. The classic "52, 52A, 80, 81" Complex, which predominated in 1966 (and also in 1971-72), maintained itself at low levels from 1974 onwards. The "83A, 84, 85" Complex, which had been important in 1966, maintained itself at low levels during the rest of the decennium. The opposite occurred with the "other" Group III phage-types, whose increasing importance grew to achieve

predomination in 1976. Group II phage-types reached a level of some importance (30%) in 1974, decreasing, however, gradually till 1976. The reactivity of strains not reacting with the Basic Set of phages to the Experimental Set increased to a significant level in 1974, which maintained itself to the end of the decennium.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BLAIR, J. E. & WILLIAMS, R. E. O. — Phage typing of Staphylococci. *Bull. Wild. Hlth. Org.* 24: 771-784, 1961.
2. MELLO, E. T. de — Contribuição aos estudos das estafilococcias hospitalares, Ribeirão Preto, SP, 1971-1972. [Tese de doutoramento]. Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, USP, 1972.
3. PARKER, M. T.; ASHESHOV, E. H.; HEWITT, J. H.; NAKHALA, L. S. & BROCK B. M. — Endemic staphylococcal infection in hospitals. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 236: 466-484, 1974.
4. REPORT, 1967, Subcommittee on phage typing of staphylococci of the international committee on nomenclature of bacteria, Moscow, July, 1966. *Intern. J. Syst. Bacteriol.* 17: 113-125, 1967.
5. REPORT 1971, International Committee on nomenclature of bacteria: Subcommittee on phage typing of Staphylococci, Mexico, August, 1970. *Intern. J. Syst. Bacteriol.* 21: 165-170, 1971.
6. REPORT, 1973, International Subcommittee on phage-typing of Staphylococci, Typability of strains of *Staphylococcus aureus* isolated in fourteen countries. Document B, Sept., 1973.
7. REPORT 1970-1974 and Minutes of the 6th meeting (Sept., 1974), Brno, Czechoslovakia, International subcommittee on phage-typing of Staphylococci.
8. SOLÉ-VERNIN, C. — *Streptococcus pyogenes* carriers detection: preservation of original throat specimens and their enrichment. *Hospital (Rio)* 65: 765-784, 1964.
9. SOLÉ-VERNIN, C.; UTHIDA-TANAKA, A. M. & LIMA Fº, E. C. de — A study of hospital acquired staphylococcal diseases by means of phage typing in Ribeirão Preto, SP., Brazil. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 17: 32-37, 1975.

Recebido para publicação em 28/6/1977.