INSTITUTO DE HIGIENE DE SÃO PAULO
ESCOLA DE HIGIENE E SAUDE PÚBLICA DO ESTADO
DIRETOR: PROF. G. H. DE PAULA SOUZA

BOLETIM N. 78

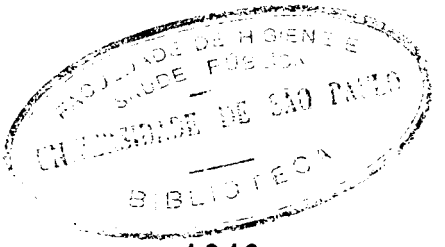
Variações sazonais de bacteriófagos tífico-paratíficos nas águas dos rios da cidade de São Paulo

DR. LUCAS DE ASSUMPÇÃO
Chefe de Serviço do Instituto de Higiene de São Paulo

HELENA LEITE E SILVA
Técnica da Seção de Bacteriologia do Instituto de Higiene de São Paulo

Separata dos
ARQUIVOS DE HIGIENE E SAUDE PÚBLICA
Publicação da Diretoria Geral do Departamento de Saude do Estado de São Paulo — Brasil

Ano VII — Janeiro de 1942 — N.º 14



1942
EMPRÊSA GRÁFICA DA "REVISTA DOS TRIBUNAIS" LTDA.
SÃO PAULO

VARIAÇÕES SAZONAIS DE BACTERIÓFAGOS TÍFICO-PARATÍFICOS NAS ÁGUAS DOS RIOS DA CIDADE DE S. PAULO

DR. LUCAS DE ASSUMPÇÃO
HELENA LEITE E SILVA

VARIAÇÕES SAZONAIS DE BACTERIÓFAGOS TÍFICO-PARATÍFICOS NAS ÁGUAS DOS RIOS DA CIDADE DE S. PAULO

DR. LUCAS DE ASSUMPÇÃO
Chefe de Serviço do Instituto de Higiene de S. Paulo.

HELENA LEITE E SILVA
Técnica da Secção de Bacteriologia do Instituto de Higiene de S. Paulo.

Em trabalho anterior, feito por um de nós (Assumpção) (1) em colaboração com Rodovalho, tivemos ocasião de verificar a presença de bacteriófagos virulentos para o grupo coli-tífico-disentérico nas águas dos rios Tietê e Pinheiros, como tambem nas águas dos mananciais do abastecimento público de S. Paulo.

Ainda neste trabalho ficou observado que a ação bactericida do cloro líquido — processo adotado em S. Paulo para tratamento das águas do abastecimento público — diminue em média pouco mais de 90% o número de bactérias e aproximadamente nessa proporção o teor dos bacteriófagos.

Sendo um fato conhecido, que a presença, nas águas, de bacteriófagos para o grupo coli-tífico-disentérico (assim como nas fezes dos homens) está mais ou menos sujeita a variações sazonais, quizemos fazer essa verificação entre nós.

* * *

As febres tifóide e paratifóides são doenças endêmicas na cidade de S. Paulo, apresentando exacerbações epidêmicas de espaço a espaço.

Consultando trabalhos de Borges Vieira (2-3) sobre os caracteres epidemiológicos dessas doenças em S. Paulo, vemos ser a sua maior incidência nos meses quentes, a menor nos meses frios e que os meses quentes correspondem às épocas das chuvas, constituindo, este fato, um indício a favor da transmissão hídrica de febre tifóide entre nós.

* * *

Os principais rios de S. Paulo são o Tietê e o Pinheiros.

Durante um ano, de ~~agosto~~ julho de 1935 a junho de 1936, foram colhidas duas amostras por mês, sempre no mesmo dia e lugar, ao nivel das maiores pontes sob as quais passam esses rios no perímetro da cidade.

A técnica seguida na pesquisa dos bacteriófagos tífico-paratíficos foi a mesma já detalhadamente descrita no trabalho acima citado de Assumpção e Rodovalho.

Resumidamente ela consta do seguinte:

a) Colheida do material em frascos estereis;

b) Em balão com 90 c.c. da água a examinar juntar 10 c.c. de água peptonada concentrada a 10%;

c) Incubar em estufa a 37° durante 48 horas;

d) Centrifugar a cultura e em seguida filtrar em vela Chamberland L 3;

e) Verificar a esterilidade do filtrado, e

f) Pesquisa dos bacteriófagos.

A pesquisa dos bacteriófagos é feita pela verificação da lise em meio liquido, após incubação de 24 horas em estufa a 37° do filtrado e uma suspensão das bactérias das quais se quer verificar a lise, passando-se em seguida uma alça dessa cultura em estria no centro de um tubo de gelose inclinada, que tambem vai para a estufa a 37° durante 24 horas. Em ambos os casos há um tubo testemunha da cultura sem o filtrado, para o confronto. Os resultados são assinalados por números, de acordo com a intensidade da lise, e no resultado final só são computados os números da leitura em gelose, da seguinte maneira:

0 — Cultura homogênea, semelhante à do tubo testemunha;

1 — Cultura ligeiramente rugosa ao longo de toda a estria, com raras zonas claras ou com bordas franjadas;

2 — Cultura rugosa ao longo da estria; numerosas zonas claras e colônias atípicas;

3 — Cultura interrompida apresentando grandes espaços claros e colônias atípicas;

4 — Raras colônias atípicas, e

5 — Nenhuma colônia, ficando o meio com aparência de esteril.

Na verificação dos bacteriófagos tífico-paratíficos deste trabalho foram tomadas sempre as mesmas raças de bacilos tíficos e paratíficos A e B, escolhidas entre as bens sensiveis à ação lítica de bacteriófagos homólogos (raças lisaveis, mas não lisógenas): quatro raças de *E. typhosa*, duas de *Salmonella Schottmuelléri* e duas de *Salmonella paratyphi*.

Apresentamos em seguida dois quadros, um do rio Tietê e outro do rio Pinheiros. Esses quadros resumem as variações sazonais dos bacteriófagos tífico e paratíficos A e B, a incidência dessas moléstias e os dados meteorológicos. Apresentamos tambem dois gráficos: gráfico 1, em que se vêem as curvas da presença dos bacteriófagos tífico-paratíficos nas águas dos rios Tietê e Pinheiros em confronto com as curvas de casos de febres tifóide e paratifóides notificados na cidade de S. Paulo; gráfico 2, mostrando as relações entre a presença dos bacteriófagos tíficos e paratíficos e a queda pluviométrica mensal.

RIO TIETÊ

Quadro mostrando as variações sazonais dos bacteriófagos tífico e paratíficos A e B, a incidência dessas moléstias e dados meteorológicos

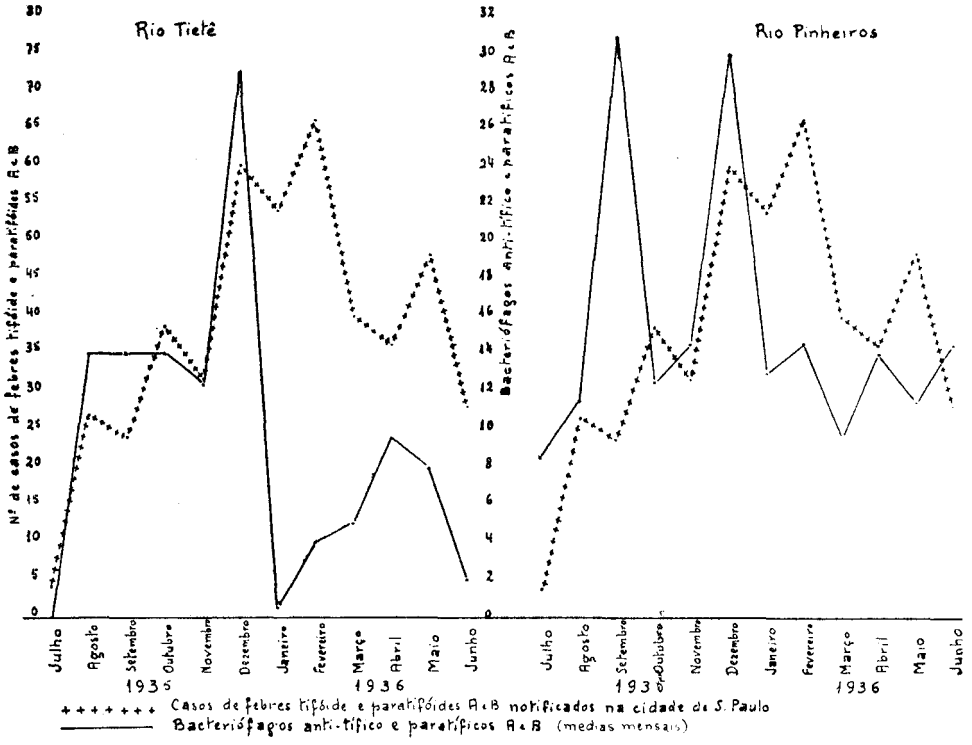
1935 1936	N.º de exames mensais	Média mensal da presença de bacteriófagos tífico e paratíficos, pesquisados em 4 raças de E. typhosa, 2 de S. schottmuelleri e 2 de S. paratyphi.	N.º de casos de febres tifóide e paratifóides A e B notificados na cidade de S. Paulo, no período estudado.	Temperatura média mensal	Queda pluviométrica mensal
Julho	2	0	4	16,6	52,3
Agosto	2	14	27	15,9	53,3
Setembro	2	14	24	17,0	219,9
Outubro	2	14	38	18,2	187,7
Novembro	2	12,5	32	19,3	58,1
Dezembro	2	29	60	21,8	151,3
Janeiro	2	0,50	54	21,2	150,5
Fevereiro	2	4	66	19,6	163,7
Março	2	5	40	19,5	229,1
Abril	2	9,5	36	18,5	23,1
Maio	2	8	48	18,8	57,0
Junho	2	2	28	16,8	4,1

RIO PINHEIROS

Quadro mostrando as varaições sazonais dos bacteriófagos tífico e paratíficos A e B, a incidência dessas moléstias e dados meteorológicos

1935 1936	N.º de exames mensais	Média mensal da presença de bacteriófagos tífico e paratíficos, pesquisados em 4 raças de E. typhosa, 2 de S. schottmuelleri e 2 de S. paratyphi.	N.º de casos de febres tifóide e paratifóides A e B notificados na cidade de S. Paulo, no período estudado.	Temperatura média mensal	Queda pluviométrica mensal
Julho	2	8,5	4	16,6	52,3
Agosto	2	11,5	27	15,9	53,3
Setembro	2	30,0	24	17,0	219,9
Outubro	2	12,5	38	18,2	187,7
Novembro	2	14,5	32	19,3	58,1
Dezembro	2	30,0	60	21,8	151,3
Janeiro	2	7,0	54	21,2	150,5
Fevereiro	2	14,5	66	19,6	163,7
Março	2	9,5	40	19,5	229,1
Abril	2	14,0	36	18,5	23,1
Maio	2	11,5	48	18,8	57,0
Junho	2	14,5	28	16,8	4,1

GRAFICO 1

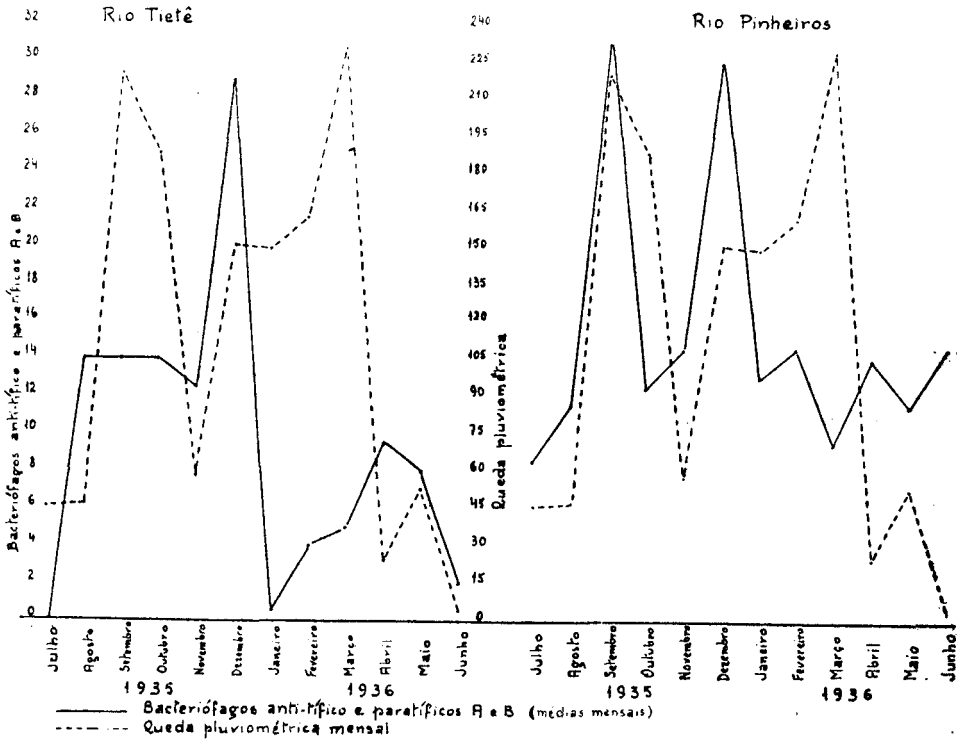


RIO TIETÊ

Na parte referente ao rio Tietê o gráfico 1 — que resume os casos de febres tifóide e paratifóides e bacteriófagos antitífico e antiparatíficos — nos mostra constante aumento de bacteriófagos assim como de casos de febres tifóide e paratifóides nos meses de agosto, setembro, outubro e novembro e dezembro de 1935, havendo paralelismo entre as duas curvas nesses meses; mas, ao passo que a curva de casos se mantem e em seguida mais se eleva nos meses de dezembro (1935), janeiro e fevereiro (1936), atingindo o máximo, a curva dos bacteriófagos cai bruscamente em janeiro, tornando-se quasi impesquisavel, para em seguida ir aumentando ligeiramente até abril, quando o número de casos vai diminuindo até esse mês.

No gráfico 2, em que são apresentadas as curvas de bacteriófagos e queda pluviométrica mensal, no rio Tietê, vê-se, nos meses de janeiro, fevereiro e março, que correspondem a um período de abundantes chuvas, que estas, pelo seu volume, diluem os bacteriófagos, o que tambem se observa em menor proporção nos meses de agosto e setembro (1935) em que a curva da queda pluviométrica se eleva bruscamente, enquanto estaciona a curva dos bacteróifagos, que de julho a agosto se vinha elevando. A diminuição brusca das chuvas em outubro e novembro é seguida de um aumento, tambem brusco, dos bacteriófagos.

GRAFICO 2



RIO PINHEIROS

Estudando-se os casos de febres tifóide e paratifóides e a presença no rio Pinheiros dos respectivos bacteriófagos, vemos no gráfico 1 que nos meses de agosto a setembro (1935) houve um aumento brusco de bacteriófagos nas suas águas, ao passo que a incidência de casos, embora em aumento, é baixa. Em outubro houve uma queda brusca dos bacteriófagos com um ligeiro aumento de casos. Em novembro e dezembro (1935) novamente as águas desse rio nos mostram grande aumento de bacteriófago como tambem cresce o número de casos; mas, ao passo que a incidência de casos se mantem e mais se eleva nos meses de dezembro (1935), janeiro e fevereiro (1936), a presença de bacteriófagos durante esses meses cai bruscamente, mantendo-se baixa, devido às chuvas abundantes desses meses, como se pode ver no gráfico 2.

Em março e abril há um declínio brusco de casos, com ligeiro aumento de bacteriófagos, que diminue novamente em maio, correspondendo a um novo aumento de casos nesse mês.

Vê-se no gráfico 2 que à curva em declínio da queda pluviométrica se opõe a dos bacteriófagos em ascensão.

A curva dos bacteriófagos neste rio mostra-se mais elevada do que a do rio Tietê, vendo-se nela, tambem, menor influência das chuvas e uma certa irregularidade. É possivel ser isto devido a que o rio Pinheiros tem todo o seu percurso na Capital, e que no seu leito vêm sendo feitos trabalhos de retificação, o que, naturalmente, perturba o curso das suas águas, concorrendo, tambem, para maior concentração das águas de esgoto que recebe.

COMENTÁRIOS

O conhecimento da presença de princípios bacteriolíticos filtraveis em águas pluviais, antecedeu 20 anos os trabalhos de Twort e de D'Herrelle sobre Bacteriófago.

Foi em 1896 que Hankin assinalou nas águas dos rios Jumma e Ganges a presença de um princípio misterioso, de ação bactericida para o vibrião colérico e que atravessava os filtros que retinham as bactérias.

A presença desses princípios bacteriolíticos filtraveis tem preocupado os bacteriologistas e higienistas sobre a sua importância nas águas suspeitas de contaminação.

Sabe-se que no tocante às águas de abastecimento público, o índice coli é o principal critério no julgamento de sua qualidade; no entanto, a ausência do colibacilo ou de outras bactérias intestinais patogênicas n'uma água não prova, de maneira absoluta, que tal água não tenha sido poluida. O bacilo coli, como outros bacilos da flora intestinal, pode estar lisado pelo bacteriófago e não ser possivel revelá-lo pela técnica comum. Portanto, a presença dos bacteriófagos para o grupo coli-tífico-disentérico pode nos levar à suspeita de poluição fecal de uma água, mesmo que nela não se encontrem essas bactérias.

Vimos, no trabalho citado de Assumpção e Rodovalho, que bacteriófagos bem ativos para o grupo coli-tífico-disentérico foram encontrados não só nas águas dos rios Tietê e Pinheiros, como tambem nas águas dos mananciais que abastecem a cidade de São Paulo, e que estas ainda os revelavam após o seu tratamento (que é feito pela coagulação pelo sulfato de alumínio, sedimentação, filtração rápida em areia e cloração).

Essa presença de bacteriófagos nas águas do abastecimento público, nos faz lembrar outro assunto digno de atenção. E' que o bacteriófago, principalmente para o grupo coli-tífico-disentérico, na sua ação lítica sobre essas bactérias, nem sempre as destrói. Algumas vezes há o aparecimento de formas bacterianas típicas, provindas das protobactérias de D'Herelle, que são as formas filtraveis, invisiveis, que se encontram nos seus lisados, e cujos estudos têm sido feitos principalmente por D'Herelle (1921), Izar (1921), Tomaselli (1922) e nos importantes trabalhos de Handuroy (1923-1926), etc..

Estes assuntos são muito interessantes e nós apenas os enunciamos.

Pasricha, Monte e Gupta (1931) (4-5-6) fizeram pesquisas nas águas naturais de Calcutá e em fezes humanas, referentes a variações sazonais do bacteriófago para *V. comma, E. typhosa* e *Shigella dysenteriae* e *paradysenteriae*, visto serem cólera, febre tifóide e disenterias doenças endêmicas nessa cidade. Esses autores verificaram que os bacteriófagos presentes nas águas acompanhavam a incidência dessas moléstias; e que, tambem, seguiam paralelas as curvas, com excepção dos dois meses de máximas chuvas em que a curva dos bacteriófagos caía bruscamente, isto devido, tão só, a uma diluição pelo grande volume das águas. Nas fezes, tambem, verificaram que bacteriófagos ativos para o vibrião colérico e grupo tífico-paratífico estavam presentes em muito maior proporção nos períodos de maior incidência das infeções provocadas por essas bactérias.

Shunkichi Ôhashi (1939) (7), em Shangai (China), estudando a fago-ocorrência nas fezes de animais e em moscas, observou nítida incidência sazonal, com maior frequência de bacteriófagos na primavera, verão e outono, e grande diminuição no inverno. Estas pesquisas foram feitas em relação a bacteriófagos para os bacilos do grupo coli-tífico-disentérico, mas o autor não fez a menor referência á parte epidemiológica.

Vaccaro, Pérez, Matus e Cooper G. (1941) (8), em estudos feitos em Santiago (Chile) sobre o bacteriófago nas águas do rio Mapocho, verificaram que o poder lítico das águas desse rio é influenciado pelas condições meteorológicas:

que nos períodos da estação quente é mais frequente a presença de bacteriófagos tífico-paratíficos; que não lhes foi possivel verficar um paralelismo entre bacteriófagos para os germes intestinais com a epidemiologia; e que, nos dias chuvosos ou imediatamente depois, havia ausência de corpúsculos líticos que reapareciam nos dias de sol.

No trabalho que acabamos de fazer, vemos que os bacteriófagos tífico-paratíficos nas águas dos rios Tietê e Pinheiros apresentam um regular paralelismo com a epidemiologia dessas infeções, sofrendo, com elas, uma apreciavel diferença estacional, fatos igualmente observados nos trabalhos de Pasricha, Monte e Gupta. No entanto, Vaccaro e seus colaboradores não encontraram paralelismo entre bacteriófagos e a epidemiologia.

De fato, o que nos parece, pelos trabalhos citados e de acordo com as nossas experiências sôbre o assunto, é que a presença de bacteriófagos tífico, paratíficos, disentéricos e colérico, nas águas de rios, independe de condições metereológicas. Se apresentam variações sazonais, isto se relaciona com a epidemiologia dessas infeções. Estas é que sofrem variações estacionais. São os doentes, os convalescentes e os portadores desses bacteriófagos que os espalham na natureza.

Nos trabalhos de Parischa, Monte e Gupta as fezes de grande número de pessoas doentes de cólera, tifo e disenteria foram examinadas (403 em 1 ano) e os respectivos bacteriófagos foram encontrados em maior percentagem no período em que é mais elevado o número de casos; daí concluirem que esses fagos variam na natureza com a incidência dessas infeções, sendo dificil isolá-los fora da época epidêmica.

Entre nós, por exemplo, não existe nas águas dos nossos rios bacteriófagos anti-colérico (Assunção e Rodovalho), pela não existência de cólera no nosso meio; mas, se existisse, deveria apresentar variações sazonais de acordo com a epidemiologia dessa infeção, como Pasricha, Monte e Gupta verificaram na Índia.

RESUMO E CONCLUSÕES

I — O período de maior incidência das febres tifóide e paratifóides A e B é, em S. Paulo, tipicamente na estação quente, vendo-se, tambem, pelos dados meteorológicos apresentados, a sua correspondência com a época das chuvas.

II — Bacteriófagos tífico-paratíficos A e B, praticamente, podem ser isolados das águas dos rios Tietê e Pinheiros durante todo o ano, mas com dificuldade nos meses frios.

III — Embora a pesquisa desses bacteriófagos tenha sido feita com raças selecionadas (bem lisaveis, mas não lisógenas), assim mesmo umas se mostraram mais sensiveis à lise que outras, variando às vezes essa sensibilidade de um exame para o outro.

IV — Os bacteriófagos tífico-paratíficos A e B foram encontrados em maior concentração no rio Pinheiros do que no rio Tietê.

V — A atividade lítica das águas dos rios Tietê e Pinheiros para os bacilos tífico-paratíficos, diminue nos períodos frios e aumenta na estação quente do ano.

VI — A época das chuvas em S. Paulo é na estação quente e os bacteriófagos tífico-paratíficos vão aumentando no início das chuvas de acordo com a incidência dessas infeções; contudo, precisamente na epoca das maiores chuvas — que corresponde à maior incidência dessas infeções — há queda brusca desses bacteriófagos, mas essa queda indica apenas a sua diminuição relativa, por serem eles diluidos no grande volume das águas.

VII — A diminuição dos bacteriófagos tífico-paratíficos nos períodos frios e o seu aumento na estação quente, são fatos que não dependem das condições

meteorológicas, mas sim da maior incidência das infeções tífico-paratíficas nas estações quentes do ano, trazendo como consequência um aumento desses bacteriófagos na natureza. Portanto, as variações sazonais desses bacteriófagos nas águas dos rios estudados observam-se em consequência às variações estacionais das infeções tífico-paratíficas.

SUMMARY AND CONCLUSIONS

1. The period of greater incidence of typhoid and para-typhoid A and B fever in S. Paulo is markedly in the summer months. The meteorological data observed show that this period coincides also with the rainy season.

2. Typhoid and para-typhoid A and B bacteriophages can be isolated from the rivers Tietê and Pinheiros all the year around but only with difficulty during the winter months.

3. Although the investigations on the bacteriophage have been made with selected races some were more sensible to lysis than others while this sensibility may vary from one test to the other.

4. Typhoid and para-typhoid A and B bacteriophages were found in greater concentrations in the Pinheiros than in the Tietê river.

5. The lytic action of the waters of both rivers on the typhoid and para-typhoid bacilli decreases during the cold and increases during the warm months.

6. The rainy season in S. Paulo coincides with the warm months and the typhoid and para-typhoid bacteriphages grow more numerous, from the beginning of the rains, in accordance with the incidence of these infections. However, exactly at the time of the heavier rains — which is the period of highest incidence of these infections — there is a sudden fall in the number of these bacteriophages, which however is relative, depending on the grater volume of the water.

7. The decrease in the number of the typhoid and para-typhoid bacteriophages during the cold months and their increase during the warm season does not depend on meteorological factors, but only on the greater incidence of typhoid and para-typhoid infections in the warm months with a consequent increase in the number of the bacteriophages in nature.

Therefore the seasonal variations of the number of bacteriophages in the rivers obseéved depends on the seasonal variations in the incidence of typhoid and para-typhoid infections.

BIBLIOGRAFIA

1) ASSUMPÇÃO, L., e RODAVALHO, O. — **O bacteriófago nas águas dos rios e reservatórios do abastecimento público da cidade de S. Paulo** — Revista da Associação Paulista de Medicina. 1933. Vol. III. N. 6. Dezembro. Pgs. 311/331.

2) BORGES VIEIRA, F. — **Febre tifóide em S. Paulo 1924/25 — Estudo Epidemiológico** — Anais da Faculdade de Medicina de S. Paulo. Vol. 1. 1926.

3) BORGES VIEIRA, F. — **Epidemiologia de febre tifóide em S. Paulo** — Accion Médica. Buenos Aires. Mayo, 30 de 1934. pgs. 399/416.

4) PASRICHA, C. L., MONTE, A. J. e GUPTA, S. K. — **Seasonal variations of cholera bacteriophage in natural waters and in man, in Calcutta during the year 1930** — Indian Med. Gaz. 1931. Vol. LXVI, n. 10, pgs. 543 a 546.

5) PASRICHA, C. L., MONTE, A. J. e GUPTA, S. K. — **Seasonal variations waters of dysentery bacteriophages in natural waters and in man, in Calcutta during the year 1930** — Indian Med. Gaz. 1931, vol. LXVI, n. 10, pgs. 546/549.

6) PASRICHA, C. L., MONTE, A. J. e GUPTA, S. K. — **Seasonal variations of typhoid bacteriophage in natural waters and in man, in Calcutta during the year 1930** — Indian Med. Gaz. 1931, n. 10, pags. 549/550.

7) ÔHASHI, S. — **Seasonal Change of the Bacteriophag. — Occurrence in Feces of Animal and in Flies** — The Jour. of the Shanghai Sience Inst. Section IV, vol. 4 (pags. 141/150) May, 1939 (Separate print N.º 8.)

8) VACCARO, H., MATUS, M. P. e G. COOPER, T. — **El bacteriofago en las aguas del rio Mapocho** — Apartado de la Revista Chilena de Higiene y Medicina Preventiva, 1941, vol. 4, pgs. 81/92.