

PATOLOGIA DA INFECÇÃO EXPERIMENTAL DE ROEDORES DOMÉSTICOS COM DIFERENTES CEPAS DE *YERSINIA PESTIS*

ERIDAN M. COUTINHO*
DALVA A. MELLO**
JANDYRA M. BARBOSA***

Os autores estudaram 253 ratos domésticos (Rattus norvegicus e Rattus r. frugivorus), infectados experimentalmente (via subcutânea) com duas cepas de Yersinia pestis (cepas "PEXU-19" e "RANGEL"), isoladas de roedores silvestres capturados no nordeste brasileiro (Exú – Pernambuco) e na Venezuela, respectivamente, as quais foram mantidas em meio de cultura e subinoculadas periodicamente.

A sobrevivência dos animais infectados variou de dois a sete dias, sendo os sobreviventes sacrificados no 20º dia após a data da inoculação. Para cada uma das duas espécies de rato, foram empregadas cargas infectantes de intensidades diferentes (750 – 4.250; 7.500 – 41.250 e 75.000 – 750.000 bacilos), correspondentes a cada uma das duas cepas de Y. pestis utilizadas.

A patologia foi estudada em relação ao fígado, baço, pulmão e linfonodo inguinal, órgãos onde as lesões se mostraram mais exuberantes. As lesões hepáticas foram essencialmente representadas por congestão, necrose coagulativa multifocal e infiltração inflamatória aguda portal e sinusoidal, com formação de microabscessos. No baço ocorreu atrofia acentuada dos folículos linfóides de Malpighi, congestão, hemorragia e esplenite aguda abscedada. No pulmão, foi achado freqüente a pneumonite aguda, às vezes acompanhada de abscessos.

De um modo geral, a cepa PEXU-19 revelou maior poder patogênico que a cepa RANGEL, embora, em relação à espécie de roedor infectado não tenha sido possível surpreender diferenças quanto à sua susceptibilidade frente às duas cepas Y. pestis utilizadas no presente trabalho.

*Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães da Fundação Oswaldo Cruz do Ministério da Saúde – Caixa Postal 6034 – Encruzilhada – 50000 – Recife – Pernambuco – Brasil e FESP – Universidade Estadual de Pernambuco – Centro de Anatomia Patológica.

**Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade de Brasília.

***SUCAM – PE (M.S.).

RESULTADOS

Todos os animais infectados desenvolveram uma forma bubo-septicêmica de peste com comprometimento pulmonar secundário, apresentando bacterioscopia positiva no fígado, baço e pulmões. O tempo médio de sobrevivência, foi de dois a sete dias.

1 – Descrição geral dos aspectos histopatológicos

No fígado, predominaram a congestão e a necrose coagulativa multifocal, às vezes coalescente, com destruição de extensas áreas de parênquima. Infiltração inflamatória aguda portal e sinusoidal, com presença de microabscessos centralizados ou não por colônias bacterianas, também foram achados frequentes (Figs. 1 e 2).

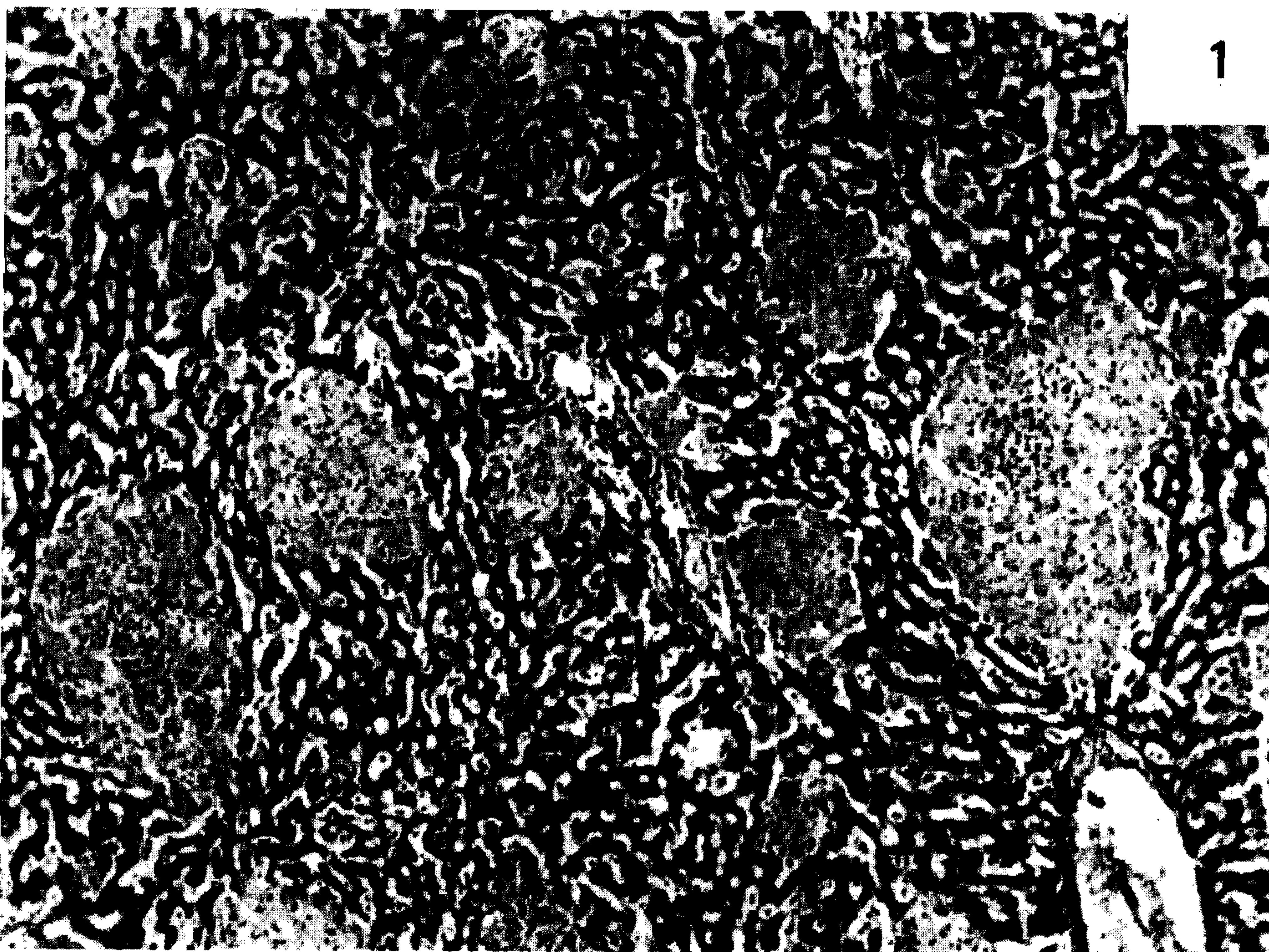


Fig. 1. Necrose hepática coagulativa multifocal, em *Rattus norvegicus* infectados com a cepa PEXU-19. Leitz, obj: 6.3x – oc. 10x

No baço, a atenção foi despertada para a extrema atrofia dos folículos linfóides de Malpighi, acompanhada de fenômenos congestivos e hemorrágicos, além de esplenite aguda, com formação de microabscessos, sobretudo na polpa vermelha (Figs. 3 e 4).

No pulmão, além da congestão e edema, a lesão mais frequentemente observada foi pneumonite aguda, às vezes complicada de pneumonia e formação de microabscessos difusamente distribuídos pelo parênquima pulmonar (Fig. 5).

Os linfonodos mostraram edema, intensa congestão e frequentemente focos de necrose com abscedação (Fig. 6).

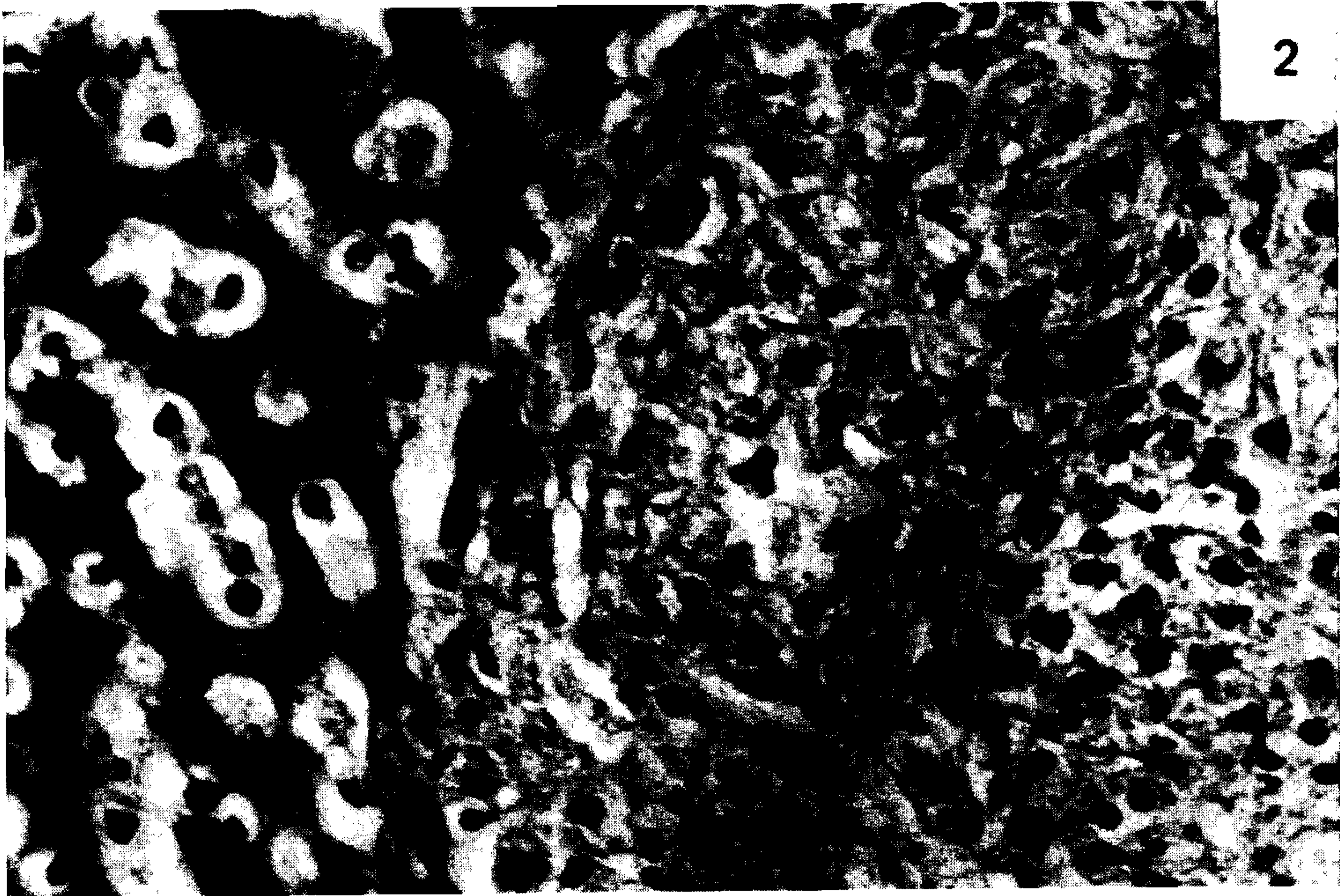


Fig. 2. Aspecto de uma das áreas de necrose, em maior aumento, mostrando o início da abscedação.
Leitz, obj: 40x – oc. 10x.



Fig. 3. Baço com acentuada atrofia linfóide, microabscessos e extensa hemorragia da polpa vermelha.
Leitz, obj: 6.3x – oc. 10x.

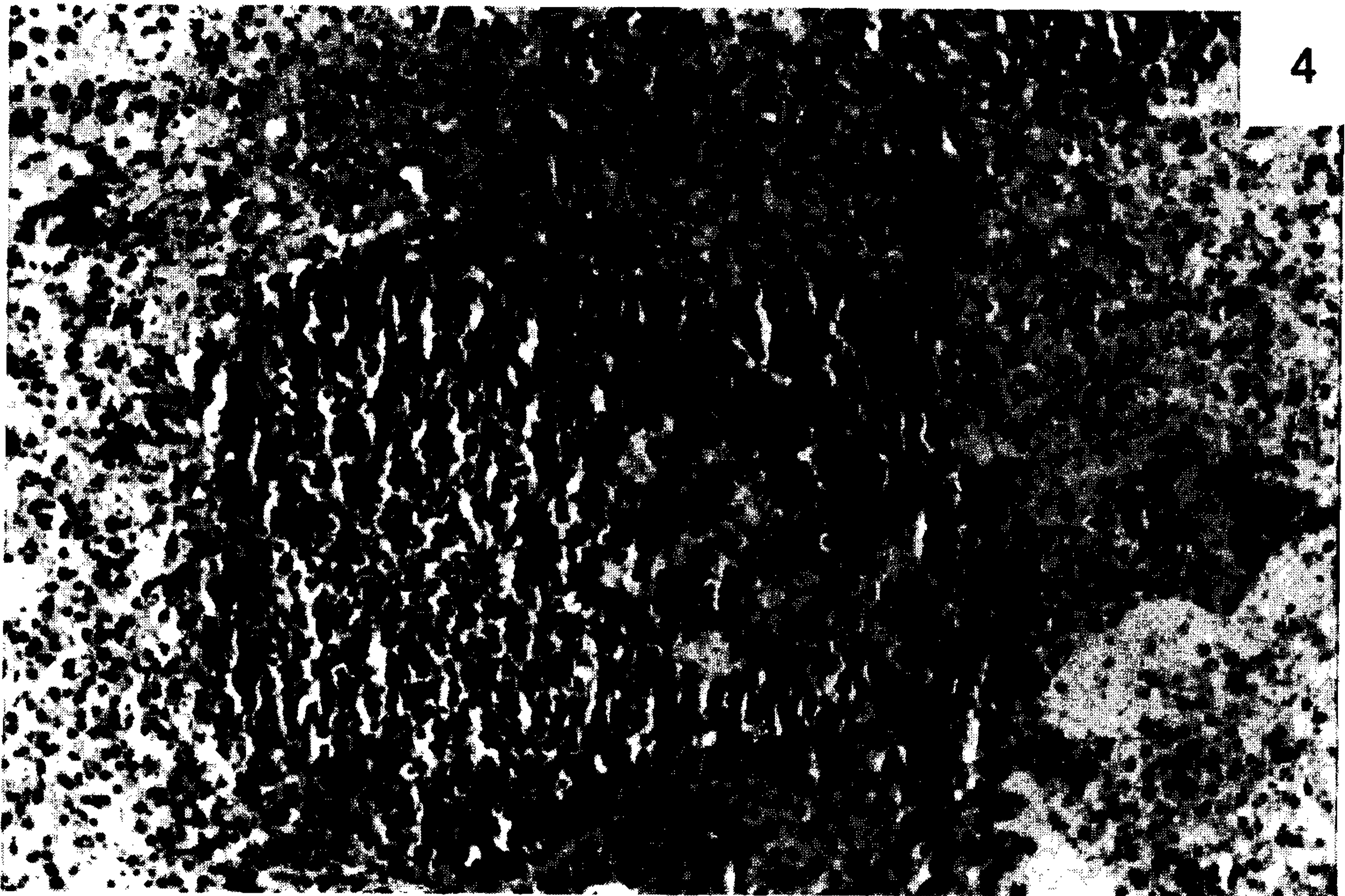


Fig. 4. Detalhe de um dos abscessos esplênicos, em *Rattus r. fugivorus*.
Leitz, obj: 16x – oc. 10x.

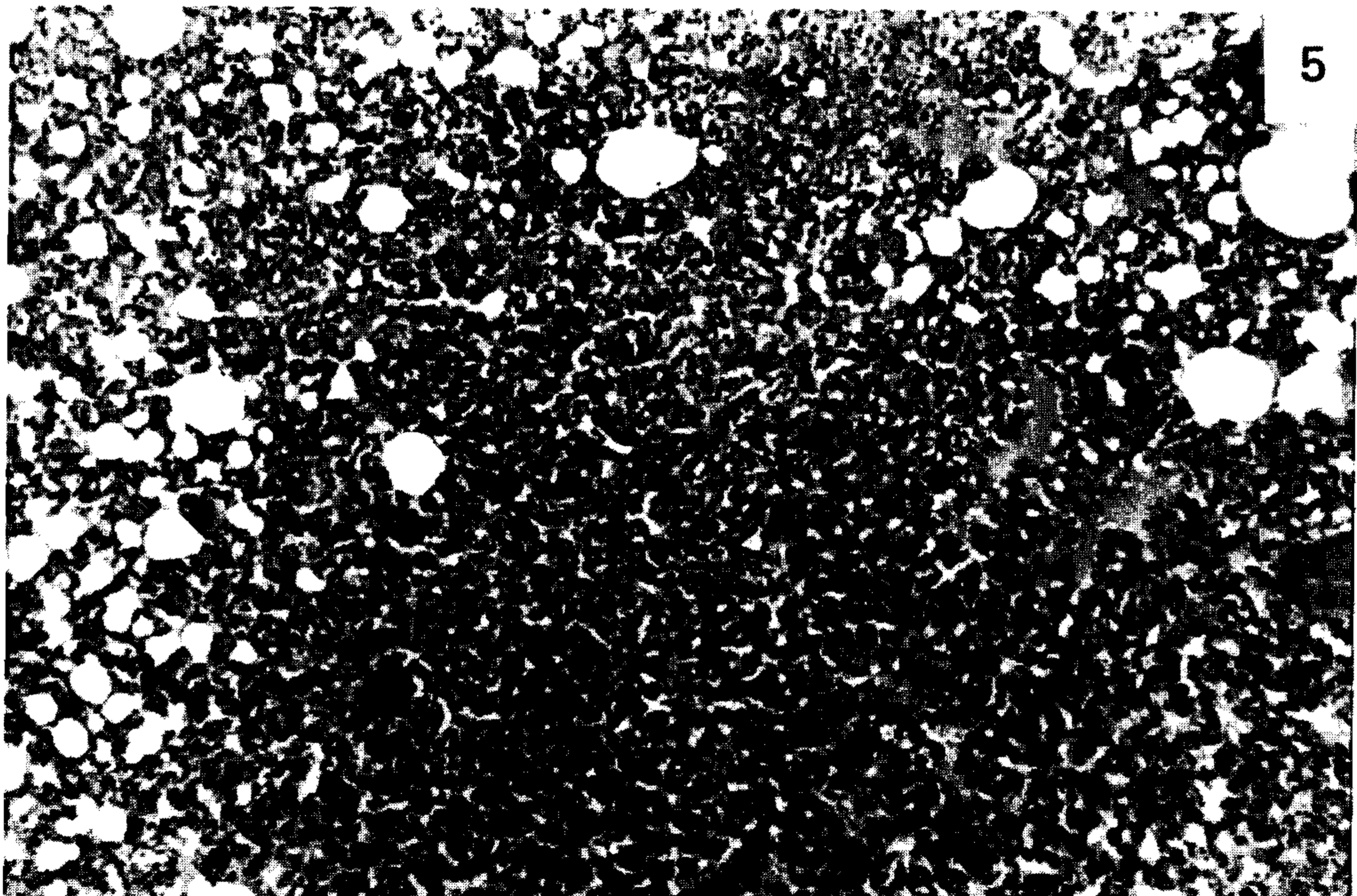


Fig. 5. Foco de hepatização pulmonar com formação de extenso abscesso. (*R. r. fugivorus* – cepa "RANGEL").
Leitz, obj: 6.3x – oc. 10x.

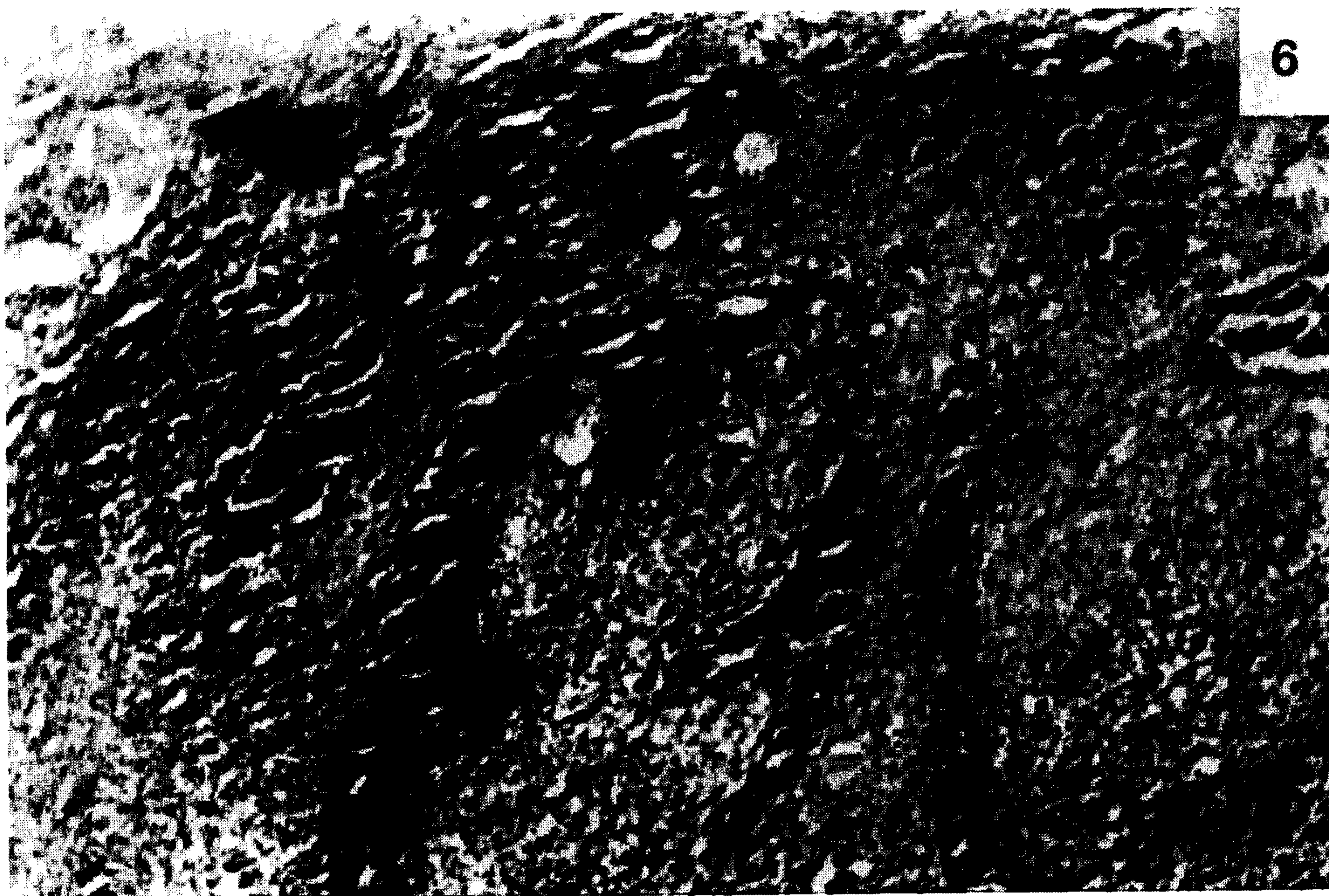


Fig. 6. Acentuada necrose hemorrágica de linfonodo inguinal. (*R. norvegicus* – cepa PEXU-19).
Leitz, obj: 6.3 x – oc. 10x.

2 – Frequência e distribuição das lesões encontradas, em relação à carga infectante e à cepa de *Y. pestis* utilizada

Nas Tabelas I, II e III acham-se especificadas, respectivamente, as lesões hepáticas, esplênicas e pulmonares, e a frequência com que ocorreram, em relação à cepa de *Y. pestis* empregada e à dose bacilífera utilizada.

Analisando-se as lesões hepáticas (Tabela IV), verificou-se que, nas duas cepas, a maior frequência de necrose coagulativa focal acompanhada de formação de abscessos, guardava relação com a intensidade da carga infectante ($p < 0,05$).

TABELA I

Distribuição das lesões hepáticas em relação à cepa de *Yersinia pestis* e à carga bacteriana utilizadas

Lesões	Cepa Rangel						Cepa Pexu-19					
	750 a 4.250 bacilos		7.500 a 41.250 bacilos		75.000 a 750.000 bacilos		750 a 4.250 bacilos		7.500 a 41.250 bacilos		75.000 a 750.000 bacilos	
	nº	%	nº	%	nº	%	nº	%	nº	%	nº	%
Congestão	14	70,0	26	63,4	6	25,0	31	67,4	18	46,2	12	38,7
Hemorragia	3	15,0	3	7,3	3	12,5	4	8,7	1	2,6	1	3,2
Abscessos	3	15,0	7	17,1	11	45,8	10	21,7	8	20,5	10	32,3
Necrose	4	20,0	16	39,0	18	75,0	14	30,4	27	69,2	19	61,3
Hepatite aguda	10	50,0	14	34,1	11	45,8	14	30,4	19	48,7	14	45,2
Esteatose	7	35,0	8	19,5	6	25,0	14	30,4	5	12,8	7	22,6
Fibrose	1	5,0	3	7,3	-	-	2	4,3	-	-	-	-
Normal	1	5,0	2	4,9	-	-	-	-	-	-	-	-
Total de ratos examinados	20		41		24		46		39		31	

TABELA II

Distribuição das lesões esplênicas em relação à cepa de *Yersinia pestis* e à carga bacteriana utilizadas

Lesões	Cepa Rangel						Cepa Pexu-19					
	750 a 4.250 bacilos		7.500 a 41.250 bacilos		75.000 a 750.000 bacilos		750 a 4.250 bacilos		7.500 a 41.250 bacilos		75.000 a 750.000 bacilos	
	nº	%	nº	%	nº	%	nº	%	nº	%	nº	%
Atrofia ou hipoplasia linfóide	11	55,0	26	70,3	17	85,0	31	67,4	26	72,2	21	67,7
Esplenite aguda	6	30,0	15	40,5	6	30,0	18	39,1	6	16,7	13	41,9
Abscessos	3	15,0	6	16,2	6	30,0	12	26,1	15	41,7	14	45,2
Congestão	8	40,0	20	54,1	6	30,0	19	41,3	8	22,2	5	16,1
Hemorragia	3	15,0	4	10,8	5	25,0	14	30,4	14	38,9	6	19,4
Necrose	2	10,0	3	8,1	7	35,0	4	8,7	8	22,2	4	12,9
Normal	3	15,0	-	-	-	-	1	2,2	2	5,6	-	-
Total de ratos examinados	20		37		20		46		36		31	

TABELA III

Distribuição das lesões pulmonares em relação à cepa de *Yersinia pestis* e à carga bacteriana utilizadas

Lesões	Cepa Rangel						Cepa Pexu-19					
	750 a 4.250 bacilos		7.500 a 41.250 bacilos		75.000 a 750.000 bacilos		750 a 4.250 bacilos		7.500 a 41.250 bacilos		75.000 a 750.000 bacilos	
	nº	%	nº	%	nº	%	nº	%	nº	%	nº	%
Pneumonite aguda	13	72,2	22	57,9	9	42,9	36	80,0	32	84,2	24	85,7
Abscessos	2	11,1	1	2,6	8	38,1	4	8,9	4	10,5	4	14,3
Congestão	8	44,4	23	60,5	14	66,7	10	22,2	5	13,2	5	17,9
Hemorragia	2	11,1	6	15,8	1	4,8	3	6,7	3	7,9	3	10,7
Pneumonia	4	22,2	6	15,8	5	23,8	1	2,2	4	10,5	3	10,7
Edema	1	5,6	1	2,6	8	38,1	9	20,0	10	26,3	4	14,3
Normal	-	-	2	5,3	-	-	1	2,2	-	-	-	-
Total de ratos examinados	18		38		21		45		38		28	

TABELA IV

Distribuição percentual das principais lesões hepáticas, esplênicas e pulmonares, provocados pela *Yersinia pestis*, em relação à carga infectante e à cepa utilizadas

Órgãos	Lesões	Cepa Rangel						Cepa Pexu-19					
		750 a 4.250 bacilos		7.500 a 41.250 bacilos		75.000 a 750.000 bacilos		750 a 4.250 bacilos		7.500 a 41.250 bacilos		75.000 a 750.000 bacilos	
		nº	%	nº	%	nº	%	nº	%	nº	%	nº	%
Fígado	Necrose e/ou abscessos	5	25,0	20	48,8	19	79,2	16	34,8	29	74,4	22	71,0
	Hepatite	10	50,0	14	34,1	11	45,8	14	30,4	19	48,7	14	45,2
	Total de ratos examinados	20		41		24		46		39		31	
Baço	Atrofia e/ou hipoplasia linfóide	11	55,0	26	70,3	17	85,0	31	67,4	26	72,2	21	67,7
	Esplenite e/ou abscessos	9	45,0	18	48,6	11	55,0	24	52,2	20	55,6	22	71,0
	Total de ratos examinados	20		37		20		46		36		31	
Pulmão	Pneumonite aguda	13	72,2	22	57,9	9	42,9	36	80,0	32	84,2	24	85,7
	Pneumonia e/ou abscessos	5	27,8	7	18,4	10	47,6	4	8,9	7	18,4	6	21,4
	Total de ratos examinados	18		38		21		45		38		28	

Das lesões pulmonares (Tabela IV), apenas a ocorrência de pneumonia abscedada, nos ratos inoculados com a cepa "RANGEL", guardou relação estatisticamente pouco significativa ($0,05 < p < 0,1$) com a intensidade da carga bacilífera.

Quanto às demais lesões encontradas, não guardaram relação com a quantidade de bacilos inoculados. As duas cepas de *Y. pestis* empregadas comportaram-se, neste particular, de modo semelhante.

Ao comparar estatisticamente as lesões produzidas pelas cepas "PEXU-19" e "RANGEL", verificou-se maior frequência de necrose hepática abscedada nos animais inoculados com a cepa PEXU-19 e dose bacilífera de média intensidade ($p < 0,05$), conforme demonstra a Tabela IV.

A comparação das duas cepas de *Y. pestis* entre si, sem considerar a intensidade da dose infectante, revelou maior frequência de pneumonite nos ratos inoculados com a cepa nordestina (cepa "PEXU-19" = 82.9% x cepa "RANGEL" = 57.1%). Esta diferença foi estatisticamente significativa ($p < 0,05$).

Em relação à espécie de roedor (*R. norvegicus* e *R. r. frugivorus*), a patogenicidade das duas cepas de *Y. pestis* foi semelhante, motivo pelo qual essa variável deixou de ser levada em conta na apresentação dos resultados.

DISCUSSÃO

A apreciação dos aspectos anátomo-patológicos apresentados indica que a patologia da infecção pestosa não é específica, conforme já foi assinalado por outros autores (Adams & Maegraith, 1964), caracterizando-se, essencialmente, nas espécies aqui estudadas, pelo caráter agudo das lesões.

Os achados histopatológicos concordam, aliás, com os dados sobre a susceptibilidade do *Rattus norvegicus* e do *Rattus rattus frugivorus* às duas cepas do *Yersinia pestis* utilizadas no presente trabalho, obtidos anteriormente por Mello (1968), que evidenciou maior susceptibilidade de ambas as espécies de murídeos à cepa isolada no interior de Pernambuco (Cepa PEXU-19).

Por outro lado, ficou patenteado o poder patogênico e a virulência da cepa pernambucana, contrariando assim a opinião de Machiavello (1942 *a* e *b*) de que as cepas de *Y. pestis* isoladas no nordeste brasileiro são geralmente de menor virulência do que as isoladas em outras regiões em períodos epidêmicos. Aliás, em trabalho anterior, Mello (1969), comparando a virulência de 18 cepas de *Y. pestis*, isoladas de casos humanos e de roedores do Nordeste do Brasil, encontrou, com base no cálculo de DL50, uma extrema variabilidade quanto à virulência das mesmas.

Do mesmo modo, em trabalho ainda mais amplo, Karimi et al. (1974) e Karimi, Almeida & Almeida (1974), estudando 407 cepas isoladas de casos humanos, roedores e pulgas, tanto através de cultura como de subinoculação em roedores domésticos e silvestres, concluíram que o rato é relativamente resistente às cepas do nordeste brasileiro (Chapada do Araripe), o que explica a sobrevida de alguns animais durante os surtos epizooticos.

Em relação aos achados histopatológicos, três dentre eles merecem ser comentados. Em primeiro lugar, a constância da pneumonite aguda, lesão pulmonar encontrada com elevada frequência em presença de ambas as cepas de *Y. pestis*. Aliás, outros aspectos lesionais, inclusive o desenvolvimento de pneumonia abscedada, foram surpreendidos em muitos animais, lesões estas encontradas por Finegold et al. (1968) em macacos portadores da forma pneumônica da peste. Outro achado histopatológico interessante diz respeito ao aspecto da polpa branca no baço dos animais infectados, notando-se acentuada atrofia dos folículos de Malpighi, com ausência de centros reacionais, sugerindo um possível bloqueio ou exaustão do sistema imunológico do hospedeiro, face à intensa agressão antigênica provocada pela liberação maciça de endotoxina bacteriana. E finalmente, a frequência e gravidade da necrose hepática, também assinaladas por Pollitzer (1952, 1954), em outros roedores.

O presente trabalho, esclarecendo de modo mais detalhado a patologia da peste experimental em duas espécies de roedores potencialmente capazes de participar da eclosão de surtos epidêmicos em populações humanas, comprovou a possibilidade do desenvolvimento, nesses animais, de lesões hepáticas, esplênicas e pulmonares graves. Tais achados podem explicar, perfeitamente, a alta mortalidade observada em laboratório.

É possível que, pelo menos parcialmente, alguns desses achados possam ser extrapolados para o homem, assegurando assim um melhor conhecimento da patologia provocada pela *Y. pestis* no organismo de outros hospedeiros susceptíveis.

SUMMARY

Two hundred and fifty three domestic rats (*Rattus norvegicus* and *Rattus r. frugivorus*) were experimentally infected with two different strains of *Yersinia pestis* ("Pexu-19" and "Rangel") by subcutaneous route. These strains were isolated from wild rodents from Northeast Brazil (Exu, Pernambuco State) and Venezuela, respectively. Thenceforth, they were maintained in culture and subinoculated into susceptible laboratory mice periodically.

The survival of the infected rats varied from two to seven days. The animals which live longer were killed twenty days after inoculation.

Three different inocula were used in each host (750 – 4.250, 7.500 – 41.250 and 75.000 - 750.000 bacilli).

The pathological lesions were studied in the liver, spleen, lungs and inguinal lymph node where the lesions were found to be more frequent.

The liver lesions consisted of congestion, multifocal coagulative necrosis and acute inflammatory infiltration of portal tracts and sinusoides, with formation of microabscesses. In spleen there was a marked atrophy of the Malpighian lymphoid follicles, as well as congestion, haemorrhages and acute splenitis with abscess formation. In lungs, acute pneumonitis was almost invariably found, sometimes followed by abscess formation.

The Brazilian strain ("Pexu-19") showed a higher pathogenic power when compared to the Venezuelan strain ("Rangel"). However, no difference was detected between the species used as experimental hosts since both of them showed a similar susceptibility to the two strains of *Yersinia pestis* utilized in the present investigation.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAMS, A.R.D. & MAEGRAITH, B.G., 1964. *Clinical tropical diseases*. 3.ed. Blackwell Scientific Publications, Oxford, 555p.
- ALMEIDA, C.R. & ALMEIDA, A.M.P., 1976. *Le probleme de la peste au Brésil*. Conferência realizada no Departamento de Ecologia dos Agentes Patogênicos do Instituto Pasteur. Paris.
- FINEGOLD, M.J.; PETERY, J.J.; BERENDT, R.F.; ADAMS, H.R., 1968. Studies on the pathogenesis of plague. Blood coagulation and tissue responses of *Macaca mulata* following exposure to aerosols of *Pasteurella pestis*. *Am. J. Path.*, 53 (1) :99-114.

- KARIMI, Y.; ALMEIDA, C.R. de.; ALMEIDA, A.M.P. de.; KEYVANFAR, A.; BOURDIN, M., 1974. Particularités des souches de *Y. pestis* isolées au Nord-Est du Brésil. *Ann. Microb. Institut Pasteur*, 125 :243-246.
- KARIMI, Y.; ALMEIDA, C.R. de.; ALMEIDA, A.M.P., 1974. La peste expérimentale chez les rongeurs du Brésil. Dédutions Epidémiologiques. *Bull. Soc. Path. Exot.*, Paris, 67 (6) :591-601.
- MACHIAVELLO, A., 1942 a. Sobrevida y virulencia de la *Pasteurella pestis* (cepas brasileñas). 6. En simbiosis con hongos, micrococos, pneumococos, bacilos gram negativos, corynebacterias, etc., y bajo condiciones ambientales de los tropicos. *Arq. Hig.*, 12 :23-32.
- MACHIAVELLO, A., 1942 b. Virulencia de la *Pasteurella pestis*. 7. Cambios de virulencia bajo diversas condiciones experimentales. *Arq. Hig.*, 12 :33-39.
- MELLO, D.A., 1968. Susceptibilité de *Rattus norvegicus* et *Rattus rattus frugivorus* de la ville de Recife à la *Pasteurelle pestis*. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, 2(3) :127-132, maio/jun.
- MELLO, D.A., 1969. Virulence des souches de *Pasteurelle pestis* isolées em Pernambuco (Brésil). *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo*, 11 (2) :111-114.
- POLLITZER, R., 1952. Plague studies. 4. Pathology. *Bull. Word Health Org.*, Geneva, 5 (3) :337-376.
- POLLITZER, R., 1954. Plague. Geneva, World Health Organization, Monograph Series nº 22.
- SUPERINTENDÊNCIA DE CAMPANHAS DE SAÚDE PÚBLICA. SUCAM., 1975. Resumo estatístico das atividades da Campanha contra a peste. Brasil.
- ZAR, J.H., 1974. Bioestatistical analysis. Prentice-Hall, New Jersey.