

## ISOLAMENTO DE POSSÍVEL ESPÉCIE NOVA DE CHROMOBACTERIUM EM ÁGUAS POLUÍDAS

Provável agente etiológico de surto septicêmico em  
Suínos no Município de Goiânia, Estado de Goiás,  
fevereiro de 1972 \*

CLEOMENES REIS \*\* EDSON PEREIRA \*\*\* OSWALDO CAETANO DE  
SOUSA \*\*\*\* MÁRIO DINIZ \*\*\*\* MARIA APARECIDA MUNIZ \*\*\*\*  
NOHAMAD NADER MUSBAH KOLEILAT \*\*\*\*\*

---

### RESUMO

Uma nova bactéria possível agente etiológico de septicemia em suínos foi isolada de águas do Ribeirão Dois Irmãos em Goiânia. Acreditamos tratar-se de uma nova espécie de **Chromobacterium** diferente da **violaceum** e **ianthinum**.

---

### INTRODUÇÃO

Microorganismos isolados juntamente com enterobactérias dos gêneros **Proteus**, **Salmonella**, **Shigella** e **Escherichia**, apresentando características de **Chromobacterium**, embora se diferenciando das espécies conhecidas e descritas no Bergey foram encontrados nas amostras de água do Ribeirão Dois Irmãos, no Município de Goiânia, Goiás.

---

\* Trabalho realizado nos laboratórios de Microbiologia do Instituto de Patologia Tropical da Universidade Federal de Goiás.  
\*\* Prof. Titular, Dept<sup>o</sup>. de Microbiologia, IPT — UFGO.  
\*\*\* Prof. Titular, Dept<sup>o</sup>. de Parasitologia, IPT — UFGO.  
\*\*\*\* Professores Assistentes, Dept<sup>o</sup>. de Microbiologia, IPT — UFGO.  
\*\*\*\*\* Bioquímico, Residente do Dept<sup>o</sup>. de Microbiologia, IPT — UFGO.

Amostras das águas colhidas da nascente e do bebedouro de pocilgas, durante surto de epidemia, (febre elevada e morte de vários suínos), apresentaram elevado índice Coliforme quando analisadas por laboratório de entidade Estatal.

Placas de EMB agar (Levine) e agar Nutriente contendo colônias bacterianas isoladas foram trazidas ao laboratório de Bacteriologia do Instituto de Patologia Tropical da Universidade Federal de Goiás, para a devida identificação dos gêneros e espécies.

Além das enterobactérias reconhecidas prontamente, chamou-nos a atenção muitas colônias preto-azuladas nos dois meios de cultura, em condições de aerobiose.

Após estudos e consultas bibliográficas especializadas observou-se que embora se assemelhassem com *Chromobacterium violaceum* e *Chromobacterium ianthinum*, esta espécie apresentou algumas diferenças morfológicas e bioquímicas bem características. (1,2,3,4).

#### MATERIAL E MÉTODOS

Foram empregados no estudo do microorganismo os mais utilizados para a identificação de enterobactérias: Meio de McConkey, agar SS, Tríplice-açúcar-com-ferro (Hajna, segundo Rugai), potato-dextrose-agar e a pesquisa bioquímica do Indol Vermelho de metila, VP, Citrato (Simmons) de sódio, Glicose, Lactose, Sacarose, Manitol, Culcitol, Urease em meio de Christensen, Fenil-alanina, Redução de Nitrito, além da mobilidade em agar semi-sólido.

Posteriormente utilizou-se sementeiras em agar simples, agar sangue (Eugonagar BBL com sangue desfibrinado de carneiro), agar chocolate, Gelatina e Litmus Milk, realizando-se também testes de sensibilidade aos antibióticos em Eugonagar, pelo método dos discos. Experimentou-se condições de crescimento em aerobiose e em ambiente de CO<sub>2</sub> (jarra de anaerobiose).

Foram realizadas ainda a verificação do microorganismo em campo escuro (à fresco) e coloração especiais para organelas, inclusões citoplasmáticas e cápsula, respectivamente, pelos métodos de Leifson e Giemsa, Gram e Laybourn, e Hiss, e as medidas da bactéria corada, através de ocular graduada Zeiss e lâmina micrométrica R. Winkel. Inoculações, intra-peritoneais de 1 ml, contendo 1.000, 2.500, 5.000, 10.000 e 300.000 bactérias, foram feitas em camundongos e cobaias (MacFarland).

#### RESULTADOS

As bactérias estudadas se apresentaram como bastonetes Gram negativos, móveis com flagelo monotríquico, medindo 0,5 a 0,8 micron de espessura por 1,5 a 4,0 micra de comprimento, mostrando fre-

quentemente formas pleomórficas. Estes bastonetes são retos ou ligeiramente encurvados, de extremidades arredondadas.

Apresentam-se desprovidos de cápsula e granulações metacromáticas, embora mostrem granulações citoplasmáticas, em geral, bipolares. Suas colônias são negro-azuladas em EMB agar (Levine) com bordos mais claros. Existem satelitismo de *E. coli*. Estas colônias são destacadas com facilidade, e fortemente pigmentadas. São opacas quanto à transparência, apresentando brilho metálico. Não crescem em agar SS.

Em agar simples as colônias são claras até 16 ou 18 horas, tornando-se azul-violeta, e após 48 horas são negro-azuladas e brilhantes. O seu pigmento (solúvel em álcool) aparece com a cor violácea.

Crescem nos meios simples de cultura com grande rapidez e em massas. São aeróbias estritas. Não se desenvolvem em ambiente de CO<sub>2</sub>.

No meio de cultura líquidos provocam turvação total dos mesmos, e formação de um anel arroxeado em sua superfície, e quantidade apreciável de sedimentos da mesma cor.

Em tríplice açúcar com ferro (Hajna) se desenvolvem com a coloração negro-azulada característica, alcalinizando a superfície do meio de cultura e acidificando levemente a sua base; com o tempo há alcalinização total (após 72 ou 96 horas) não acrescentando H<sub>2</sub>S nem CO<sub>2</sub>.

#### QUADRO I

#### RESULTADOS DOS TESTES BIOQUÍMICOS APRESENTADOS PELA POSSÍVEL NOVA ESPÉCIE DE CHROMOBACTERIUM.

Indol .....	(—)	Glicose (+) (15% gás)	
Vermelho de metila .....	(—)	Lactose (—)	Inulina (—)
Voges-Proskauer .....	(—)	Sacarose (—)	Sorbitol (—)
Citrato de sódio (Simmons) (+)		Manitol (—)	Inositol (—)
Gelatina .....	(—)	Dulcitol (—)	Manose (—)
Litmus milk .....	(+) (5º dia)	Motilidade (—)	Maltose (—)
Urease .....	(+)	Redução	Salicina (—)
Fenil-alanina .....	(—)	do Nitrito (+)	

São sensíveis à ação da associação trimethoprin- sulfametozazol e ácido nalidixico, e resistentes à Penicilina G, Amplicilina, Cloxacilina e Cefalosporinas.

A ureína de Christensen é desdobrada apenas superficialmente. Estes microorganismos crescem melhor à temperatura de 37.°C,

todavia também se desenvolvem em 22, 28, 35 e 40.°C. Não crescem nas temperaturas de 0 a 4.°C, nem a 60.°C. Peptonizam o leite. O litmus milk é inalterado até 4 dias, o tormassol é reduzido no 5.º dia.

Somente a inoculação de 1 ml., com 300.000 bactérias matou camundongos e cobaias.

### COMENTÁRIOS

Apesar de reduzirem Nitrato a Nitrito e serem fermentadoras da glicose estes microorganismos não apresentam outras características que possam incluí-los no grupo das enterobactérias.

A fermentação da glicose, o seu ótimo de temperatura (37.°C) e pigmentação das colônias distinguem-nos das bactérias do gênero *Pseudomonas*.

Mesmo apresentando certas características de semelhança com *Chromobacterium*, principalmente das espécies *violaceum* e *ianthinum*, diferenciam-se da primeira pela temperatura ótima para o seu crescimento; enquanto que diferem da segunda pela apresentação de flagelo monotríquio. Apesar de não se conhecer a dose mínima letal (d.m.1), ficou comprovado que altas concentrações desta bactéria por ml., de água são necessárias para o desencadeamento de processos septicêmico, inoculadas por via intraperitoneal.

### SUMMARY

#### PROBABLE ISOLATION OF A NEW SPECIES OF CHROMOBACTERIUM FROM POLLUTED WATER

A new bacterium was isolated from a small brook, of the Genus *Chromobacterium* but whose species was not identified yet.

It is believed to be a *Chromobacterium* with different characteristics from the known species *violaceum* and *ianthinum*, according to the tests listed below:

Rods — 0,3 to 0,5 by 1,5 to 4,0 micra, occurring single. Gram-negative.

Motile with a monothrichous flagellum. Agar colonies: circular, violet.

Nitrites produced from nitrates.

Gelatin stab — no liquefaction. Thioglycollate broth: turbid, with light violet pellicle and violet sediment. Litmus milk: slow coagulation, litmus decolorized on the fifth day. Potato dextrose agar: slow pigmentation, spreading growth.

Indole: not formed. VM: negative. Voges-Proskauer: negative. Simmons citrate: positive.

Acid from glucose with CO<sub>2</sub>. No acid from maltose, lactose, sucrose, mannitol, dulcitol, salicin, inositol, mannose and inulin. Strict aerobic. Optimum temperature: 37.°C. No growth at 2 to 4.°C. McConkey: circular, light violet. Blood agar: hemolytic colonies. Desoxicolatecitrate agar (SS agar medium): no growth. Pigment soluble in alcohol, chloroform, saline and eter sulfuric acid, and insoluble in acetic acid, distilled water and NaOH (40%).

Pathogenic for mouse (300.000 bact/mil), but not causing septicemia on inoculation of 1.000 at 10.000 bact/ml (intraperitoneal).

This species probably causes fatal septicemias in some mammals especially in pigs.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. Sixth Edition 1948. The Williams and Wilkins Company. Baltimore.
2. Identification Methods for Microbiologists. Gibbs, B.M., and Shapton, D.A. 1968. Academic Press. London. New York.
3. Gradwohl's Clinical Laboratory Methods and Dianosis. Frankel, S; Reitman, S.; and Sonnenwirth, A.C., 1970. The C.V. Mosby Company St. Lois.
4. Topley and Wilson's. Principales of Bacteriology and Immunity. Wilson, G.S. and Miles, A.A., 1957. The Williams and Wilkins Company. Baltimore.