

Epizootia estreptocócica em cobaia

por

C. Magarinos Torres, Genesio Pacheco e Rita A. de Almeida Cardoso

Em um lote de 58 cobaias inoculadas com *Leishmania enrietti*, agente etiológico da leishmaniose espontânea da cobaia, 8 delas, a partir de agosto de 1948 até fevereiro de 1949, apresentaram uma doença intercurrente, sem nenhuma relação aparente com a doença experimental, sobrevivendo, às vezes, em animais nos quais as lesões leishmanióticas já se achavam em regressão.

1) ASPECTOS DA DOENÇA

A doença se manifestava pelo aparecimento de lesões cutâneas purulentas, localizadas ora na região cervical, ora na axilar, ora na inguinal, ora na parede anterior do abdômen.

Eram elas facilmente reconhecíveis pela palpação, sob a forma de áreas de empastamento, ou então de nódulos, pouco móveis sob a pele.

No fim de certo tempo, a epiderme se ulcerava a seu nível, dando saída a pús cremoso, comunicando-lhe um falso aspecto de necrose de caseificação.

A necrópsia revelou que a inflamação supurada tinha, como ponto de origem, uma linfadenite aguda purulenta.

Vários animais suportaram a doença relativamente bem, não apresentando, como sintomas dela dependentes, senão o processo cutâneo purulento, o qual mostrava tendência natural para a regressão. Outros, porém, sucumbiram em consequência de peritonite aguda fibrinopurulenta e de abscessos múltiplos de fígado.

Em agosto de 1949 surgiu espontaneamente, entre as cobaias do biotério do Instituto Oswaldo Cruz, Seção de cobaias importadas dos Estados Unidos, uma doença sob forma epizootica, caracterizada por linfadenite submaxilar, com aumento de gânglio linfático geralmente único, ao lado de outros menos crescidos, ou então com aumento simultâneo de um grupo de gânglios.

A linfadenite progredia, chegando à supuração, dentro de 4 a 5 dias, dando saída a um pús amarelado, de consistência xaroposa, resultando numa fistula permanente até a morte do animal. Outras vezes havia regressão espontânea da doença.

Frequentemente, as articulações das quatro patas, ou somente das anteriores, se apresentavam túmidas, não sendo raras as complicações articulares que dificultavam ou mesmo impossibilitavam, de qualquer modo, a marcha do animal. Outras vezes, a tumefação articular era a única manifestação presente, existindo, assim, uma poliartrite pura.

Na Seção onde apareceu a doença, morreram, ao todo, 18 cobaias.

As pesquisas bacteriológicas que passamos a enumerar, de agora em diante, foram praticadas em animais pertencentes ao grupo mantido no biotério, ou seja em cobaias que não haviam sofrido nenhuma inoculação. As lesões supuradas cutâneas eram perfeitamente semelhantes às que anteriormente havíamos surpreendido no lote de animais com inoculação experimental por agente etiológico diverso e acima referido.

2) AGENTE ETIOLÓGICO

O esfregaço do líquido articular não revelava a existência de germens, mas nas sementeiras vegetaram estreptococos em cultura pura, com os caracteres adiante referidos.

No pús do gânglio, ao contrário, encontrava-se, ao exame bacterioscópico, uma flora variável, de cocos Gram positivos e bastonetes Gram negativos. A sementeira do pús ganglionar em caldo e em agar-sangue deu sempre crescimento a bactérias identificadas aos gêneros *Staphylococcus*, *Pasteurella*, *Corynebacterium*, e numerosas colônias de menos de 1 mm. de diâmetro, lisas, arredondadas, de bordos regulares, não aderentes ao meio, envoltas por um halo de hemólise, análogas às que se desenvolviam nos meios sementeiros com líquido articular, referido acima. Esfregaços sobre lâmina mostravam-nas constituídas por cocos em cadeia, de 4 a 20 e mais elementos, Gram positivos.

Isolamos sempre, em cultura pura, este germe, quer de gânglio linfático entumecido, quer do líquido de artrite.

Provas de inoculação com as diversas bactérias isoladas mostraram que o quadro patológico acima referido só era reproduzido pelos estreptococos. Por essa razão, somente estes foram estudados de modo completo, com o fim de bem identificá-los.

O uso da sulfanilamida, adicionada diàriamente à ração, na dose de 10 g para 3 k de ração, durante 30 ds., a todo o lote, fez cessar dentro em pouco, a epizootia.

O agente causal apresenta-se sob a forma de cocos, dispostos aos pares ou formando cadeias de 5 a 20 elementos, em forma de diplococos, com faces opostas apagadas, Gram positivos, imóveis, capsulados.

Semeados em *caldo simples* produziam turvação, formando depósito viscoso, desfeito pela agitação forte.

Agar sangue — Cresciam em colônias branco-acinzentadas, não aderentes ao meio, apresentando superfície lisa, brilhante, bordos regulares. Formava-se, em torno da colônia, um círculo de hemólise completa, do tipo *beta*, envolto por um outro, de hemólise parcial.

Gelatina — Cresciam, sem fundir o meio.

Leite tornasolado — Acidificavam-o, coagulando-o lentamente (4 dias). Algumas amostras apenas o acidificavam, sem coagulá-lo.

Bile — Não lisavam, na bile a 10%. Cresciam em agar com bile a 10%, mas não o faziam em agar com bile a 40%.

Não produziam acetoina, não reduziam nitratos a nitritos, não reduziam o vermelho neutro.

Fermentavam, sem produção de gás, a dextrose, galactose, sorbitol, maltose, manitol, salicina (fracamente), esculina, maltose, lactose, e sacarose. Não fermentavam a arabinose, ramnose, glicerol, inositol, dulcitol, adonitol, e trealose. Não hidrolisavam o amido.

Não dissolviam o plasma coagulado, significando isso que não possuíam estreptolisina.

Prova da redutase, negativa.

Não hidrolisavam o hipurato de sódio.

Morriam quando expostos à temperatura de 60° durante 30 minutos.

Não cresciam à temperatura de 45°.

Ação patogênica — Cobaias inoculadas, por via sub-cutânea com 0.5 ml de cultura de 24 horas, a 37°, em caldo, mostraram doença análoga à espontânea, ou seja, linfadenite supurada, com formação posterior de abcesso e ulceração cutânea. Inoculada a mesma dose, no peritônio, determinava peritonite aguda fibrino-purulenta, com extensão para a túnica vaginal.

Doses de 0.25 e 0.5, por via sub-cutânea ou intra-peritoneal, determinavam a morte de camundongos, em menos de 24 hs. Filtrados dessas culturas, nas doses de 0.1, 0.2 e 0.3 ml, por via intravenosa, não produziam nenhum sintoma nem lesão, no camundongo.

O germe não foi encontrado no sangue circulante dos animais infectados natural ou artificialmente.

3) ALTERAÇÕES PATOLÓGICAS

O estudo microscópico de material colhido por ocasião da necrópsia de uma cobaia morta, mostrou a existência de peritonite aguda fibrino-purulenta, de linfadenite aguda supurada e de necrose e abscessos do fígado.

Massas bacterianas são vistas no lumen das veias centro-lobulares e dos sinusoides do fígado que lhes ficam mais próximos. Todo o lóbulo hepático apresenta necrose de coagulação, atribuível, provavelmente, à ação de toxinas produzida pelas bactérias localizadas nos vasos acima referidos, as quais ter-se-iam difundido através de zona relativamente extensa do lóbulo hepático. O limite extremo da área de necrose é marcado por uma infiltração de leucocitos heterofilos. Sendo assim, apenas pequena porção, a mais próxima dos espaços porta, contém células hepáticas não necrosadas.

Nos gânglios linfáticos, ao lado de pequenas coleções de leucócitos heterófilos, situadas no interior dos seios linfáticos medulares, encontra-se extensa área de necrose do exsudato purulento, sem dúvida atribuível, como no fígado, à ação de toxinas. O aspecto macroscópico de pús cremôso, semelhante, até certo ponto, necrose de caseificação, encontra justificativa na verificação microscópica, a qual assinala um exsudato inflamatório purulento com necrose quase total dos glóbulos de pús.

O processo inflamatório agudo encontrado nos gânglios linfáticos, no peritônio e no fígado apresenta os caracteres habituais nessa variedade de processo inflamatório agudo.

Um detalhe microscópico, contudo, pareceu-nos merecer maior consideração. Foi a grande capacidade de proliferação dos fibrocitos, nos tecidos vizinhos das áreas em que se processava a inflamação. Não raro nota-se a formação de um tecido densamente celular, constituído, exclusivamente, por fibrocitos jovens, o qual pode penetrar e dissociar as fibras musculares dos músculos adjacentes. Em fase anterior, verifica-se ativa mobilização e multiplicação dos fibrocitos regionais e de células da adventícia dos vasos sanguíneos, dando origem a macrofagos.

Está claro que êsse fenômeno é bem conhecido e encontrado, com regularidade, na inflamação aguda. O que desperta a atenção, porém, é o seu exagero no caso do animal ser a cobaia, quando comparado com o que se observa em outras espécies animais e no homem.

4) IDENTIFICAÇÃO DO GERMEN

Acentua EDWARDS que os estreptococos encontrados nos animais estão relativamente mal estudados. Sua diferenciação dos estreptococos humanos foi tentada por HOLTH, ADSERSON, AYRES & col., AVERY e, principalmente, por OGURA, refere êle. À custa de provas sorológicas de precipitinas, LAN-CEFIELD conseguiu separar grupos, nos estreptococos, designados por letras, incluindo-se no grupo C, os estreptococos dos animais.

As propriedades bioquímicas mais significativas, na diferenciação, estão discriminadas no quadro abaixo.

GRUPOS	HIDROLISE DO HIPURATO DE SÓDIO	CRESCIMENTO EM BILE		REDUTASE	FERMENTAÇÃO DE	
		A 10%	40%		sorbitol	trealose
A.....	—	—	—	—	—	+
B.....	+	+	+	—	—	+
C.....	—	+	—	—	+	—
D.....	+) ou—)	+	+	+	+	+

A hidrolise do hipurato de sódio e a maior acidificação da dextrose, considerados por AYRES e colaboradores, como provas valiosas para separar os estreptococos de origem humana dos de origem animal, não foram sempre confirmadas.

Com 173 amostras animais e 75 humanas, EDWARDS não viu diferença na fermentação da lactose, nem da salicina. De maior valor, em sua opinião, foi a fermentação do sorbitol, atacado pelos estreptococos de origem animal e raramente pelos de origem humana, bem como a da trealose, atacada pelos de origem humana e raramente pelos de origem animal. O glicerol comporta-se da mesma maneira que a trealose.

BEZELEY & BATTLE, trabalhando com 457 amostras de estreptococos do cavalo, diferenciaram muito bem o *Streptococcus equi* (do garrotilho), do

St. pyogenes, var. *equi* (de outras afecções inflamatórias do cavalo), levando em conta, principalmente, as provas de fermentação. Estas estavam de acôrdo com as provas sorológicas (precipitinas) de LANCEFIELD, dando aquêles autores a entender que poderiam substituí-las.

No esquema encontrado no Manual de BERGEY é aceita a fermentação do sorbitol como carater básico na distinção entre o *St. pyogenes* e o *St. zooepidemicus*, sendo incluída a fermentação da lactose como carater aleatório. Todo o grupo C não hidrolisa o hipurato de sódio, propriedade que seria peculiar ao *St. agalactiae*.

Os caracteres principais do grupo piogênico do esquema do Manual de BERGEY são: limites de crescimento acima de 10° e a menos 45° de temperatura, hemólise do tipo *beta*, coagulação do leite, raramente, ausência de ação sôbre o manitol e o glicerol.

O germen causador da epidemia em cobaias que estamos estudando apresentava tais caracteres, além de fermentar a lactose e o sorbitol, e não fermentar a trealose.

Conforme acentua LINGELSHEIM, a coagulação do leite está na dependência estreita da fermentação da lactose, tendo essa propriedade certo valor, na sua opinião, na diferenciação do grupo *viridans*, onde há forte fermentação dêsse açúcar e consequente coagulação do leite.

Levando em conta os caracteres que mencionamos acima, o germen isolado na epizootia de cobaia que investigamos se enquadra na espécie *Streptococcus zooepidemicus* de FROST & ENGELBRECHT, segundo o esquema de classificação do Manual de BERGEY. Pelo menos, deverá ser incluído no grupo C de LANCEFIELD.

CONCLUSÕES

Em fins de 1948 e em 1949 foi observada, no Instituto Oswaldo Cruz, uma epizootia da cobaia, a princípio atingindo animais inoculados com *Leishmania enriettii*, e depois animais de proveniência americana, não inoculados, mantidos no biotério do Instituto.

A epizootia foi prontamente debelada com o uso da sulfanilamida, adicionada à reação diàriamente na dose de 10 g para 3 k de ração, aplicada a todo o lote, pelo espaço de 30 dias.

O germen responsável foi identificado ao *Streptococcus zooepidemicus* de FROST & ENGELBRECHT, segundo o esquema de classificação do Manual de BERGEY, devendo ser incluído no grupo C de LANCEFIELD.

A doença se caracteriza pela existência de abscessos cutâneos consequentes a uma linfadenite aguda purulenta e de poliartrite.

Em alguns animais, a linfadenite purulenta e o abscesso cutâneo consecutivo entravam em regressão. Em outros, persistiam até a sua morte, a qual, em alguns, estava ligada à existência de peritonite aguda fibrino-purulenta e de necrose e abscessos no fígado.

A proliferação considerável de fibrócitos observada na região vizinha daquela em que ocorre o processo inflamatório agudo, desperta a atenção do patologista, ao compará-la com o que ocorre em outros animais e no homem, onde não atinge desenvolvimento comparável, embora esteja, naturalmente, presente, como componente habitual do processo em questão.

É necessário que esse detalhe receba a devida atenção quando forem investigados, na cobaia, processos patológicos espontâneos ou experimentalmente provocados.

LITERATURA

AYERS S. A. & RUPP, P.

J. Inf. Dis. 30: 388, 1922.

BEZELY, P. L. & BATTLE, J.

Austral. Vet. J., 16: 142, 1940.

BREED, R. S., MURRAY, E. G. D. & HITCHENS, A. P.

Bergey's Manual of Det. Bact., 6^a ed., London, 1948.

EDWARDS, P. R.

J. Bact. 23 : 259, 1932; 25 : 257, 1933 ; 27 : 257, 1934.

FROST, W. D. & ENGELBRECHT, M. A.

The streptococci. Wisconsin, 1940.

LANCEFIELD, R. C.

J. Exp. Med. 57: 573, 1933.

LINGELSCHEIM, W., in Kolle und Wassermann, V. 4, 2^a Ed., 1912.

WILSON, G. S. & MILES, A. A.

Topley & Wilson's Principles of Bacteriology and Immunity, London. 1947.