

NOVAS AMOSTRAS MESOFILICAS DE **CHROMOBACTERIUM** ISOLADAS DE ÁGUAS EM TRÊS MUNICÍPIOS GOIANOS *

ZANILDA DA SILVA FREITAS ** CLEOMENES REIS *** MÁRIO
DINIZ *** HILDA MARIA FRANCO ***** LUIZA GOMES DE
PAULA *****

INTRODUÇÃO

RESUMO

De amostras de águas enviadas para exame bacteriológico no Laboratório Central da Organização de Saúde do Estado de Goiás (OSEGO), recebemos exemplares dos municípios de Hidrolândia (Go.), Ipameri (Go.) e Calvante (Go.).

Todas apresentavam aspecto turvo e contagem de colônias entre 20.000 e 20.000 p/ ml., e delas foram isolados, além de germes dos grupos: Coliforme, Proteus, Klebsiela, Enterobacter, Alkalecens e Intermediário,, bastonetes gram-negativos que formaram um anel de cor violeta nos tubos de caldo lactosado e tioglicolato, e colônias violeta escura e claras, em placas de agar triptonado, Levine, e agar sangue, sem difusão de pigmento nos meios, que foram identificados como bactérias pertencentes ao gênero **Chromobacterium**, produtores de pigmento denominado violaceína.

No Estado de Goiás, Brasil, em março de 1972, foi pela primeira vez isolado por Reis (3), em águas de um regato e bebedouros de pocilgas, um microrganismo identificado como pertencente ao gênero **Chromobacterium**.

Existem relatos de 17 casos de infecções humanas, e vários em animais, causadas por bactérias deste Gênero em diversas regiões do globo.

O presente trabalho é uma notificação das amostras mesofílicas de **Chromobacterium** isoladas de água em três municípios goianos.

Dos exames de rotina de água efetuados no laboratório Central da Organização de Saúde do Estado de Goiás (OSEGO), entre meados de março e abril de 1974, recebemos amostras de três municípios goianos que se tornaram objetos de nosso estudo.

* Trabalho realizado no Laboratório Central da Organização de Saúde do Estado de Goiás (OSEGO) e no Instituto de Patologia Tropical (IPT) da Universidade Federal de Goiás (UFGO)

** Biologista-chefe da seção de Bacteriologia do Lab. Central da OSEGO.

*** Prof. Titular do Depto. de Microbiologia do IPT-UFGO.

***** Biologistas do Lab. Central da OSEGO.

A primeira delas, proveio da Granja N. S. Aparecida Km 046 da BR-153 município de Hidrolândia - Go.

A segunda, originou-se de um pequeno regato do município de Ipameri - Go., e a terceira amostra proveio da mina de um garimpo no município de Cavalcante - Go.

Com relação à primeira amostra, foi notificada, pelo veterinário da Granja N. S. Aparecida, a ocorrência na época de uma doença fatal incomum em suínos, e diarreia em galinhas.

Comprovou-se a existência de diarreia preta, sanguinolenta e mucosa nas aves, mas, infelizmente, por motivo de morte da maioria dos suínos, e venda dos restantes, não se conseguiu nenhum animal para exames. As informações descreviam apatia, perda de apetite, peso, movimentos, contrações e espasmos musculares, sobrevivendo a morte dos suínos.

Sobre a amostra proveniente do município de Ipameri, obteve-se informações de que havia no local o desabamento de uma fossa próxima ao regato, o que sugeriu a remessa do material para exame.

No município de Cavalcante, nada ocorria de especial com animais, embora crianças e alguns adultos tivessem problemas intestinais que atribuíam à água, motivo pelo qual desejavam comprovar sua potabilidade.

MATERIAL E MÉTODOS

Os exames das amostras foram efetuados segundo as técnicas ro-

tineiras para exames bacteriológicos de água constando de ensaio presuntivo — semeadura em 10,0 — 1,0 e 0,1 ml das amostras em caldo lactosado e incubados a 37°C durante 48 hs. — ensaio completo — bacterioscopia, semeadura para contagens de colônias com diluições variáveis de 1/100 a 1/100 000 e determinação do índice coliforme.

Os crescimentos obtidos em caldo lactosado foram semeados com alça de platina, em placas de Agar Trypticase (Soybean — Casein — Digest Agar — BBL), Agar Trypticase com sangue, Levine (Eosin — Methylene Blue Oxoid), Agar SS (Salmonella/Agar — Merck) para isolamento.

Devidos aos resultados inesperados verificou-se tratar de **Chromobacterium**, novas semeaduras foram sugeridas com vistas a uma exata identificação. Para isto foram feitos repiques em placas de Agar Trypticase com sangue, Agar Trypticase simples, Levine, Endo (Endo Agar — Oxoid), SS Agar, e tubos com caldo lactosado, glicosado e Thyoglicolato (Thyoglicolatte USP — Oxoid) — três exemplares de cada meio e — incubados respectivamente às temperaturas de 37°C, 4°C (geladeira) e ambiente.

RESULTADOS

Foram isolados das três amostras germes pertencentes aos grupos: Coliformes, Proteus, Klebsiella, Enterobacter, Alkalescens e Intermediário, e ainda, bastonetes gram-negativos, que, nos meios líquidos formaram um anel de coloração violeta escura e nos

meios sólidos colônias pequenas ou médias, lisas, convexas, brilhantes, hemolíticas, de coloração violeta escura e clara.

O crescimento destes microrganismos foi abundante às temperaturas de 37°C e ambiente, sendo nulo para a temperatura de 4°C o que nos permitiu concluir tratam-se de espécies mesofílicas.

Diante de colônias violetas de bastonetes gram-negativos, nossa primeira preocupação foi a identificação do pigmento que verificamos, pelos testes de solubilidade (4) tratar-se da violaceína. Este pigmento é produzido por bactérias cromogênicas, pertencentes à família Rhizobiaceae, ordem Eubacteriales, classe Schizomycetes, gênero **Chromobacterium**, do qual segundo Sneath (1966) se conhecem duas espécies distintas, uma psicrófila (**C. lividum**) e uma mesofílica (**C. violaceum**) (5).

Com base nestes resultados concluir-se que, pela segunda vez, foi isolado no Brasil um microrganismo pertencente ao gênero **Chromobacterium** muito provavelmente **C. violaceum**.

COMENTÁRIOS

Ao gênero **Chromobacterium** pertencem bactérias gram-negativas aeróbias ou anaeróbias facultativas, não esporuladas, móveis por flagelos polares ou peritríquios com diferenças evidentes entre **C. lividum** e **C. violaceum** quanto aos seus caracteres morfológicos e culturais, capacidade de fermentação de carboidratos, caracteres fisiológicos sensibilidade aos agentes antimicrobianos, tes-

tes bioquímicos, nutrição, utilização de carbono e nitrogênio (5).

Consideradas saprófitas do solo e da água (6), tendo em vista distribuição geográfica, sendo encontrada nas regiões de clima tropical e sub-tropical.

Estes microrganismos já foram registrados nas Filipinas, Malásia, Ceylão, Tailândia, Vietnam, Austrália, Holanda, África Ocidental Francesa, Estados Unidos da América do Norte e no Brasil (1972) no Estado de Goiás, por Reis (3) de águas de um regato e bebedouros de pocilgas no município de Goiânia.

Embora hajam na literatura relatos de apenas 17 casos comprovados de infecções humanas por estas bactérias e alguns em animais, chamamos atenção para o fato de que além dos casos já descritos, a espécie distinta de **Chromobacterium** isolada em Goiás (3), apresentou alto poder de patogenicidade para suínos, macacos e animais de laboratório.

Também as amostras apresentadas neste trabalho, foram patogênicas, para camundongos, mostrando à autópsia, peritonite aguda e lesões de pulmões, coração, rins, baço e fígado, dos quais foram reisolados bastonetes gram-negativos, produtores de pigmento violeta.

Sneath (1961), numa extensa revisão do Gênero **Chromobacterium** cadastrou 14 casos de infecção humana: (9 na Malásia, 3 nos E. U. A., um na França e um na África Ocidental Francesa) (5).

Durante o período de 1965 à outubro de 1968, Groves e col. segundo Jonhson (2), relataram 10 mortes resultantes de septic-

mia devido a *C. violaceum*, em animais do Zoo Nacional, Kuala Lumpur, Malásia. Todos os animais nativos da Malásia, 9 deles foram Gibões (*Hylobates* sp), e um Urso polar (*Helactus Malayanus*).

Os 10 casos assumiram uma forma septicêmica altamente maligna a qual foi rapidamente fatal. A fonte de todas as infecções, foi indubitavelmente o solo ou água contaminada do Zoo. A porta de entrada, em pelo menos quatro dos casos foi provavelmente através de arranhões, na pele. Infecções oral pela ingestão de água contaminada, quer através das lacerações da boca ou rompimento na continuidade do trato gastro-intestinal foram possíveis ter nos outros 6 animais 2.

Estudo mais detalhado está sendo realizado no sentido de demonstrar que as amostras mesofílicas isoladas no Estado de Goiás (Brasil), apresentam poder patogênico e possam ser enquadradas pelas características culturais e bioquímicas na espécie *Chromobacterium violaceum* e serão motivo de outras publicações.

SUMMARY

New Mesophilic strains of CHROMOBACTERIUM Isolated from waters in three cities of the Goiás state, Brazil.

The authors notified new mesophilic strains of *Chromobacterium* isolated from samples of waters in three cities of Goiás State, Brasil: Hidrolândia, Ipameri e Cavalcante.

The positive samples showed a turbid aspect. The colonies counting average was: 20.000 to 200.000/ml. From all samples was isolated not only bactérias of Coliforme, Proteus, Klebsiella, Enterobacter, Alkalescens, and Intermediate groups, but some gram-negative rods, that formed a violet ring in liquid mediuns and violet colonies in solid mediuns. The pigment was identified like violacein produced the bactérias from the genus *Chromobacterium*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BREED, R. S.; MURRAY, E. G. D.; SMITH, N. R. — *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, Williams and Wilkins seventh editions. 9.-96, 1957, Rep. 1973.
2. JOHNSON, W. M.; DÍLVO, A. F. & STEUER, R. R. — Fatal *Chromobacterium violaceum* septicemi. *Amer. J. Clin. Path.* 56: 400-406, 1971.
3. REIS, C.; PEREIRA, E.; CAETANO, O.; DINIZ, M.; MUNIZ, M. A. & KOLEILAT, M. N. M. — Isolamento de possível nova espécie de *Chromobacterium* em águas poluídas. *Rev. Pat. Trop.* 2: 283-287, 1972.
4. REIS, C.; BLAU, E.; & TAVEIRA, J. J. — Tests with a pigment (violacein) produced by a probable new species of *Chromobacterium*. *Rev. Pat. Trop.* 2: 185-187, 1973.
5. SENATH, P. H. A. — Identification methods applied to *Chromobacterium*. In Identification methods for microbiologists. Part A, Academic Press. 4th printing. 15-20, 1966.
6. WIEWANTK, E. A.; WETTIMUNY, S. G. de S. — *Chromobacterium violaceum* infection in pigs. *Rev. Vet. Sci.* 10: 389-390, 1969.