

ESTUDOS SOBRE A PATOGENICIDADE DE UMA NOVA ESPÉCIE DE **CHROMOBACTERIUM***

CLEOMENES REIS ** MAURICIO SERGÍO B. LEITE ***
MARIA LUCIA MENDONÇA DA VEIGA **** MARIO DINIZ ****

INTRODUÇÃO

RESUMO

Os AA. pretenderam verificar a patogenicidade de uma nova amostra de *Chromobacterium* (ATCC 29094) recentemente isolada, e responsabilizada pela infecção natural em suínos.

Experimentalmente foram utilizadas algumas espécies de animais, entre eles macacos "prego" (*Cebus apella libidinosus* ou *macrocephalus*), sendo feitas comparações entre o poder patogênico da amostra com outras de *Chromobacterium violaceum*, citada na literatura.

Observaram que altas concentrações da nova espécie causam, rapidamente, quadro toxêmico e septicêmico. Em menores concentrações pôde-se verificar o desencadeamento da doença e septicemia, comparáveis aos casos de infecção natural provocados pelas espécies até então conhecidas.

As similitudes e prováveis diferenças entre a infecção causada pela nova amostra e as espécies já descritas são discutidas.

Os trabalhos sobre a patogenicidade de *Chromobacterium* são raros. Dauphinais e col.³, em 1968, afirmaram que a primeira referência sobre o assunto fora realizada por Wooley, em 1904, descrevendo os microrganismos como causa de infecção natural em búfalos.

Goves e col.⁵, em 1969, relataram um caso septicêmico, com abscessos hepáticos, pulmonares e esplênicos, causados por *Chromobacterium* em 10 animais do Zoo Nacional de Kuala Lumpur, Malásia (9 macacos e 1 urso polar). O quadro clínico por eles observado, era depressão da atividade motora, recusa de alimentos e morte.

Sippel e col.¹⁰ identificaram *Chromobacterium violaceum* em lesões características em suínos, entre as quais abscessos nas glân-

** Prof. Titular do Dept^o. de Microbiologia IPT-UFGo.

*** Prof. Assistente Dept^o. de Patologia FM-UFGo.

**** Profs. Assistentes, Dept^o. de Microbiologia IPT-UFGo.

dulas parótidas e nódulos linfáticos mandibulares.

Em, 1970, Johnsen e col.⁶ fizeram uma comunicação de caso fatal de septicemia em macaco.

Johnson e col.⁷ relataram um caso de septicemia fatal humana de *Chromobacterium*, em uma garota de 9 anos de idade, como sendo o 6º. caso de infecção fatal humana nos Estados Unidos da América. A necropsia revelou fluidos sanguinolentos nos espaços pleurais, lesões focais visceroparietais no pulmão esquerdo e na superfície epicárdica; petéquias hemorrágicas; fluido amarelo-avermelhado na cavidade peritoneal; abscessos no fígado, com exsudato contendo leucócitos mono e polimorfonucleares.

Wijewanta e col.¹², em 1969, isolaram *Chromobacterium violaceum* de lesões hepáticas de porcos abatidos em matadouros, abscessos branco-acinzentados de 1 a 3 cms, cheios de pús.

Em 1972, Reis e col.⁹ isolaram *Chromobacterium* de águas de nascente de um regato e de um bebedouro de pocilgas, em Goiânia, durante um surto septicêmico em suínos. O microrganismo apresentou características bioquímicas próprias, deixando-se suspeitar tratar-se de uma nova espécie. Em seu estudo, incluiu-se o da patogenicidade e comparação com as descrições dos casos conhecidos para as espécies até então identificadas. Um grande número de animais foi submetido à inoculações, todavia, neste trabalho são citados apenas aqueles que tiveram as suas lesões observadas macro e microscopicamente

e os germes reisolados à partir dessas lesões.

MATERIAL E MÉTODO

Na experiência foram utilizados 6 cobaios, 4 macacos "prego", 2 coelhos e 10 camundongos.

As bactérias foram inoculadas em suspensão salina a 0,85%, sendo que o número provável aproximado de microrganismos por ml foi calculado com base colorimétrica na escala de MacFarland², a partir de crescimento em meio sólido (agar trypticase soja).

Foram feitas inoculações do microrganismo por via intraperitoneal, oral e intra-muscular, nos cobaios, coelhos e camundongos.

Nos macacos fizeram-se apenas inoculações intraperitoneais e por via oral.

Foram inoculadas suspensões contendo 10^4 , 3×10^4 e 6×10^4 , bactérias por ml de salina.

Os cobaios e macacos que morreram foram submetidos à necropsia, sendo as lesões examinadas macro e microscopicamente. Os órgãos dos animais necropsiados foram fixados em formol a 10% e examinados no laboratório de Patologia da Faculdade de Medicina da UFGO.

As observações microscópicas foram feitas através de colorações pela Hematoxilina-Eosina⁴ e pelo Gram, modificado por Humberstone⁸.

Os microrganismos foram reisolados em tioglicolato de sódio (Brewer) e em agar sangue de cavalo.

RESULTADOS

Quatro camundongos inoculados intraperitonealmente, dois com 3×10^4 e dois com 6×10^4 bactéria/ml morreram entre 4 a 6 horas. Estas mesmas concentrações, inoculadas não mataram outros 4 camundongos até uma semana.

O camundongo inoculado intraperitonealmente com 10^4 bactéria/ml morreu em 24 horas, enquanto que esta mesma concentração inoculada por via oral, foi incapaz de matar outro camundongo até 10 dias.

Dois cobaios e dois coelhos inoculados intraperitonealmente com 3×10^4 e 6×10^4 bactéria/ml de salina, também morreram entre 4 a 6 horas.

Dois outros cobaios inoculados com 3×10^4 e 6×10^4 bactéria/ml por via oral não morreram até 2 semanas. Também até duas semanas com inoculações intraperitoneal de 10^4 bactéria/ml em outros dois cobaios, observou-se a morte dos animais. Os microrganismos foram re isolados a partir dos órgãos dos animais inoculados.

Os macacos de idade e peso muito variáveis, apresentaram os seguintes resultados: o macaco A, menor em tamanho, bem jovem, de menor peso corporal, morreu 6 dias após a inoculação intraperitoneal de 3×10^4 bactérias/ml e concomitante inoculação por via oral, de 3×10^4 bactéria/ml.

O macaco B, maior, de peso maior, também jovem, morreu após 23 dias, com inoculação intraperitoneal, em dose única, de 3×10^4 bactéria/ml.

Esta mesma dose, por via intraperitoneal foi administrada a outros dois macacos (J e JR) maiores, de maior peso e mais idosos, sendo que neles se administrou, posteriormente, a cada 5 dias, pela mesma via, nova inoculação intraperitoneal com 10^4 bactérias.

O macaco J morreu após 51 dias, enquanto que o JR morreu após 66 dias. Durante este tempo foram feitos leucogramas nos animais J e JR, 24 horas depois de cada inoculação subsequente, tendo sido feitos estes mesmos exames nos animais, antes da primeira inoculação, observando-se evolutivamente o aparecimento de intensa linfocitose em ambos os animais.

Os animais que morreram poucas horas após a inoculação mostravam rapidamente depressão, diminuição da atividade motora e sensorial, com perda de reflexos.

Os animais que morreram duas horas depois da inoculação mostravam depressão motora, recusa de alimentos. A necropsia, estes animais revelaram fluidos sanguinolentos no espaço peritoneal e abscessos no fígado (pequenos, tendo os maiores um tamanho de 0,4 cm), de coloração amarelo-acinzentado; lesões focais na superfície epicárdica.

Microscopicamente, as alterações encontradas em todos os cobaios, foram basicamente, as mesmas, variando em extensão e intensidade.

Detalhadamente estas alterações podem ser assim descritas: 1 — Pele: local da inoculação, dermatite aguda inespecífica, su-

purativa. Presença de bastonetes Gram-negativos.

2 — **Músculos:** parede abdominal, miosite aguda supurativa, com necrose de rhabdomicitos. Agrupamento de bastonetes Gram-negativos.

3 — **Peritônio:** peritonite aguda inespecífica.

4 — **Abscesso Hepático:** cobaios que morreram 4-6 horas após a inoculação (3×10^4 bactéria/ml) apresentaram hepatite aguda não supurativa, generalizada e de moderada intensidade.

Os cobaios que morreram 1 a 2 semanas após a inoculação apresentaram abscessos sub-capsulares e intra-parenquimatosos, e presença de bastonetes Gram-negativos, em agrupamentos, no local. Todos os cobaios examinados mostravam no fígado esteatose e microgoticulas, sem localização preferencial, às vezes em faixas.

5 — **Coração:** zona de enfarte recente, no músculo papilar. Em todos os cobaios, encontrou-se comprometimento endocárdico mais ou menos intenso representado por vacuolização da íntima (endocardite serosa focal ou zonal), e mesmo infiltrado com depósito de material indistinguível (de fibrina num cobaio que morreu após 4-6 horas.)

6 — **Pulmões:** presença de focos de atelectasia e, de pneumonia intersticial inespecífica supurativa (foco) num dos cobaios que morreu após 1-2 semanas.

7 — **Intestinos:** intensa hiperplasia dos foliculos linfoides.

8 — **Baço:** hiperplasia dos foliculos linfoides.

9 — **Artérias:** (baço, coração,

pulmões, fígado, testículos) encontrou-se vacuolização de íntima e mesmo edema seroso nas paredes e periarteriolar (arterite serosa), sendo que algumas apresentaram anel de células inflamatórias mononucleares em torno de si. A luz destes vasos, no baço, acha-se virtualmente obstruída.

COMENTÁRIOS E DISCUSSÃO

Os camundongos não suportaram 0,1 ml de suspensão contendo 10^4 bactérias por via intraperitoneal. Não morreram com a mesma dose, por via oral.

Toxemia violenta foi observada com a inoculação intraperitoneal de 3×10^4 e 6×10^4 bactérias, nos animais de laboratório, cobaios, camundongos e coelhos.

Obviamente, as mesmas doses empregadas por via oral não foram tão ativas e fatais, quanto as introduzidas intraperitonealmente.

Com relação aos leucogramas realizados nos macacos J e JR observou-se que os animais apresentaram reações idênticas frente à 1ª. inoculação: leucopenia com linfocitose e consequente neutropenia e desaparecimento dos eosinófilos.

Frente a 2a. e 3a. inoculações, o macaco JR apresentou o mesmo quadro observado na 1ª. inoculação, mas sem queda de leucócitos, apresentando aliás, uma discreta leucocitose. O macaco J apresentou uma reação diferente após a 2a. inoculação, com elevado número de leucócitos e alteração na contagem diferencial no sentido de regeneração do quadro inicial. Depois da 3a. e da 4a. inoculação, este a-

nimal apresentou o mesmo quadro da 1a. inoculação.

Pelas observações levadas a efeito, conclui-se que a nova amostra bacteriana, possível nova espécie de *Chromobacterium* possui poder patogênico comparado aos das espécies conhecidas.

SUMMARY

STUDIES ON THE PATHOGENESIS OF NEW SPECIE OF CHROMOBACTERIUM

The literature contains reports of human illness by chromogenic bacteria and pathogenicity for animals.

A new bacterium of this genus, isolated from a small brook, probable new species, with different biochemical characteristics, were pathogenic for mice, guinea pigs, rabbits, and monkeys (*Cebus apella libidinosus*).

Were also able to infect pigs, naturally.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos a colaboração da Residente em Microbiologia Dorivan Chaves da Rocha, dos acadêmicos, Ayres Manoel de Souza, da escola de Veterinária da UFGO.; Ildefonso Ribeiro Neto e Amélia Fortunato Ricardo, da Faculdade de Medicina da UFGO., que nos auxiliaram gentilmente, na execução do presente trabalho.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ANDEW, W. — Comparative Hematology — Grunne & Stratton, N.Y. 1a. ed., 155, 1965.
2. BIER, O. — Bacteriologia e Imunologia. Ed. Melhoramentos, SP., 11a. ed. — 786, 1963.
3. DAUPHINAIS, R. M. & ROBBEN, G.G. — Fatal infection due to *Chromobacterium violaceum*. The Am. J. Clin.Path. 50:592-597, 1968.
4. FRANKEL, A.; REITMAN, S. & SONNENWIRTH, A.C. — Gradwohl's Clinical Laboratory Methods and Diagnosis. The C.V. Mosby, Co., ST. Louis, 1a. ed. 1:936-938, 1970.
5. GROVES, M.G.; STRAUSS, J.M.; ABBAS, J. & DAVIS, C.E. — Natural infections of gibbons with a bacterium producing violet pigment. The J. Infect Dis. 120: 605-610, 1969.
6. JOHNSEN, D. C.; PULLIAN, J.D. & TANTICHAROEYUS, P. — *Chromobacterium septicum* in the gibbon. The J. Infect Dis. 122:563, 1970.
7. JOHNSON, W.M.; DISALVO, A.F. & STEUER, R.R. — Fatal *Chromobacterium violaceum* septicemia. Amer. J.Clin.Path. 56:400-406, 1971.
8. MILNE, J.A. — Introduction to the diagnostic Histopathology of the Skin. Edward Arnold (publishers) 1a. ed. 348-349, 1972.
9. REIS, C.; PEREIRA, E.; CAETANO DE SOUZA, O.; DINIZ, M.A. & KOLEILAT, M.N.M. — Isolamento de possível nova espécie de *Chromobacterium* em águas poluídas. Provável agente etiológico de surto septicêmico em suínos, no Município de Goiânia, Estado de Goiás, Fev. 1972. Rev. Pat. Trop. 2: 283-287, 1972.
10. SIPPEL, W.L.; MEDINNA, G. & ATWOOD, M.B. — Outbreaks of diseases in animals associated with *Chromobacterium violaceum*. The diseases in suine. J.A.V.M.A. 124: 470-476, 1954.
11. SNOWE, R.J. — *Chromobacterium violaceum* pathogenic for man. J. Infect. Dis. 123: 226, 1971.
12. WIJEWANTA, E. A. & WETTIMUNY, S.G. — *Chromobacterium violaceum* infection in pigs. Res. Vet. Sci. 10 389, 1969.