

CARACTERIZAÇÃO SOROLÓGICA DE *FLAVOBACTERIUM* *MENINGOSEPTICUM**

Tânia Mara Ibelli VAZ **
Kinue IRINO**
Chifumi Takeuchi CALZADA**
Célia Rodrigues GONÇALVES**

RIALA6/680

VAZ, T.M.I.; IRINO, K; CALZADA, C.T. & GONÇALVES, C.R. - Caracterização sorológica de *Flavobacterium meningosepticum*. Rev. Inst. Adolfo Lutz, 49 (2):207-211, 1989.

RESUMO: 22 cepas de *Flavobacterium meningosepticum*, sendo 19 isoladas de líquido cefalorraquidiano, 2 de sangue e 1 de secreção traqueal, de diferentes procedências, foram sorotipadas por aglutinação em lâmina, utilizando soros somáticos específicos, preparados segundo o método descrito por RICHARD et alii. As cepas, isoladas na sua grande maioria de crianças recém-nascidas, foram classificadas em 6 sorotipos, sendo o sorotipo C o mais freqüente, seguido de F, B, D, H e O. A meningite neonatal, embora de ocorrência rara, é uma doença de alta letalidade que deixa graves seqüelas. A caracterização das cepas responsáveis pelos surtos epidêmicos ocorridos nos diversos países tem sido realizada pela identificação dos sorotipos, que são principais marcadores epidemiológicos de *F. meningosepticum*.

DESCRIPTORES: *Flavobacterium meningosepticum*, sorotipos, meningite neonatal.

INTRODUÇÃO

Bacilos Gram negativos, aeróbios estritos, anteriormente conhecidos como Grupo IIa até a sua classificação como *F. meningosepticum*, proposta por KING em 1959¹¹, estão presentes no solo, água e ambiente hospitalar. Caracterizam-se por serem sensíveis aos antibióticos normalmente utilizados nas enfermidades por bactérias Gram positivas, sendo sobretudo sensíveis à eritromicina e à vancomicina^{1,13,16,18}. A principal infecção causada por este agente está relacionada à meningite em recém-nascidos ou prematuros. Surtos epidêmicos de meningite neonatal, que se caracteriza por apresentar alta taxa de mortalidade e deixar graves seqüelas, foram descritos por vários autores em diferentes países^{4,5,7,8,14,18,22,24}, sendo que o primeiro caso de meningite por *F. meningosepticum* em prematuros foi descrito em

1944 por SCHULMAN & JOHNSON²⁰. Infecções em adultos são mais raras, atingindo principalmente pacientes debilitados, característica comum de bactérias oportunistas. Entre as infecções relatadas em adultos, estão descritos casos de pneumonia²³ bacteriemia pós-operatória^{2,17}, meningite^{11, 12, 14, 15} e infecção cutânea³.

A homogeneidade de caracteres fenotípicos e a falta de marcadores epidemiológicos para diferenciação de cepas de *F. meningosepticum*, tornam a sorotipagem um método de importância primordial no estudo de infecções causadas por este microrganismo. Com objetivo de determinar os sorotipos prevalentes no nosso meio, foram estudadas as cepas de *F. meningosepticum*, a maioria isolada de líquido cefalorraquidiano, através da sorotipagem em lâmina.

* Realizado na Seção de Bacteriologia do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, SP.

** Do Instituto Adolfo Lutz.

MATERIAL E MÉTODOS

Cepas bacterianas — Foram estudadas 22 cepas de *F. meningosepticum*, sendo 19 isoladas de líquido cefalorraquidiano, 2 de sangue e 1 de secreção traqueal, que na sua maioria foram procedentes das cidades de São Paulo (SP) e Ribeirão Preto (SP); as outras foram recebidas de Taubaté (SP), de Porto Velho (RO), de Brasília (DF) e de Florianópolis (SC). Para a identificação da espécie foram utilizados os caracteres que constam do Bergey's Manual of Systematic Bacteriology¹⁰.

Métodos de identificação bioquímica

Para a definição do gênero e classificação em espécie, foram observadas as características morfológicas e tintoriais, as reações de oxidase, catalase e as provas bioquímicas para verificar a oxidação dos carboidratos, a presença de enzimas extracelulares, a hidrólise da esculina e do ONPG (o-nitrofenil-β-D-galactopiranosídeo).

Método de identificação sorológica

Preparo de antissoros — Os antissoros foram preparados utilizando-se cepas padrões de *F. meningosepticum* recebidas do Institut Pasteur, Paris, segundo o método descrito por RICHARD et alii¹⁹. As cepas foram cultivadas em ágar comum e incubadas em estufa a 30°C por 48 horas. O crescimento bacteriano foi suspenso em solução fisiológica e aquecido em banho-maria fervente, por uma hora a fim de eliminar os eventuais antígenos de superfície. As suspensões bacterianas, contendo aproximadamente 10⁹ bactérias/ml, foram injetadas em coelhos por via endovenosa. O esquema de imunização utilizado foi: 0,5 ml, seguido de 1,0, 2,0, 3,0 e 3,0 ml, com intervalo de 4 dias entre as inoculações. A sangria dos coelhos foi feita 6 dias após a última inoculação. Os soros foram titulados em lâmina e as reações cruzadas eliminadas por absorção. Após a adição de mertiolato a 1/10.000, foram conservados a +4°C.

Tipagem das cepas — As cepas foram cultivadas em ágar comum e incubadas durante 48 horas a 30°C em estufa. A tipagem das cepas foi realizada através da técnica de aglutinação em lâmina, utilizando os antissoros específicos.

RESULTADOS

Todas as cepas cresceram em meios de cultura comuns (ágar e caldo comum). Em ágar comum, após um período de incubação de 18-24 horas a 37°C, as colônias, com diâmetro de 1-2 mm,

apresentavam superfície lisa, com bordos regulares, convexa e opaca. Algumas cepas, após uma incubação prolongada à temperatura ambiente, desenvolveram colônias com pigmentação amarelada não difusível no meio da cultura. Ao exame microscópico, após a coloração de Gram, observou-se a presença de bacilos Gram negativos, finos, com extremidades arredondadas, e também, foram vistas com frequência formas longas e filamentosas. Todas as cepas se caracterizaram por serem imóveis, aeróbias estritas, oxidase e catalase positivas, sendo classificadas como *Flavobacterium meningosepticum*, através das seguintes características:

Oxidação de carboidratos:

glicose +
maltose +
manita +
lactose + (tardamente)
trealose + (maioria)

Hidrólise de:

esculina +
ONPG +

Enzimas:

DNase +
gelatinase +
triptofanase +
urease -
nitrito redutase -

Das 22 cepas identificadas como *F. meningosepticum*, 18 (81,8%) foram classificadas em 6 diferentes sorotipos, sendo o sorotipo C o mais freqüente, com 61,1%, seguido dos sorotipos F, B, D, H e O e quatro não-tipáveis. A distribuição dos sorotipos, por material e por faixa etária, está apresentada na tabela 1.

TABELA 1

Distribuição, por material e faixa etária, dos sorotipos de *F. meningosepticum*

| Material Faixa Etária Sorotipo | LCR (19) | | | Sangue (2) | | | Sec. traq. (1) | | | Total |
|--------------------------------------|----------|-----|------|------------|-----|------|----------------|-----|------|-------|
| | 0-5m | ad. | i.d. | 0-5m | ad. | i.d. | 0-5m | ad. | i.d. | |
| B | — | — | — | — | — | — | 1 | — | — | 1 |
| C | 9 | — | 1 | 1 | — | — | — | — | — | 11 |
| D | — | — | 1 | — | — | — | — | — | — | 1 |
| F | 1 | — | 1 | — | — | 1 | — | — | — | 3 |
| H | — | — | 1 | — | — | — | — | — | — | 1 |
| O | 1 | — | — | — | — | — | — | — | — | 1 |
| NT | 2 | 2 | — | — | — | — | — | — | — | 4 |
| Total | 13 | 2 | 4 | 1 | — | 1 | 1 | — | — | 22 |

m = meses

ad = adulto

i.d. = idade desconhecida

NT = não-tipável

Sec. traq. = secreção traqueal

Quanto à faixa etária dos pacientes, das 22 cepas estudadas, 15 foram isoladas de crianças menores de 5 meses de idade, sendo 13 recém-nascidos, 1 de 1 mês e 12 dias e 1 de 5 meses.

Todas as cepas do sorotipo C procederam das cidades do Estado de São Paulo. As cepas pertencentes aos sorotipos D, H e O de Santa Catarina, Rondônia e Distrito Federal, respectivamente. Cepas pertencentes ao sorotipo F das cidades de São Paulo (SP) e Porto Velho (RO).

DISCUSSÃO

Surtos epidêmicos de meningite neonatal por *F. meningosepticum* têm sido relatados em diversos países^{4, 5, 8, 18, 24}. No Brasil, o primeiro caso de meningite por este microrganismo foi descrito por SOLÉ-VERNIN et alii em 1960²¹. Em 1970, MADRUGA et alii¹⁴ relataram a ocorrência de um surto epidêmico em um hospital do Rio de Janeiro com sete casos fatais de meningite purulenta. CAUDURO⁶, em 1978, descreveu cinco casos de meningite por *F. meningosepticum* em recém-nascidos e prematuros, ocorridos em um hospital de Porto Alegre, RS.

Os casos relatados por MADRUGA et alii foram causados por cepas de *F. meningosepticum* antigenicamente relacionados aos tipos A, B e F, enquanto os tipos encontrados por CAUDURO foram D e E. Estudos epidemiológicos de infecções por *F. meningosepticum* ocorridas em enfermarias de recém-nascidos^{5, 9, 11, 16, 24} têm revelado que o sorotipo C é o mais frequentemente isolado dentre os 15 sorotipos atualmente reconhecidos. Entre as cepas incluídas neste estudo, o sorotipo C também foi o mais freqüente, representando mais de 60% das cepas.

A meningite por *F. meningosepticum*, embora rara, atinge normalmente de forma epidêmica os recém-nascidos, e os estudos utilizando os sorotipos como marcadores epidemiológicos têm demonstrado que o ambiente hospitalar constitui a principal fonte de infecção desses pacientes, principalmente em relação aos prematuros^{5, 6, 8, 9, 16}.

Agradecimentos

Agradecemos ao Dr. C. Richard, do Institut Pasteur, Paris, pelo envio de cepas padrões de *F. meningosepticum*.

RIALA6/680

VAZ, T.M.I.; IRINO, K.; CALZADA, C.T. & GONÇALVES, C.R. — Serological characterization of *Flavobacterium meningosepticum*. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 49(2):207-211, 1989.

ABSTRACT: 22 *Flavobacterium meningosepticum* strains isolated from cerebrospinal fluid 19, blood 2, and throat 1, were serotyped by slide agglutination test using specific somatic antisera prepared according the method described by RICHARD et alii. These strains, most of them isolated from newborn, were classified into 6 serotypes, and among them the serotype C was the predominant one followed by F, B, D, H and O serotypes. Neonatal meningitis in despite of its rare occurrence, it is a severe infection with a high mortality rate and serious neurological sequelae; the characterization of the strains, isolated from epidemics reported in various countries, has been carried out by determination of the serotype, epidemiologic marker in *Flavobacterium meningosepticum*.

DESCRIPTORS: *Flavobacterium meningosepticum*, serotypes, neonatal meningitis.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ALTMANN, G & BOGOKOVSKY, B. — In vitro sensitivity of *Flavobacterium meningosepticum* to antimicrobial agents. *J. med. Microbiol.*, 4:296-9, 1971.
2. BERRY, W.B.; MORROW, A.G.; HARRISON, D.C.; HOCHSTEIN, H.D. & HIMMELSBACH, C.K. — *Flavobacterium septicemia* following intracardiac operations. *J. thorac. cardiovasc. Surg.*, 45 (4):476-81, 1963.
3. BOLIVAR, R. & ABRAMOVITS, W. — Cutaneous infections caused by *Flavobacterium meningosepticum*. *J. infect. Dis.*, 159(1):150-1, 1989.
4. BUTTIAUX, R. & VANDEPITTE, J. — Les *Flavobacterium* dans les méningites épidémiques des nouveaux-nés. *Ann. Inst. Pasteur, Paris*, 98:398-404, 1960.
5. CABRERA, H.A. & DAVIS, G.H. — Epidemic meningitis of the newborn caused by flavobacteria. *Am. J. Dis. Child.*, 101:289-95, 1961.
6. CAUDURO, P.F. — Identificação de *Flavobacterium meningosepticum* em casos de meningite. *Rev. Microbiol.*, 9(1):7-10, 1978.
7. EYKENS, A.; EGGERMONT, E.; ELCKELS, R.; VANDEPITTE, J. & SPAEPEN, J. — Neonatal meningitis caused by *Flavobacterium meningosepticum*. *Helv. Paediatr. Acta*, 28:421-5, 1973.
8. HAZUKA, B.T.; DAJANI, A.S.; TALBOT, K. & KEEN, B.M. — Two outbreaks of *Flavobacterium meningosepticum* type E in a neonatal intensive care unit. *J. clin. Microbiol.*, 6:450-5, 1977.
9. HOLMES, B. — Identification and distribution of *Flavobacterium meningosepticum* in clinical material. *J. appl. Bacteriol.*, 62:29-41, 1987.
10. HOLMES, B.; OWEN, R. & McMEEKIN, T.A. — Genus *Flavobacterium*. Bergey, Harrison, Bread, Hammer and Hunton 1923, 97^{AL}. In: Bergey's manual of systematic bacteriology. Baltimore William & Wilkins, 1984. v.1, p. 353-361.
11. KING, E.O. — Studies on a group of previously unclassified bacteria associated with meningitis in infants. *Amer. J. clin. Pathol.*, 31:241-7, 1959.
12. LAPAGE, S.P. & OWEN, R.J. — *Flavobacterium meningosepticum* from cases of meningitis in Botswana and England. *J. clin. Pathol.*, 26:747-9, 1973.
13. MADERAZO, E.G.; BASSARIS, H.P. & QUINTILLANI, R. — *Flavobacterium meningosepticum* meningitis in a newborn infant—treatment with intraventricular erythromycin. *J. Pediatr.*, 85:675-6, 1974.
14. MADRUGA, M.; ZANON, V.; PEREIRA, G.M.N. & GALVÃO, A.C. — Meningitis caused by *Flavobacterium meningosepticum*. The first epidemic outbreak of meningitis in the newborn in South America. *J. infect. Dis.*, 121:328-30, 1970.
15. MANI, R.M.; KURUVILA, K.C.; BATWALA, P.M.; DANILE, P.N.; SHIRGAONKAR, G.V.; SONI, R.P. & VYAS, P.R. — *Flavobacterium meningosepticum* as an opportunist. *J. clin. Pathol.*, 21:220-2, 1978.
16. OLSEN, H. — *Flavobacterium meningosepticum* a bacteriological, epidemiological and clinical study. *Dan. med. Bull.*, 17:171-2, 1970.
17. OLSEN, H.; FUDERIKSEN, W.C. & SIBONI, K.E. — *Flavobacterium meningosepticum* in 8 non-fatal cases of postoperative bacteremia. *Lancet*, 1294-6, 1965.
18. PLOTKIN, S.A. & McKITTRICK, J.C. — Nosocomial meningitis of the newborn caused by a *Flavobacterium*. *JAMA*, 198:662-4, 1966.
19. RICHARD, C.; MONTEIL, H.; LAURENT, B. — Individualisation de six nouveaux types antigeniques de *Flavobacterium meningosepticum*. *Ann. Microbiol.*, 130B:141-4, 1979.
20. SHULMAN, B.H. & JOHNSON, M.S. — A case of meningitis in a premature infants due to a proteolytic Gram-negative bacillus. *J. Lab. & clin. med.*, 29:500-7, 1944.

21. SOLÉ-VERNIN, C.; ULSON, C.M. & ZUCCOLATO, M. — Verificação de *Flavobacterium meningosepticum* King, 1959, em São Paulo (Brasil), *Rev. Inst. Med. trop.*, 2(1):54-8, 1960.
22. SUGATHADASA, A.A. & ARSECULERATNE, S.N. — Neonatal meningitis caused by new serotype of *Flavobacterium meningosepticum*. *Br. med. J.*, 1:37-8, 1963.
23. TERES, D. — ICV-acquired pneumonia due to *Flavobacterium meningosepticum*. *JAMA*, 228:732, 1974.
24. THONG, M.L.; PUTHUCHEARY, S.D. & LEE, E.L. — *Flavobacterium meningosepticum* infection: an epidemiological study in a newborn nursery. *J. clin. Pathol.*, 34:429-33, 198.

Recebido para publicação em 17 de agosto de 1989.

