

MEMORIAS
DO
INSTITUTO OSWALDO CRUZ

Tomo XXVI

Março — 1932

Fasciculo 1

Bacillus serositidis, nova especie (*)

(Isolado em cultura pura, de um caso humano de
inflamação primitiva das serosas)

pelo

DR. JOSÉ GUILHERME LACORTE

(Com as estampas I—III).

Constitue o presente trabalho um estudo mais pormenorizado da nova especie bacteriana que tivemos oportunidade de descrever, tocando em seus pontos principais em nota publicada no «Brasil Medico», de 13 de dezembro de 1930.

A 25 de Junho de 1930 trouxe-nos o Dr. Pena de Azevedo material colhido da autopsia que acabára de executar juntamente com o Dr. Osvino Pena. O cadaver autopsiado era o de um doente da enfermaria a cargo do Prof. Agenor Porto.

A observação clinica muito minuciosa, contendo exames diarios fornece em resumo as seguintes indicações:

E. C., brasileiro, 20 anos de idade, côr parda, operario.

Nega antecedentes morbidos que possam ter influido na molestia atual. A primeira entrada no hospital foi a 6 de dezembro de 1929, acusando fraqueza, cansaço. Apresentava o corpo edemaciado. A molestia começára por um ataque, dois meses antes, quando jogava foot-ball. Pelo exame

(*) Recebido para publicação a 21 de Julho de 1931.

clinico notou-se pequeno derrame livre no peritoneo e pleura e raros estertores de bronquite. Dentes mal conservados, alguns com fôcos supurativos. Reação de Wassermann negativa no sangue. Dosagem de uréa no sangue — 0,35 ‰. Exame da urina nas 24 horas: volume — 500 c.c., densidade — 1020, cloreto de sodio — 2,2 grs. ‰, uréa — 19 grs. ‰, albumina — 12 grs., sedimento: cilindros granulosos e hialinos, ausencia de hematias. Pelas provas de capacidade funcional dos rins verificou-se que havia disturbio na eliminação da agua, sendo no entanto normais os poderes de concentração e diluição.

Foi feito o diagnostico de nefróse. Fizeram-se varios tratamentos e após tres meses obteve alta já desinfiltrado, porém com albuminuria. Depois de tres meses voltou novamente ao serviço apresentando as mesmas alterações. Durante o tempo em que esteve fóra tratou dos dentes e foi-lhe feita a amigdalectomia pelo Dr. Estevão Rezende.

Iniciou-se o tratamento pelo cloreto de calcio e depois pela tiroidina. Inesperadamente, na tarde de 22 de Junho, acusou o doente fortes cólicas com irradiação pelo torax, seguidas de diarréa e calefrios. Na manhã de 23 apresentava 40 grãos de temperatura, polipnéa, pulso acelerado, abdomen tenso, timpanico, doloroso á palpação e apresentando reação de defeza. Persistia a diarréa e surgiram vomitos. Em consecuencia dessa infecção agúda, grave e inexplicavel veiu o doente a falecer ás 8 1/2 da manhã do dia 25 de Junho de 1930.

O presente caso clinico foi comunicado á Sociedade Medica do Hospital S. Francisco de Assis e publicado, na revista daquela associação, no mês de Janeiro de 1931, pelo Dr. Schmidt Mendes, a cujos cuidados o doente esteve entregue e ao qual agradecemos as anotações clinicas que nos forneceu.

Anteriormente, a 7 de dezembro, já havia sido feita comunicação pelo Dr. Osvino Pena que encarára o aspéto anatomo-patológico do caso e referira as nossas pesquisas bacteriologicas.

A autopsia feita 3 horas após a morte revelou a presença de inflamação fibrino purulenta do peritoneo, pericardio e pleura. Congestão cronica passiva do figado, nefróse. Pelo aspéto geral verificaram os Drs. Osvino Pena e Pena de Azevedo tratar-se de caso não vulgar, dada a ausencia de outras lesões elucidativas. Resolveram colher material para pesquisa o que fizeram em pequena vesicula fechada, na pleura. A eles agradecemos o ter-nos enviado esse material assim como todas as indicações que nos forneceram, principalmente anatomo-patologicas.

O exame microscopico do exsudato das serosas revelou a presença de piocitos polimorfonucleares, fagocitando, na sua maioria, um bacilo Gram negativo. Sob o ponto de vista histo-patológico é um exsudato de inflama-

ção aguda determinado por germens piogenicos. Do exame anatomo-patologico deve se concluir que se trata de uma inflamação primitiva das serosas, pois não havia processo primitivo em outras visceras, como sejam: pancreatite, apendicite, inflamação das vias biliares, qualquer lesão dos intestinos e órgãos respiratorios, enfim um processo que pudesse explicar o acometimento secundario das serosas (O. Pena).

O diagnostico anatomico depois de feito o exame histo-patologico revelou peritonite aguda fibrino purulenta, pleurite aguda fibrino purulenta, pericardite aguda fibrino purulenta, esplenite aguda, nefrose lipoidica, hiperemia cronica passiva e edema dos pulmões, hiperemia cronica passiva e degeneração gordurosa do figado, edema dos membros inferiores.

Pelo exame dos esfregaços suspeitou ainda o Dr. Osvino Pena tratar-se de um caso, que seria igualmente curioso, de inflamação das serosas pelo bacilo de Friedlaender (*Klebsiella pneumoniae*) e nós tivemos a mesma idéa tanto que inoculámos um camondongo logo após as sementeiras. Pensamos tambem em um bacilo do grupo coli-tifico-disenterico. Qualquer desses seria facilmente evidenciado (Estampa II fig. 12 e Estampa III fig. 1).

Semeando o material em meios de cultura conseguimos isolar, em cultura pura, um germen morfologicamente comparavel ao encontrado nos esfregaços e nos córtes das tres serosas, feitos posteriormente. O bacilo isolado apresenta propriedade muito especial, que vai adiante assinalada, relativa á coloração pelo metodo de Gram. Tal propriedade tem valôr na comparação entre o germen dos córtes e o isolado.

Damos a seguir a descrição do novo bacilo:

***Bacillus serositidis*, n. sp.**

(*Eubacteriales* — *Bacillaceae*).

Morfologia: Bastonetes de 1,5 a 3 *micra* por 0,7 a 1,1 *micron*, extremidades arredondadas, geralmente isolados. Em culturas velhas aparecem fórmulas alongadas e algumas cadeias; cora-se facilmente pelos corantes usuais, apresentando, não raro, protoplasma irregularmente corado. (Estampa I fig. 1 e Estampa III fig. 3). São moveis. Tivemos oportunidade de verificar a presença de cilios em cerca de uma centena de preparações e o aspéto que conseguimos apurar, em geral, foi a presença de um cilio quasi sempre polar. Ha casos raros em que se notam dois cilios, e rarissimos tres. Pareceu-nos que se tratava aqui de fases de divisão ou cilios soltos que tivessem aderido artificialmente ao bacilo. Enfim o que se observa de uma maneira por assim dizer constante é a presença de um cilio numa extremidade do bacilo (Ver estampa I figs. 3 a 10). Os cilios se destacam facil-

mente; mesmo nas culturas jovens são poucos os que se conservam ligados ao bacilo.

Têm esporos sub-terminais arredondados, ou levemente ovais, de 0,5 a 0,8 e até 1 *micron* fazendo sempre saliencia no corpo bacilar. Os esporos córam-se facilmente, pelos metodos usuais, devendo-se no entanto ao ser feita a descoloração do bacilo empregar-se, rapidamente, acido bem diluido ou alcool. (Estampa II fig. 11 e Estampa III fig. 2).

Como caracter importante e tipico devemos ainda indicar a presença de granulação metacromatica, quasi sempre de iguais dimensões para todos os bacilos do esfregaço e colocada numa das extremidades do corpo celular. Este aspéto apresenta muita regularidade e só nas culturas velhas se altera, aparecendo granulações maiores ou menores e ás vezes mais de uma no mesmo bacilo. A granulação se evidencia facilmente pelos metodos comumente usados para esses casos. (Ver estampa I fig. 2). Gram negativo. (Estampas I e II figs. 1 e 12). Cumpre assinalar neste ponto o cuidado que se deve ter ao executar-se este metodo de coloração. Recorremos ao processo classico, que é o seguinte: violeta de genciana anilinada—5 minutos; lugol 2 a 3 minutos; descórar pelo alcóol a 95 % até desaparecerem todos os traços do córante (esta operação leva de 1/2 a 2 minutos). Lavar em agua corrente e córar o fundo com fucsina de Ziehl diluida a 1/10. (Gram-Fortschr. d. Med., 1884, 2 ref. Zinsser). A emulsão a córar deve ser pouco carregada de germens e o esfregaço bem homogéneo. Qualquer alteração de tecnica dá em resultado o aparecimento de fórmias Gram-positivas, em maior ou menor quantidade, dando o aspéto de um germen Gram duvidoso, sendo que ás vezes o mesmo bacilo apresenta partes Gram positivas e partes Gram-negativas.

Assinalámos portanto como caracteres morfologicos importantes e capitais: a presença de espóro sub-terminal arredondado ou ovalar, presença de um cilio polar, presença de uma granulação polar metacromatica de dimensões regulares para todos os bacilos da mesma preparação e coloração particular pelo metodo de Gram.

Caracteres culturais. Agar em placas: Depois de 24 horas de estufa a 37°C., vêm-se colonias com aspéto de cabeça de alfinete, circulares, transparentes, de 0,2 a 0,3 mm., bordos levemente irregulares ao microscopio, homogéneas, brilhantes, não confluentes. Depois de 48 horas medem de 0,5 a 1 mm., permanecendo algumas menores. A parte central torna-se mais elevada e fórma um anel mais escuro que o resto da colonia. Depois de 72 horas este aspéto se acentúa, vendo-se ás vezes dois ou mais aneis concentricos. A parte marginal da colonia é transparente e os bordos irregulares.

Agar inclinado: Aspéto a principio transparente, depois esbranquiçado. As colonias são viscosas como si fosse goma e facilmente se destacam do meio.

Agar em picada: Dá bem na superficie e em pequeno trajéto da picada, proximo á superficie.

Gelatina em placas: Depois de 24 horas, simples pontilhado. Depois de 48 horas, as colonias são mais visiveis, oferecendo aspéto transparente, bordos irregulares. O centro vai se escurecendo ficando em algumas transparente. De regra, após 48 a 72 horas começa a liquefação do meio.

Gelatina em picada: Liquefação crateriforme, e, a seguir, estratiforme.

Caldo: Não fórma péle nem dá a turvação comumente observada, mas flócos e fios que partem irregularmente da superficie para o fundo do tubo.

Leite com tournesol: Proliferação insignificante. Não acidifica nem coagula. O tournesol é alterado depois de 8 dias mais ou menos, tornando-se pardo escuro.

Batata: Proliferação insignificante. Aspéto inalterado do meio.

Indol: não fórma.

Nitratos: não reduz a nitritos.

Não fermenta os seguintes hidratos de carbono que possuímos no momento: glicose, lactose, glicerina, manita, dextrina, maltose, sacaróse, levulose, arabinose, galactose, rafinose, amigdalina, ramnose, xilose, salicina, eritrita, adonita, inolina, manose, sorbita, inosita, dulcita, esculina, melecitose e trealose.

Não liquefaz sôro coagulado.

Temperatura ótima 37° a 40°C..

A emulsão dos bacilos, colocada em empola fechada, resiste, em banho maria, até 90°C., durante 1 hora.

Não apresentou ação patogénica para coelhos, cobaias, ratos e camondongos, usando-se os processos classicos de inoculação e passagens.

Aglutininas: Sôro de coelho inoculado com emulsão de germens vivos exerceu poder aglutinante até 1/200 sobre os mesmos. Sôro de coelho normal não teve o menor poder.

Fixação do complemento: O mesmo sôro do coelho inoculado, que serviu para a prova de aglutinação, fixou fortemente o complemento de cobaia em presença de emulsão de germens; tal não se observou com o sôro de coelho normal.

RESUMO E CONCLUSÕES.

De um caso anatomo-patologico curioso de inflamação *primitiva das serosas*, resolveram os Drs. Osvino Pena e Pena de Azevedo entregar-nos material para exame bacteriologico.

Este revelou a presença de um germen com propriedades desconhecidas, o qual denominamos *Bacillus serositidis*, de acôrdo com a classificação norte-americana.

O bacilo isolado tem os mesmos caracteres morfologicos do encontrado nas serosas, tanto nos esfregaços do pús como nos córtes, razão porque julgamos tratar-se do mesmo germen. Aventamos ainda a hipotese de ter sido ele *com muita probabilidade* o responsavel pela infeção de que veio a falecer o doente de que se trata no presente trabalho, pelas seguintes razões: *O doente morreu evidentemente da inflamação fibrino-purulenta das serosas. Esta só podia ter sido provocada pelo bacilo visivel nos esfregaços e nos córtes, sendo ausentes quaesquer outros elementos que expliquem o fáto. Este bacilo corresponde morfologicamente ao isolado por nós em cultura pura.*

EXPLICAÇÃO DAS ESTAMPAS I—III

(Os desenhos foram feitos com ocular Zeiss 10 ×, obj. 1,35 Winkel e ao nivel da mesa).

ESTAMPA I

Fig. 1—*Bacillus serositidis*. Cultura de 24 horas. Metodo de Gram. Coloração do fundo pela fucsina de Ziehl diluida a 10 % em agua distilada.

Fig. 2—*Bacillus serositidis*. Cultura de 24 horas. Metodo de Neisser-Eyre. Vêm-se as granulações polares córadas metacromaticamente.

Figs. 3-10—*Bacillus serositidis*. Cultura de 24 horas. Metodo de Cesares Gil. Vêm-se os cilios apanhados em diferentes aspétos e em varios campos da preparação.

ESTAMPA II

Fig. 11—*Bacillus serositidis*. Cultura de 48 horas. Metodo de Moeller modificado. Vêm-se os espóros subterminais. O resto do bacilo apresenta-se com o protoplasma mais ou menos vacuolado.

Fig. 12—Córte do peritoneo. Fixação pelo liquido de Zenker, inclusão em parafina e córte de 5 micra, coloração pelo metodo de Gram. Vêm-se os leucocitos fagocitando, na sua grande maioria, o *Bacillus serositidis*.

ESTAMPA III

Microfotografias.

- Fig. 1—Aumento de 1500 vezes. Córte do peritoneo, o mesmo que serviu para o desenho representado na estampa II, fig. 12. Aqui também se vêem os leucocitos fagocitando o *Bacillus serositidis*.
- Fig. 2—*Bacillus serositidis*. Cultura de 24 horas. Coloração pelo método de Gram. Microfotografia do mesmo esfregaço que serviu para o desenho apresentado na figura 1 da estampa I.
- Fig. 3—*Bacillus serositidis*. Cultura de 48 horas. Demonstração dos esporos. Mesmo esfregaço que serviu para o desenho representado na fig. 11 da Estampa II.

As microfotografias foram feitas pelo Dr. A. Godoy a quem agradecemos.
