

**LA LISOTÍPIA. DESCOBERTA D'UN NOU LISOTIP
DEL B. D'EBERTH A BARCELONA**

Comunicació presentada el dia 18 de febrer de 1964 pel doctor

J. VIDAL TORT

Diplomat en Bacteriologia a l'*Institut Pasteur* de Paris

I. *Introducció.* — És innegable la utilitat del diagnòstic bacteriològic en els estudis epidemiològics. És evident que la primera qüestió que es posa quan es presenta, per exemple, un brot de febre tifoidea és d'establir si aquesta malaltia és deguda al bacil tífic veritable o a una altra salmonella. Per consegüent, en l'epidemiologia d'una regió s'ha de separar curament allò que és degut a un germen d'allò que és degut a d'altres. Aquesta discriminació és el punt de partida de tota enquesta epidemiològica. Evidentment, cal excloure tota filiació entre casos deguts al bacil tífic i els deguts al paratífus B. Al contrari, hom podrà pensar en la possibilitat de relació entre els casos de febre deguda al bacil tífic presentats en una regió, i igualment entre els casos de febre produïda pel paratífus B, etc.

Imaginem que una determinada espècie bacteriana es pogués dividir en diferents varietats estables i fàcils de reconèixer. El diagnòstic de la varietat o les varietats presents tindrà per a l'epidemiòleg un interès tan gran com el diagnòstic de l'espècie. En l'estudi epidemiològic d'una regió les diferents varietats trobades indicaran com a mínim un nombre igual de distintes fonts de contaminació. A més, hom podrà determinar quins són els casos en què es pugui pensar en una filiació, si no segura, almenys possible (casos pertanyents a una mateixa varietat) i aquells en què cal excloure tota relació (els pertanyents a varietats distintes).

Els diferents procediments de subdivisió basats en característiques de cultiu, bioquímiques o serològiques assajades en certes espècies bacterianes (b. d'Eberth, paratífus, etc.) no aconsegueixen resultats pràctics apreciables. Així, per a fins epidemiològics especialment, ha semblat interessant de cercar altres procediments de subdivisió d'aquestes espècies.

Això ha estat aconseguit utilitzant l'extraordinària diversitat d'acció dels bacteriòfags. El procediment que consisteix a subdividir una espècie bacteriana mitjançant la seva sensibilitat als bacteriòfags és la denominada lisotípia (*Phage typing* dels autors anglesos).

II. *La lisotípia.* — Si diferents cultius d'una mateixa espècie bacteriana es posen en contacte amb un bacteriòfag apropiat, hom comprova generalment que certs cultius són molt sensibles a aquest bacteriòfag, mentre

que d'altres ho són molt poc, o hi són completament refractaris.

Per mitjà d'un sol bacteriòfag, els cultius de l'espècie examinada es podrien, per tant, dividir en dos grups: el grup dels cultius sensibles i el dels refractaris. Es comprèn fàcilment que si hom utilitza, no pas un sol bacteriòfag, sinó diversos, posseint cada un la seva gamma d'activitat pròpia, la possibilitat de divisió de l'espècie en diversos grups serà molt més àmplia.

La utilització d'aquesta varietat de sensibilitats als bacteriòfags entre les diverses soques d'una mateixa espècie bacteriana per a dividir-les en diferents subvarietats, és el fonament de la lisotípia, i les varietats així individualitzades són els denominats lisotips.

Tècnica de la lisotípia. — Generalment, l'acció dels diferents bacteriòfags es posa de manifest sobre un cultiu en medi sòlid. D'una manera habitual s'utilitza l'agar ordinari en plaques de Petri. Sobre cada placa s'assenyalen diferents espais destinats a rebre els bacteriòfags, i s'utilitzen per a cada cultiu un nombre variable de plaques segons els bacteriòfags en joc. Hom sembla cada placa per extensió sobre tota la superfície, amb un cultiu en medi líquid (4-5 gotes són suficients), i una vegada tot el líquid absorbit, es dispositen en cada espai numerat les gotes del bacteriòfag a utilitzar. Les plaques són incubades a l'estufa, i la lectura es realitza després d'un temps variable, generalment entre 8 i 18 hores. L'acció de cada bacteriòfag serà demostrada per una lisi més o menys intensa del cultiu.

Un determinat cultiu mostrarà una certa *imatge de reacció als bacteriòfags*. D'altres cultius podran presentar la mateixa imatge: seran del mateix lisotip, o bé una imatge diferent; pertanyeran a lisotips diferents.

Interès de la lisotípia. — L'interès de la lisotípia és múltiple. En primer lloc, és un mètode que pot rendir grans serveis en epidemiologia, tant en el pla regional, per a determinar la relació entre diverses fonts d'infecció, la unicitat o multiplicitat d'aquestes, el control de portadors de gèrmens, etcètera, com en el pla mundial, en què l'estudi bacteriofàgic del bacil tífic i dels paratífics, per exemple, en diversos països ha demostrat que, si bé les infeccions tifoparatífiques són clínicament homogènies a tot el món, els gèrmens que les provoquen són molt sovint netament diferents per llurs caràcters lisotípics. Així s'han identificat des dels lisotips totalment o parcialment ubiqüitaris als característics d'una regió o país.

D'altra banda, la lisotípia ofereix un gran interès teòric. Ens permet d'estudiar les raons de la sensibilitat o resistència de les bactèries, el paper determinant en aquest fenomen de certs bacteriòfags, etc. Enunciem simplement aquestes qüestions que sobrepassen els límits d'aquest treball.

III. *La lisotípia del b. d'Eberth.* — Existeixen lisotips per a nombroses espècies bacterianes: estafilococ, piociànic, *S. typhi murium*, *E. coli* GEI, paratífus A, paratífus B, etc., però la més ben estudiada en l'actualitat i la que dóna resultats més precisos i útils per a l'epidemiologia és sens dubte la lisotípia de la *S. typhi*, realitzada seguint la tècnica descrita per CRAIGIE i FÈLIX.

Abans del treball dels autors citats, les temptatives de la lisotípia del bacil tífic no havien estat gaire prometedores mentre foren utilitzats bacteriòfags de procedència indeterminada. Però la situació varià totalment en utilitzar preparacions diversament adaptades del bacteriòfag Vi II (bacteriòfag aïllat entre els bacteriòfags Vi, és a dir, que són solament actius en presència d'aquest antigen, i que s'ha mostrat dotat d'una gran capacitat d'adaptació).

Adaptant-lo sobre un gran nombre de cultius de *S. typhi* CRAIGIE i YEN, en 1938, obtingueren en principi 18 lisotips diferents. El 1947, CRAIGIE i FÈLIX augmentaren aquest nombre fins a 24, i el 1953, a 33. La taula publicada el 1955 en conté 44 (Taula I), i en l'actualitat la lisotípia del *b. d'Eberth* comporta més de 60 varietats distintes.

Per altra part, un cert nombre de cultius Vi positius no són sensibles a cap dels bacteriòfags adaptats del Vi II, però ho són als bacteriòfags Vi I o Vi IV o tots dos. Aquests cultius formen el grup I + IV, que conté probablement alguns lisotips per als quals no s'han obtingut encara preparacions adaptades del bacteriòfag Vi II. En epidemiologia, el grup I + IV rendeix el mateix servei que un lisotip veritable.

La sensibilitat dels diferents lisotips als bacteriòfags homòlegs o heteròlegs és molt variable; existeixen des dels que són d'una especificitat extrema fins als que, ultra donar reaccions enfront dels bacteriòfags específics, ho fan amb tots o gairebé tots els bacteriòfags heteròlegs. En aquests casos el diagnòstic del lisotip és molt difícil.

Aquests cultius són molt pròxims als que FÈLIX va denominar «no caracteritzables. Vi degradats». Aquest terme, no gaire afortunat, sembla indicar una degradació en valor antigènic, quan en realitat vol significar «cultius degradats en la resistència als bacteriòfags heteròlegs». Ha estat proposat (NICOLLE) per a aquests cultius el terme «alienosensible», que n'expressa bé el significat. Un germen alienosensible és, per tant, el que reacciona enfront dels bacteriòfags heteròlegs amb tanta intensitat, que impedeix un diagnòstic cert.

Com indicàvem en parlar de l'epidemiologia, la distribució dels lisotips des del punt de vista geogràfic presenta diferències considerables. Determinats lisotips són parcialment o totalment ubiqüaris: A₁, B₁, B₃,

C₁, D₁, D₄, E_{1a}, F₁, N, O, T, 28, 29, I + IV, i el grup dels alienosensibles.

TAULA II

	1954	1955	1956	1957	Total
A	14	14	10	4	42
B ₂	3			1	4
C ₁	13	5	6	4	28
C ₂ (30)	1				1
D ₁	3		1		4
D ₄		1			1
D ₆	1				1
E ₁	24	23	8	5	60
E ₄	1	2		5	8
G	1	2	1		4
N	6	2	3	4	15
T	1		8		9
29	2			1	3
I + IV	4	3	1	4	12
S. typhi (Vi-)	7				7
n.c. (Vi deg.)	14	23	18	4	59
	95	75	56	32	258

D'altres, en canvi, no es troben habitualment sinó a certes regions: D₂ a Indonèsia; E_{1b}, Alemanya; E₂, Indonèsia; E₄, Canadà; C₄, ex AOF; D₆, Àsia i Àfrica; G, molt rar a Europa (alguns casos observats a Barcelona), habitual dels països de l'Oceà Índic i d'Extrem Orient; L₁ i L₂, Àfrica del Nord (Marroc); M, Extrem Orient i Amèrica del Sud; 25, Indonèsia; 26, Amèrica, etc.

Assenyalem novament l'interès que presenta aquest estudi des del punt de vista epidemiològic mundial.

Limitis de la lisotípia i millores possibles. — Quan en una regió el nombre de lisotips presents és molt petit, o certs d'ells predominen en una gran majoria, és evident que l'eficàcia de la lisotípia queda molt limitada. Així, hom ha intentat de subdividir els lisotips més freqüents per tal d'augmentar les possibilitats del mètode. Per al bacil tífic s'han aprofitat certes propietats bioquímiques, subdividint-se en la pràctica en dues varietats: varietat I, que fermenta la xilosa, i varietat II, que no l'ataca.

La combinació de la quimiotípia i la lisotípia permet, per tant, d'ampliar les possibilitats de classificació amb la divisió binària de certs lisotips.

Diversos autors han proposat diferents lisotípies complementàries utilitzant d'altres bacteriòfags. Aquests mètodes es troben en estudi, i hom pot esperar-ne que puguin complementar d'una manera eficaç la tècnica de CRAIGIE i FÈLIX.

IV. *La lisotípia del b. d'Eberth a Barcelona.* — De 1954 a 1957 han estat examinats al Centre de Lisotípia de l'Institut Pasteur de París, 258 cultius de *S. typhi* procedents de Barcelona. La distribució per anys i varietats és indicada a la taula II, i el percentatge dels lisotips identificats, a la taula III. L'estudi bioquímic és assenyalat a la taula IV.

TAULA III

E ₄	23,25 %	Vi-	2,71
n.c. (Vi d.)	22,86	B ₂	1,55
A	16,27	D ₁	1,55
C ₁	10,85	G	1,55
N	5,81	29	1,16
I + IV	4,65	C ₂ (30)	0,38
T	3,48	D ₄	0,38
E ₄	3,10	D ₆	0,38

Dels resultats obtinguts destaquen els fets següents:

Diversitat de lisotips. — Sense ésser extraordinàriament abundant, hom ha observat una varietat de lisotips relativament àmplia, cosa, d'altra banda, fàcilment explicable per la situació de Barcelona i el seu tràfic constant.

TAULA IV

	1954		1955		1956		1957		Total	
	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II
A	12	2	12	2	7	3	3	1	34	8
B ₂		3						1		4
C ₁	13				6		4		28	
C ₂ (30)	1		5						1	
D ₁	3				1				4	
D ₄			1						1	
D ₆	1								1	
E ₁	23	1	23		8		5		59	1
E ₄	1		2				4	1	7	1
G	1		2		1				4	
N	3	3	1	1	1	2	4		9	6
T	1				8				9	2
29		2					1		1	2
I + IV	4		3		1		4		12	
<i>S. typhi</i> (Vi-)	7								7	
n.c. (Vi deg.)	6	8	12	11	8	10	1	3	27	32
	76	19	61	14	41	15	26	6	204	56

Abundància de cultius n. c. (Vi deg). — És curiós el fet que a Espanya, a l'igual dels països àrabs i en particular als de la zona mediterrània, s'identifiqui un percentatge elevat de cultius alienosensibles.

Freqüència dels lisotips. — Els més freqüents són els de distribució ubiqüitària i que es troben també als altres països d'Europa. En proporció menor han estat identificats lisotips no habituals al nostre continent, i és interessant d'assenyalar la relativa freqüència —3,10 %— del lisotip E₄ trobat fins ara gairebé exclusivament a l'Amèrica del Nord, i la presència d'alguns cultius del lisotip G, habitual dels països de l'Oceà Índic i molt rar a Europa. En petita proporció s'han identificat d'altres lisotips exòtics (30, D6).

Descoberta d'un nou lisotip. — Ultra els lisotips assenyalats anteriorment, s'han aïllat alguns cultius de *S. typhi* no pertanyents a cap lisotip conegut anteriorment.

L'adaptació del bacteriòfag Vi II a aquests gèrmens ha permès la identificació d'un lisotip nou, acceptat internacionalment el 1960 com el lisotip 46 (NICOLLE, VIDAL-TORT i BRAULT).