

## ISOLAMENTO DE *CORYNEBACTERIUM DIPHTHERIAE* DE LÍQUIDO ESPERMÁTICO

THAÍS LISBÔA MACHADO, LUIZ CARLOS D. FORMIGA/\*, RAIMUNDO DIOGO MACHADO & RUI TER R. DA SILVA\*\*

Instituto de Microbiologia, UFRJ, Caixa Postal 68040, 21944 Rio de Janeiro, RJ, Brasil \* Faculdade de Ciências Médicas, UERJ, Rio de Janeiro, RJ, Brasil \*\* Instituto de Saúde do Distrito Federal, Brasília, DF, Brasil

**Isolation of *Corynebacterium diphtheriae* from sperm** – *The isolation of toxigenic Corynebacterium diphtheriae from sperm is reported. The organism was identified through the investigation of fluorescence under the UV light, the presence of pirazinecarboxilamidase enzyme (Pyz), in vitro and in vivo and virulence methods (single radial immunodiffusion, cell culture, guinea pig intradermic test). The strain was initially considered nontoxinogenic by single radial immunodiffusion, but its virulence was observed afterwards, when we applied the tests already mentioned. The strain could be considered a "Diphtheroid" without adequate specification.*

Key words: *Corynebacterium diphtheriae* – diphtheroid – sperm – mass screening – cell culture

A difteria é atualmente uma doença incomum em muitas partes do mundo. A queda nas taxas de morbidade e mortalidade é decorrente de vacinação em massa (Formiga, 1974; Kalapothaki et al., 1984). Em países em desenvolvimento, onde somente um pequeno percentual das crianças é imunizado, a doença é endêmica e muitas mortes ainda ocorrem por difteria (Chen et al., 1985; Kjeldsen et al., 1985). Mesmo assim, em regiões onde grande parte da população foi imunizada, ainda ocorrem surtos de difteria por causa dos baixos níveis de anticorpos protetores em adultos (Bjorkholm et al., 1987; Kjeldsen et al., 1985; Rappuoli et al., 1988). Além das vias respiratórias, o bacilo diftérico também coloniza a pele, sendo as lesões cutâneas importantes na disseminação do bacilo pela população e na colonização das vias respiratórias, principalmente entre pessoas de baixo nível sócio-econômico (Bjorkholm et al., 1987; Formiga et al., 1986; Nogueira, 1987). O bacilo pode ainda produzir quadros clínicos menos freqüentes e tem sido referido como agente etiológico de endocardites, vulvovaginites e infecções do SNC (Guimarães & Galvão, 1976).

### MATERIAL E MÉTODOS

Em agosto de 1985 recebemos do Instituto

---

Trabalho realizado com auxílio do CNPq, processo nº 40: 24.19/86.

Recebido em 17 de outubro de 1988.

Aceito em 24 de janeiro de 1989.

de Saúde do Distrito Federal (Secretaria de Saúde) diversas amostras com diagnóstico presuntivo de *Corynebacterium diphtheriae*. Uma delas era proveniente de espermocultura e atóxigena (Elek e Imunodifusão Radial Simples – IRD). Esta amostra foi submetida a diversos testes laboratoriais utilizados para confirmação de culturas suspeitas de *C. diphtheriae* e aos testes de virulência *in vitro* e *in vivo*, como descritos por Formiga (1986).

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

Alguns testes adicionais foram realizados e a amostra manose e amido positiva, produtora de desoxirribonuclease, toxígena no teste intradérmico (cobaio), demonstrou efeito citopático quando submetida ao teste de virulência em cultura de células Vero (African Green Monkey Kidney Cells). Um efeito citopático de pequena intensidade, quando comparado à amostra PW8, foi neutralizado por antitoxina diftérica.

Durante a confirmação de culturas suspeitas, a fluorescência dessa amostra no meio B de King nos chamou a atenção, uma vez que, anteriormente, na triagem de 33 amostras de bastonetes Gram positivos isoladas de trato gênito-urinário, somente quatro produziram porfirina e, apenas uma possuía comportamento bioquímico semelhante ao bacilo diftérico, embora produzisse a enzima urease (Formiga, 1974). Também a ausência da enzima pirazina-carboxilamidase nos levou a reexaminar sua toxigenicidade pelo teste de virulência em cultura de células.

Diversos são os trabalhos que descrevem infecções diftéricas em sítios anatômicos onde não se esperaria o achado deste microrganismo. Love et al. (1981) descreveram um caso de endocardite bacteriana em um rapaz de 16 anos que havia recebido imunização completa acrescida de doses de reforço, o que não impediu a infecção pelo microrganismo. Os autores fizeram ainda uma revisão dos casos de endocardite bacteriana pelo bacilo e concluíram que é uma doença pouco freqüente, que a doença cardíaca congênita aumentaria a susceptibilidade a este patógeno assim como para outros agentes etiológicos, e que tem sido vista em pessoas jovens, em climas quentes, na era dos antibióticos.

Jelsma (1973) aparentemente reportou o primeiro caso de cisto cervical intramedular causado por *C. diphtheriae*, variedade *gravis* já que na literatura só se encontram relatos sobre o envolvimento da medula espinhal pela toxina, mas não sobre a invasão da medula por este microrganismo. Neste caso, o bacilo provavelmente foi originário de faringite associada à broncopneumonia. O autor também fez uma revisão dos primeiros casos de envolvimento tóxico ou mesmo do bacilo propriamente dito em outros pontos do organismo, que não o sistema respiratório.

Menos comuns ainda são os casos de difteria vulvovaginal, que ocorrem em crianças de pouca idade (Guimarães & Galvão, 1976).

O bacilo pode sobreviver sobre os objetos por muitos dias; no leite e em produtos alimentares por 10 a 15 dias, mas a transmissão se dá principalmente por gotículas produzidas pelos doentes e portadores. As portas de entrada para o bacilo são as mucosas da garganta, do nariz e das vias respiratórias superiores; menos freqüentemente o germe penetra pelas mucosas dos olhos, órgãos sexuais externos e na pele lesada.

A importância epidemiológica de bacilos toxígenos em oro e nasofaringe, e ainda em lesões de pele, já foi bem discutida, principalmente quando se trata de populações como a nossa onde a percentagem de crianças imunizadas é baixa, mas é alta a taxa de portadores.

É sabido que em populações com grandes taxas de pessoas imunes, decresce o número de portadores do bacilo diftérico toxígeno, talvez pela perda de vantagem seletiva que proporcio-

na a toxina para sobrevivência do bacilo no seu habitat natural, como também para sua transmissão (Chen et al., 1985). Então, fatores envolvidos na adesão bacteriana, colonização e escape dos mecanismos de defesa do hospedeiro são necessários e talvez eles aumentem a capacidade de colonização e sobrevivência do bacilo toxígeno em portadores saudáveis com altos títulos de antitoxina, aumentando a probabilidade de disseminação e produção de doença por essas cepas. Tais fatores foram considerados importantes na ocorrência do surto de difteria entre 1984 e 1986 na Suécia, já que todos os casos clínicos e fatais de difteria foram causados por amostras do mesmo grupo, sugerindo que o surto foi produzido por uma única cepa que provavelmente possuía um fator de virulência além da toxigenicidade (Rappuoli et al., 1988). Entre nós, diferenças têm sido observadas em amostras oriundas de pacientes diversos, principalmente quanto a sua capacidade de adesão e fermentação de sacarose (Formiga, 1985).

Este relato chama a atenção para os microrganismos isolados de sítios normalmente assépticos e encontrados em grande número, que devem ser identificados a nível de gênero (Formiga & Camello, 1988) e demonstra que sem adequada especificação, amostras Gram positivas, apesar de serem isoladas em cultura pura, podem ser freqüentemente referidas apenas como "difteróides" em nichos em que, normalmente, não esperaríamos surpreender o bacilo diftérico.

## RESUMO

**Isolamento do *Corynebacterium diphtheriae* de líquido espermático** – Descrevemos o isolamento de *Corynebacterium diphtheriae* toxígeno de espermocultura. O microrganismo foi identificado pelo teste de fluorescência sob luz ultravioleta, pesquisa da enzima pirazina-carboxilamidase (Pyz), testes de virulência *in vitro* e *in vivo* (imunodifusão radial simples, cultura de células e teste intradérmico em cobaio). A amostra foi inicialmente considerada atóxigena pelo teste de imunodifusão radial simples, mas sua virulência foi observada posteriormente quando os testes acima foram aplicados. Sem adequada especificação, a amostra poderia ter sido considerada como um "difteróide".

Palavras-chave: *Corynebacterium diphtheriae* – difteróides – esperma – triagem – cultura de células

REFERÊNCIAS

- BJORKHOLM, B.; OLLING, S.; LARSON, P. & HAGBERG, L., 1987. An outbreak of diphtheria among Swedish alcoholics. *Infection*, 15: 354-358.
- CHEN, R. T.; BROOME, C. V.; WEINSTEIN, R. A.; WEAVER, R. & TSAI, T. F., 1985. Diphtheria in the United States, 1971-1981. *Am. J. Publ. Hlth.*, 75: 1393-1397.
- FORMIGA, L. C. D., 1974. *Isolamento e caracterização de bastonetes Gram-positivos referidos como "difteróides"*. Tese de Mestrado. Instituto de Microbiologia da UFRJ, Rio de Janeiro, RJ, Brasil, 86 p.
- FORMIGA, L. C. D., 1985. Difteria. Enfoque microbiológico-epidemiológico. Importância das lesões cutâneas e novas possibilidades de diagnóstico. *An. Bras. Dermatol.*, 60: 337-338.
- FORMIGA, L. C. D., 1986. Diagnóstico microbiológico da difteria. *Rev. Bras. Patol. Clin.*, 22: 52-58; 90-93; 122-130.
- FORMIGA, L. C. D.; ASSIS, A. C. B.; RANGEL, L. B. A.; CAMELLO, T. C. F.; SUASSUNA, I.; MARTINS NETTO, E. & MARSDEN, P. D., 1986. Isolamento de *Corynebacterium diphtheriae* de úlceras cutâneo-mucosas por Leishmania. *Rev. Bras. Patol. Clin.*, 22: 202-204.
- FORMIGA, L. C. D. & CAMELLO, T. C. F., 1988. Quando, por que, e como identificar os corineformes - comentários adicionais. *Rev. Bras. Patol. Clin.*, 24: 62-64.
- GUIMARÃES, J. X. & GALVÃO, A. L. A., 1976. Difteria. p. 362-377. In: R. Veronesi. *Doenças Infecciosas e Parasitárias*, 6ª ed. Guanabara Koogan. Rio de Janeiro.
- JELSMA, F., 1973. Cervical intramedullary cyst due to *Corynebacterium diphtheriae* Gravis. *J. Neurosurg.*, 38: 78-80.
- KALAPOTHAKI, V.; SAPOUNAS, T.; XIROUCHAKI, E.; PAPOUTSAKI, G. & TRICHOPOULOS, D., 1984. Prevalence of diphtheria carriers in a population with disappearing clinical diphtheria. *Infection*, 12: 33-35.
- KJELDEN, K.; SIMONSEN, O. & HERON, I., 1985. Immunity against diphtheria 25-30 years after primary vaccination in childhood. *Lancet*, 20: 900-902.
- LOVE, J. W.; MEDINA, D.; ANDERSON, S. & BRANNIFF, B., 1981. Infective endocarditis due to *Corynebacterium diphtheriae*: report of a case and review of the literature. *Johns Hopkins Med. J.*, 148: 41-42.
- NOGUEIRA, S. A., 1987. *Estudo dos portadores cutâneos do Corynebacterium diphtheriae em escolares do município do Rio de Janeiro*. Tese de doutorado. Faculdade de Medicina, UFRJ, Rio de Janeiro, RJ, Brasil, 115 p.
- RAPPUOLI, R.; PERUGINI, M. & FALSEN, E., 1988. Molecular epidemiology of the 1984-1986 outbreak of diphtheria in Sweden. *New Engl. J. Med.*, 318: 12.