

# *Dermatophilus congolensis*. I. SEU ISOLAMENTO DE BOVINOS E ALGUNS ASPECTOS MORFOLÓGICOS E FISIOLÓGICOS<sup>1</sup>

LUIZ CELSO HYCINO DA CRUZ<sup>2</sup>

SINOPSE.- Foram isoladas dez amostras de *Dermatophilus congolensis* de bovinos de São Paulo, Guanabara, Rio de Janeiro, Piauí, Espírito Santo e Goiás.

Foram estudadas algumas das características fisiológicas do germe como a influência de alguns fatores sobre a atividade proteolítica, o papel do CO<sub>2</sub> no ciclo vital, a sensibilidade à penicilina e a aerotaxia negativa dos zoósporos. A morfologia foi estudada em meios sólidos, semi-sólidos e líquidos.

*Palavras chaves adicionais para índice:* Atividade proteolítica, influência do CO<sub>2</sub> no ciclo vital, sensibilidade à penicilina, produção de cristais, aerotaxia, infecção experimental, classificação.

## INTRODUÇÃO

O agente da dermatite micótica foi descrito pela primeira vez em 1915 por Van Saceghem, que o denominou *Dermatophilus congolensis*. Outros nomes têm sido dados a este microrganismo; exemplos: *Actinomyces dermatonomus* ou *Nocardia dermatonomus* Bull 1929; *Polysepta dermatonomus* Thompson & Bisset 1957; *Polysepta pedis* Thompson & Bisset 1957; *Rhizobium* sp. Thompson 1954. Mais recentemente, Austwick (1958), revendo a literatura sobre o gênero *Dermatophilus* e suas relações com infecções propôs a criação da nova família *Dermatophilaceae*, colocando-a junto à família *Actinomycetaceae* de Waksman & Henrici (1943) na ordem *Actinomycetales* (Buchanan 1917, 1918). Sugeriu, ainda, que o gênero *Dermatophilus* ficasse, inicialmente, constituído das três espécies: *D. congolensis*, *D. dermatonomus* e *D. pedis*.

Relações entre os agentes da estreptotricose bovina e da dermatite das ovelhas foram primeiramente mencionadas por Hudson (1937). Mémery (1961) fortaleceu esta idéia, sugerindo que não havia evidências para justificar que *D. congolensis*, *D. pedis* e *D. dermatonomus* se mantivessem como espécies separadas, propondo que fosse dado o nome genérico de *Dermatophilus*.

Gordon (1964), em minucioso estudo comparativo feito com numerosas amostras, mostrou não haver diferenças significativas entre elas. Sugeriu que todos os nomes acima citados fossem colocados na sinonímia de *Dermatophilus congolensis* Van Saceghem 1915. Este ponto de vista obteve o apoio de Roberts (1965a) que demonstrou a uniformidade antigênica entre todas as amostras. Vigier e Balis (1967) confirmaram estes achados.

O *D. congolensis* foi isolado pela primeira vez no Brasil, de ovinos, por Londero *et al.* (1966). Posteriormente,

foi encontrado em equino (Londero *et al.* 1967), em bovinos (Barbosa *et al.* 1967, Londero *et al.* 1968, Portugal 1968, 1970) e em caprinos e ovinos deslançados (Barbosa *et al.* 1968).

A técnica de isolamento de Haalstra (1965), baseada no quimiotactismo dos zoósporos pelo CO<sub>2</sub>, tem sido utilizada com bons resultados em alguns casos (Kaplan & Johnston 1966) e, sem sucesso em outros (Nicolet *et al.* 1967). Barbosa *et al.* (1967) obtiveram bons resultados mas, no ano seguinte (Barbosa *et al.* 1968), trabalhando com 56 animais infectados, só conseguiram isolar o *D. congolensis* 35 vezes.

Em meios líquidos, o crescimento ocorre sob a forma de colônias, na interface líquido-vidro. Há formação, em alguns casos, de película na superfície e um depósito no fundo do tubo, permanecendo o líquido claro (Bull 1929, Edgar & Keast 1940, Chodnik 1956, Hart *et al.* 1967, Atalaia & Mario 1968, Portugal 1970).

Segundo Roberts (1957a), o tipo de crescimento em meio líquido é dependente do tamanho do inóculo; utilizando-se densa suspensão de formas cocóides, surge uma vegetação homogênea, com turvação e sedimento mucóide. Uma suspensão fraca, ao contrário, dá origem a colônias filamentosas, permanecendo claro o meio.

Na opinião de Pier *et al.* (1963) e Nicolet *et al.* (1967), a uréia é hidrolisada pelo *D. congolensis*, enquanto Atalaia e Mario (1968) e Portugal (1970) afirmam que o esquizomiceto em apreço é incapaz de hidrolisá-la.

A bactéria hidrolisa a gelatina segundo Chodnik (1956), Roberts (1957a), Pier *et al.* (1963), Bugyaki (1959) e Portugal (1970); não a hidrolisa, no conceito de Atalaia e Mario (1968).

Bull (1929) e Plowright (1958), que investigaram a ação do *D. congolensis* sobre meios com ovo, acharam que ele foi incapaz de digerir este meio.

Verificando a ação da mesma bactéria sobre meios com soro, Mason e Bekker (1934), Plowright (1958), Chodnik (1956) e Pier *et al.* (1963) cultivaram o esquizomiceto em meio de Löeffler, achando que há diges-

<sup>1</sup> Aceito para publicação em 25 de abril de 1974.

Parte da tese apresentada para obtenção do grau de M.Sc. perante o Instituto de Biologia da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ).

<sup>2</sup> Professor Assistente, M.Sc., regente da disciplina de Microbiologia do Instituto de Biologia da UFRRJ, Km 47, Rio de Janeiro, GB, ZC-26.

tão. De acordo com Bull (1929), Roberts (1957a) e Egerton (1964), isto não ocorre. Gordon (1964), utilizando o meio em tela e trabalhando com 27 amostras, de diferentes fontes e origens, observou que houve variações na atividade proteolítica das mesmas.

Sob a ação do esquizomiceto, o leite é coagulado e em seguida peptonizado, segundo Bull (1929), Mason e Bekker (1934), Edgar e Keast (1940), Thompson (1954), Chodnik (1956), Roberts (1957a), Bugyaki (1959), Pier *et al.* (1963), Plowright (1958) e Portugal (1970). Gordon (1964) encontrou apenas uma amostra que não atacou o leite.

No Brasil, as infecções por *D. congolensis*, só recentemente constatadas, têm tido sua incidência consideravelmente aumentada.

Ao comunicarmos o isolamento do *D. congolensis* de bovinos provenientes de vários Estados do Brasil, apresentamos neste trabalho, realizado no Instituto de Biologia da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, em Itaguaí, RJ, alguns resultados do estudo geral de sua fisiologia, com vistas à elaboração futura de meios para realizar a profilaxia da dermatofilose.

#### MATERIAL E MÉTODOS

As amostras de *D. congolensis* utilizadas foram isoladas de crostas de dez bezerros com dermatite exsudativa, provenientes de Santa Cruz (Estado da Guanabara), Chavantes (Estado de São Paulo), Aroazes (Estado do Piauí), Itaguaí (Estado do Rio de Janeiro), Rio Verde, Jataí e Cachoeira Alta (Estado de Goiás) e Castelo (Estado do Espírito Santo). Em nossos trabalhos experimentais foi utilizada a amostra "Santa Cruz".

#### Técnica de isolamento

Foi utilizada, para o isolamento, a técnica de Haalstra (1965), que se baseia na saída dos zoósporos das hifas em ambiente úmido e no quimiotactismo positivo destes pelo CO<sub>2</sub> (Roberts 1963a). Foi executada da seguinte maneira: fragmentos de crostas foram colocados no fundo de tubo de ensaio (13 x 100 mm), presos por uma tela de arame e cobertos com água destilada. Após três horas de repouso em temperatura ambiente, o tubo foi colocado em uma jarra fechada com cerca de 20% de CO<sub>2</sub>. Após quinze minutos, com uma alça de platina, foram retiradas gotas da superfície, as quais foram semeadas em placas de ágar infusão de cérebro e coração de bovino, Difco e ágar sangue de bovino. A incubação foi feita a 37°C em ambiente com cerca de 20% de CO<sub>2</sub> e também em presença de ar atmosférico.

Macerado de crostas, suspenso em salina, sem exposição prévia a ambiente de CO<sub>2</sub>, foi semeado diretamente em placas. As placas foram incubadas como anteriormente descrito.

#### Meios de cultura

**Meios com soro.** O meio básico foi soro puro de equino. Em experiências comparativas foram adicionados os

seguintes componentes, separadamente, a fim de se ter uma concentração final de soro de 75%:

caldo simples;  
caldo glicosado a 1% (meio de Loeffler);  
água peptonada a 0,5% e a 5%;  
solução de extrato de carne a 0,3% e a 1%;  
" " glicose a 1%;  
" " " " " " + água peptonada a 0,5% aa;  
" " " " " " + " " " " 5% aa;  
" " " " " " + sol. de ext. de carne a 0,3% aa;  
" " " " " " + " " " " 1% aa;  
" " cloreto de sódio a 0,85%; " " " " " " +  
" " hidrolisado de gelatina ("Celysate", BBL) a 5%;  
" " " " " lactalbumina ("Lactalsate", BBL) a 5%;  
partículas de carne, carbonato de cálcio e fitona ("Cooked meat phytone medium", BBL).

Os meios foram distribuídos em tubos (15 x 180 mm) e aquecidos em forno "Pasteur" a 80°C para coagulação.

**Meios com ovo.** Foram elaborados três tipos de meios com ovo, utilizando-se ovo integral, gema ou somente clara. A três partes de ovo (integral, gema ou clara), homogeneizadas em balão com pérolas de vidro, juntou-se uma parte de salina (sol. de NaCl a 0,85%). Os meios foram distribuídos em tubos (15 x 180 mm) e coagulados em forno "Pasteur" a 80°C, em posição inclinada.

**Meio com gelatina.** Foi preparado um tipo de meio, com Bacto peptona 1%, extrato de carne 0,3% e gelatina 12%. O meio foi esterilizado por tinalização.

**Meio para determinação da urease.** Foi usado o "Urea-se test medium", BBL: uréia 2%, fosfato monopotássico 0,91%, fosfato di-sódico 0,95%, extrato de levedura 0,01% e vermelho de fenol 0,001%. O meio foi esterilizado por filtração em filtro de Seitz.

**Leite com azul de bromotimol.** Leite fresco de vaca, desnatado por agitação em balão e filtrado, foi adicionado de 0,1% de uma solução alcoólica a 1,6% de azul de bromotimol. O meio foi tinalizado em tubos (15 x 180 mm).

**Caldo simples.** O caldo simples utilizado tinha a seguinte composição: proteose peptona (Difco) 1%, extrato de carne (Difco) 0,3%, cloreto de sódio 0,5%.

**Ágar sangue.** O ágar simples (fundido e resfriado a 50°C) foi adicionado de 10% de sangue (desfibrinado e estéril) de equino.

#### Infecção experimental

Um coelho foi inoculado por pincelagem de uma suspensão em salina do macerado de crostas, após depilação e ligeira escarificação da pele.

#### Exames microscópicos

As crostas, maceradas em gral e suspensas em salina, foram examinadas pela microscopia de contraste de fase e após coloração pelo método de Gram.

As colônias na superfície dos meios sólidos foram examinadas ao microscópio estereoscópico, ao microscópio de contraste de fase e mediante coloração de Gram.

Os crescimentos em meio semi-sólido (infusão de cérebro e coração, Difco, acrescida de 0,7% de ágar) e em

meio líquido foram examinados ao microscópio estereoscópico. Com auxílio de pipeta "Pasteur", as microcolônias foram retiradas e examinadas entre lâmina e lâmina, ao contraste de fase ou mediante coloração pelo azul de algodão láctico.

#### Sensibilidade à penicilina

A sensibilidade do *D. congolensis* à penicilina foi testada pelo método de diluição em tubos com meio semi-sólido e pelo processo dos discos.

#### Preparação do inóculo

A partir de crescimento (48 h a 37°C) em superfície de ágar infuso de cérebro e coração (Difco), foi preparada uma suspensão em caldo simples. A densidade da turvação foi ajustada ao tubo dez da escala de MacFarland, que equivale a  $\pm 10^8$  céls/ml. Desta suspensão foram feitas diluições decimais no mesmo meio, até a concentração de  $\pm 10^2$  céls/ml.

#### Inoculação dos meios

**Hidrólise da uréia.** No meio utilizado para este fim, foi semeado um inóculo constituído de quantidade liberal de crescimento bacteriano (turvação superior ao tubo 10 da escala de MacFarland).

**Hidrólise da gelatina.** A semeadura em meio com gelatina foi feita por picada no meio, distribuído em tubos de 10 x 160 mm.

**Ação sobre meios com soro e ovo.** A ação sobre estes tipos de meios foi apreciada mediante semeaduras por estrias, com alça de platina.

**Ação sobre o leite.** Esta ação foi testada em tubos com leite, semeados com 0,1, 0,5 e 1,0 ml da suspensão de  $\pm 10^8$  céls/ml.

### RESULTADOS

Dos resultados abaixo, os referentes a isolamento e infecção experimental são relativos às 10 amostras; os demais foram obtidos no estudo da amostra "Santa Cruz".

#### Isolamento

Com o material tratado pelo método de Haalstra, o número de colônias e a intensidade de crescimento foram semelhantes nas placas incubadas em aerobiose e em atmosfera com CO<sub>2</sub> (20%).

Em ágar sangue, as colônias apresentaram-se menores e em menor número que no ágar infusão de cérebro e coração, sendo envolvidas por um halo de hemólise do tipo beta.

O material não tratado pelo método de Haalstra originou crescimento abundante de bactérias contaminantes, não tendo sido possível isolar o *D. congolensis*, na maioria das vezes.

#### Infecção experimental

Dois dias após a inoculação, desenvolveu-se um processo inflamatório, evoluindo para forma papulosa e dando origem, após uma semana, a crostas espessas e secas.

Exames microscópicos, bem como o cultivo de raspado da lesão, evidenciaram o *D. congolensis*.

#### Caracteres morfológicos

**Nas crostas.** Foram observados nas crostas microrganismos filamentosos, ramificados, Gram positivos, alguns tendo no interior uma ou duas cadeias paralelas de elementos cocóides (zoósporos), os quais também aparecem livres. A microscopia de contraste de fase mostra que os zoósporos exibem motilidade intensa.

**Em meios sólidos.** Em ágar infusão de cérebro e coração ("BHIA", Difco), os crescimentos obtidos com incubação em aerobiose e em presença de CO<sub>2</sub> foram praticamente iguais; surgiram três tipos de colônias: a) rugosas, de cor amarelo-ouro, aderentes ao meio, tamanho entre 1 e 4 mm de diâmetro, forma circular, bordos ondulados, elevadas; suspensão em salina: impossível; à microscopia, notou-se predominância de filamentos em diversas fases de evolução, poucos zoósporos livres; b) lisas, de cor amarelo-ouro, não aderentes ao meio, viscosas, tamanho entre 1 e 4 mm de diâmetro, forma circular, bordos inteiros, elevadas; suspensão em salina: fácil; à microscopia mostrou grande quantidade de zoósporos e poucas hifas pequenas; c) intermediárias, de cor amarelo-ouro; são colônias rugosas em transição para lisas; sua periferia é rugosa e o centro, liso; microscopia separada das duas partes evidenciou as características descritas, respectivamente, para colônia rugosa e lisa.

Nos meios com ovo integral, o crescimento (colônias) teve aspecto liso, brilhante, de cor amarelo-ouro, tamanho entre 1 e 2 mm de diâmetro, facilmente removível com alça de platina. À microscopia de contraste de fase, foi observado um grande número de zoósporos com intensa motilidade, alguns em início de germinação. Após seis dias, o número de zoósporos ainda foi grande, já aparecendo alguns fragmentos de hifas.

Nos meios com gema ou clara de ovo, as colônias tiveram 0,5 a 1 mm de diâmetro e cor amarela-pálida, e eram rugosas. A microscopia revelou predominância de hifas não esporuladas e poucos zoósporos móveis e livres.

Em meio de Löeffler foi observado crescimento rugoso, amarelo-pálido, aderente ao meio. À microscopia, grande quantidade de hifas em vários estádios de desenvolvimento, com numerosos zoósporos móveis e livres.

No ágar sangue desenvolveram-se colônias rugosas, aderentes ao meio, tamanho entre 0,5 e 1 mm de diâmetro, forma circular, envolvidas por um halo de hemólise do tipo beta. Pela microscopia observou-se predominância de hifas não esporuladas, poucas formas esporuladas e alguns zoósporos móveis e livres.

**Em meio semi-sólido.** Em "shake tube" com "BHIA", Difco, com 0,7% de ágar, o *D. congolensis* apresentou colônias arredondadas, isoladas ou envolvidas por numerosas colônias punctiformes. A microscopia mostrou microcolônias semelhantes às de *Actinomyces*, constituídas por hifas e poucos zoósporos móveis e livres.

**Em meio líquido.** Em caldo simples houve crescimento até com  $\pm 10^8$  céls/ml, tanto com inóculo de crescimento liso quanto com o tipo rugoso. Junto à parede dos tubos, aglomeravam-se microcolônias de constituição filamentosa frouxa, havendo formação de um depósito filamentosos que, ao ser agitado o tubo, permanecia pre-

so no fundo. Não houve turvação do meio. Este tipo de crescimento foi comum às duas formas S e R. A microscopia foram evidenciados zoósporos livres e hifas esporuladas em abundância.

#### Caracteres culturais

**Hidrólise da uréia.** Ocorreu hidrólise da uréia após 24 h de incubação.

**Hidrólise da gelatina.** No meio com gelatina verificou-se crescimento fraco com hidrólise após 7 a 8 dias de incubação a 37°C.

**Ação sobre meio com ovo.** No meio com ovo integral, após 48 h de incubação a 37°C apareceram depressões e zonas claras ao redor da vegetação. Após 7 dias, o meio tornou-se de consistência mole e de cor parda. No oitavo dia, ficou parcialmente fundido, havendo precipitação das partes sólidas. Nos meios com gema ou clara de ovo, o crescimento foi pobre com ligeiras depressões ao redor das colônias.

**Ação sobre os meios com soro.** Como se observa no Quadro 1, o maior grau de fusão ocorre nos meios com caldo simples e caldo glicosado (meio de Löeffler). Neste último, o início da fusão é mais tardio. O grau de fusão é diretamente dependente da concentração de peptona e extrato de carne. Os meios com solução de peptona a 0,5% e extrato de carne a 0,3% sofreram fusão mais fraca que os meios com 5% de peptona e 1% de extrato de carne. Em todos os meios, o início da fusão é retardado pelo acréscimo de glicose.

a cor do meio. Ao fim do terceiro dia, inicia-se a peptonização, mudando a coloração da superfície para verde. Depois de cinco dias, todo o meio tem essa cor. A peptonização nunca foi total. A cor desenvolvida pelo *D. congolensis* é um pouco mais clara do que a tonalidade que se observa quando se acrescenta um tampão de pH 7 ao indicador.

**Influência do CO<sub>2</sub>.** Em presença de CO<sub>2</sub>, o crescimento foi maior após 24 h de incubação do que o obtido em presença de ar atmosférico no mesmo período. Com 48 h, no entanto, o tamanho desses crescimentos foi equivalente. As características morfológicas do *D. congolensis* não se alteraram mediante variação do ambiente gasoso. Tanto em ambiente natural quanto com acréscimo de CO<sub>2</sub>, o microrganismo cresceu formando os três tipos de colônias: rugosas, lisas e intermediárias.

Quando se colocou uma placa com crescimento rugoso em aerobiose, não houve reversão à forma lisa. Por outro lado, as formas lisas, em atmosfera com 20% de CO<sub>2</sub>, não se transformam em rugosas.

**Aerotaxia negativa dos zoósporos.** Esse fenômeno foi, algumas vezes, observado ao microscópio de contraste de fase e somente em crescimento liso, o qual se mostrou constituído quase exclusivamente por células cócides móveis (zoósporos). Estes, que a princípio se distribuíam homogêneamente pelo campo do microscópio, após alguns minutos, juntavam-se, em grande quantidade, numa faixa estreita e bem definida a alguma distância das bordas da laminula. Aos poucos esta faixa

QUADRO 1. Ação do *D. congolensis* sobre meios com soro: fusão e formação de cristais

Meios de cultura	Fusão <sup>a</sup>		Formação de cristais após 1 mês <sup>b</sup>
	2 dias	5 dias	
Meio básico (soro)	0	0	0
Meio básico acrescido de:			
Peptona 0,5%	+	++	+++
Peptona 5%	++	++++	+++
Extrato de carne 0,3%	+	++	+
Extrato de carne 1%	++	++++	+
Glicose a 1%	0	0	0
Extrato de carne 0,3% + glicose 1%	0	++++	+
Peptona 0,5% + glicose 1%	0	++	+
Peptona 5% + glicose 1%	0	++++	+
Caldo simples	++	+++++	+
Caldo glicosado	+	+++++	+++++

<sup>a</sup> 0 = ausência de fusão; + = formação de um halo claro ao redor da colônia; ++ = formação de pequena depressão ao redor da colônia; +++ = fusão de ± metade do meio; ++++ = fusão quase total (restando fragmentos sólidos do meio); +++++ = fusão total.

<sup>b</sup> 0 = não formação de cristais; + = produção de 1 a 10 massas de cristais; ++ = 11 a 20 massas de cristais; +++ = 21 a 30 massas de cristais; ++++ = 31 a 40 massas de cristais; +++++ = mais de 40 massas de cristais.

Verifica-se no Quadro 2 que o meio com "Cooked meat phytone medium" sofreu fusão mais acentuada que os outros, sendo comparável à que se viu no meio de Löeffler e no de soro com caldo simples.

**Ação sobre o leite.** O crescimento foi nulo, com inóculo de 0,1 ml; com 0,5 ml houve formação, após dois dias, de um coágulo macio, permanecendo inalterada

vai caminhando para o centro do campo. A motilidade nesta faixa é mais intensa que nas outras regiões.

**Produção de cristais em meios com ovo, soro e leite.** Nestes meios, mantidos em estufa (37°C) por um a três meses, apareceram numerosas massas brancas, de diâmetro variável entre 0,5 e 4 mm. Examinadas ao microscópio, verificou-se que eram constituídas de cristais

em forma de agulhas. A quantidade de cristais depende do meio, sendo especialmente grande nos meios de Löeffler e em soro adicionado de "Cooked meat phytone medium" (Quadros 1 e 2).

#### Atividade proteolítica

Verificamos com a amostra "Santa Cruz" que o grau de digestão dos meios com soro é dependente da concen-

QUADRO 2. Comparação de diferentes peptonas

Meios de cultura	Fusão*		Formação de cristais após 1 mês*
	2 dias	5 dias	
Meio básico (soro) acrescido de:			
Proteose peptona a 5%	++	++++	+++
Hidrolisado de lactalbumina a 5%	0	++	+
Hidrolisado de gelatina a 5%	0	++	++
"Cooked meat phytone medium"	++	+++++	+++++

\* Vide escalas no Quadro 1.

Os cristais são solúveis em água quente, HCl 1/N, NaOH 1/N e insolúvel em água fria, etanol, acetona, metanol e éter. Após a solubilização em água quente, o resfriamento provoca recristalização.

*Sensibilidade à penicilina.* O microrganismo em apreço é sensível à ação da penicilina.

#### DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

##### Classificação

Os especialistas vêm-se manifestando favoravelmente no sentido de que o *D. congolensis* seja classificado na ordem Actinomycetales e não mais entre os fungos. O microrganismo em tela é sensível à penicilina como mostram os nossos resultados e como verificaram outros autores (Annon 1966, Buck 1948, Blancou 1969, Bugyaki 1959, Le Roux 1968, Roberts 1967a,b, Roberts & Graham 1966). Esta característica tem reflexo na taxonomia, pois como diz Waksman (1959): o fato de os Actinomycetes serem sensíveis a antibióticos coloca-os definitivamente entre as bactérias. Além disso, o *D. congolensis* produz em meio semi-sólido colônias semelhantes à dos Actinomycetes.

##### Isolamento

O método de isolamento do Haalstra (1965), que se para os zoósporos de microrganismos contaminantes, baseado no quimiotactismo positivo pelo CO<sub>2</sub>, deu bons resultados. A incubação das placas em atmosfera de CO<sub>2</sub> pode ser dispensada porque, como mostraram nossas experiências, o número de colônias foi o mesmo tanto em aerobiose como em ambiente com suplementação de CO<sub>2</sub>. Entretanto, o tamanho das colônias em CO<sub>2</sub>, após 24 h de incubação, foi maior que em aerobiose. O CO<sub>2</sub> favorece o crescimento do *D. congolensis* ou porque sendo mais pesado que o ar impede o livre acesso deste à superfície do meio, baixando o potencial de redox, ou porque serve de nutriente.

Gordon (1964), Plowright (1958) e Atalaia e Mario (1968) também verificaram que o crescimento é maior em ambiente com CO<sub>2</sub> do que sem ele.

tração de peptona ou extrato de carne, não havendo hidrólise do meio sem esses nutrientes, mesmo porque o crescimento é muito menor que nos meios com peptona ou extrato de carne. Segundo Thimann (1963), as proteínas de muitas bactérias são elaboradas somente quando há crescimento vigoroso, havendo necessidade de se acrescentar outra fonte de nitrogênio ao meio para que o crescimento tenha início. Peptonas de lactalbumina e gelatina não permitiram bons crescimentos, sendo o grau de digestão dos meios com essas peptonas inferior ao dos meios com proteose peptona e com peptona de soja.

Como pudemos também constatar, a glicose retarda o processo de digestão dos meios com soro, o que está de acordo com a afirmação de Cochrane (1958) de que a utilização de proteínas é mais rápida em meios sem outra fonte de carbono.

Nossas experiências com meios que contêm ovo mostraram que a produção de proteases também está relacionada à concentração de nutrientes. Nossos resultados conseguidos com meios à base de ovo integral estão em desacordo com o observado por Bull (1929) e Plowright (1958).

A capacidade de amostra "Santa Cruz" de produzir enzimas proteolíticas capazes de digerir a gelatina e o leite foi semelhante à descrita na literatura (Bull 1929, Mason & Bekker 1934, Edgar & Keast 1940, Thompson 1954, Chodnik 1956, Roberts 1957a, Plowright 1958, Bugyaki 1959, Pier *et al.* 1963, Gordon 1964, Portugal 1970).

Em relação à hidrólise da uréia, acreditamos que as discordâncias existentes entre diferentes pesquisadores estejam relacionadas a pormenores das técnicas usadas.

##### Aerotaxia negativa dos zoósporos

Roberts (1963a) mostrou que a causa da aerotaxia negativa dos zoósporos na lâmina é uma atração pelo CO<sub>2</sub> e que o movimento não é influenciado pela tensão de oxigênio. Isto ele provou, colocando a lâmina em ambiente com oxigênio, nitrogênio e hidrogênio, separadamente. Nestas condições, não houve alteração na direção e na velocidade do movimento da faixa dos zoósporos.

### Influência do CO<sub>2</sub> sobre o ciclo de vida do *D. congolensis*

A restrição do suprimento de ar em tubos fechados foi mostrada por Roberts (1957a,b, 1961) como estimuladora do crescimento, mas inibidora da divisão e da esporulação. Concluiu Roberts (1963b) que aqueles efeitos eram devidos ao acúmulo de CO<sub>2</sub> produzido pelo próprio germe. Acha ele que o CO<sub>2</sub> estimula a germinação dos zoósporos, acelera o brotamento, promove o crescimento das hifas, mas inibe a divisão das mesmas e a esporulação. Desta maneira, em ambiente com suplementação de CO<sub>2</sub> sempre seriam produzidas colônias rugosas e, com a remoção do CO<sub>2</sub>, abundante esporulação. As colônias lisas apareceriam sempre que a incubação fosse feita em aerobiose. Gordon (1964) observou que ambos os tipos de colônias eram formados tanto em aerobiose como em ambiente com suplementação de CO<sub>2</sub>. A amostra "Santa Cruz" também se portou desta maneira. As colônias S e R apareceram numa mesma placa incubada em aerobiose ou em ambiente com CO<sub>2</sub>, havendo variação na predominância de uma forma ou de outra, em ambas as condições. Roberts (1963b) afirma, ainda, que um crescimento rugoso, sendo deixado em aerobiose, se transforma em liso e, um crescimento liso, deixado em ambiente suplementado de CO<sub>2</sub>, se transforma em rugoso. Este aspecto não ocorreu com a amostra "Santa Cruz".

A interpretação de Roberts não parece convincente porque se os zoósporos somente germassem em ambiente com concentração de CO<sub>2</sub> superior à do ar atmosférico, não haveria formação de colônias em aerobiose, porque, tendo o microrganismo de passar obrigatoriamente pela fase filamentosa para formar novos zoósporos, seu ciclo de vida seria interrompido. Roberts (1965b) relaciona este aspecto com a patogenia da dermatofilose, a CO<sub>2</sub> liberado pelo animal através da pele não só estimularia a germinação dos zoósporos como também favoreceria a penetração da hifa na pele. A esporulação das hifas seria influenciada pelas mudanças na produção de CO<sub>2</sub> pelo tecido infectado. Em nossas experiências isto não foi confirmado.

### REFERÊNCIAS

- Annon. 1966. Australia CSIRO eighteenth annual report 1965-66. Commonwealth Scientific and Industrial Research Organization. (Vet. Bull. 37(8), Abstr. 3497)
- Atalaia, V.M. & Mario, R.O. 1968. Contribuição para o estudo do *Actinomyces dermatonomus*. Vet. Moçam., Lourenço Marques, 1(1):31-37.
- Austwick, P.K.C. 1958. Cutaneous streptothricosis, mycotic dermatitis and strawberry foot rot and the genus *Dermatophilus* Van Saceghem. Vet. Rev. Annot. 4(Parte 1):33-48.
- Barbosa, M., Carvalho, C.M.F. & Rocha, F.N. 1967. Estreptotricose cutânea em bovinos do Brasil. Arqs Esc. Vet., Minas Gerais, 19:15-17.
- Barbosa, M., Moreira, E.C. & Kassai, Y. 1968. Dermatofilose em caprinos e ovinos no município de Felixlândia, Minas Gerais, Brasil. Arqs Esc. Vet., Minas Gerais, 20:149-153.
- Biancou, J.M. 1969. Traitment de la streptothricose bovine par une injection unique d'antibiotiques à haute dose. Revue Elev. Méd. vét. Pays trop. 22(1):33-40.
- Buchanan, R.E. 1917. Studies in the nomenclature and classification of the bacteria. II. The primary subdivision of the *Schizomyces*. J. Bact. 2(2):155-157.
- Buchanan, R.E. 1918. Studies in the classification and nomenclature of the bacteria. VIII. The subgroups and genera of the *Actinomycetales*. J. Bact. 3(4):403-406.
- Buck, C. 1948. Actinomycose ou streptothricose cutanée des bovins à Madagascar (Drodo, Boka). Bull. Off. int. Epizoot. 29:117-121.
- Bugyaki, L. 1959. Dermatose contagieuse des ruminants et du cheval (streptothricose, actinomycose cutanée). Bull. Off. int. Epizoot. 51(5-6):237-251.
- Bull, L.B. 1929. Dermatomycosis of the sheep (Lumpy or matted wool) due to *Actinomyces dermatonomus* (n. sp.). Aust. J. exp. Biol. med. Sci. 6(Parte 4):301-314.
- Chodnik, K.S. 1956. Mycotic dermatitis of cattle in British West Africa. J. comp. Path. Therap. 66(3):179-186.
- Cochrane, V.W. 1958. Physiology of fungi. John Wiley, New York. 524 p.
- Edgar, G. & Keast, J.C. 1940. A note on the susceptibility of horses and cattle to infection with mycotic dermatitis caused by *Actinomyces dermatonomus* (Bull). Aust. vet. J. 16(3):120-122.
- Egerton, J.R. 1964. Mycotic dermatitis of cattle. Aust. vet. J. 40(4):144-147.
- Gordon, M.A. 1964. The genus *Dermatophilus*. J. Bact. 88(2):509-522.
- Haalstra, R.T. 1965. Isolation of *Dermatophilus congolensis* from skin lesions in the diagnosis of streptothricosis. Vet. Rec. 77(28):824-825.
- Hart, C.B., Tyszkiewicz, K., Rogers, B.A. & Kane, G.J. 1967. Mycotic dermatitis in sheep. Part II. *Dermatophilus congolensis* and its reaction to compound in vitro. Vet. Rec. 81(24):623-631.
- Hudson, J.R. 1937. Cutaneous streptothricosis. Proc. Royal Soc. Med. 30(12):1457-1460.
- Kaplan, W. & Johnston, W.J. 1966. Equine dermatophilosis (cutaneous streptothricosis) in Georgia. J. Am. vet. med. Ass. 149(9):1162-1171.
- Le Roux, D.J. 1968. The treatment of "lumpy wool", *Dermatophilus congolensis* infection in Merino sheep with streptomycin and penicillin. J. S. Afr. vet. med. Ass. 39(3):87-88. (Vet. Bull. 39(4):261, Abstr. 1515)
- Londero, A.T., Ramos, C.D. & Santiago, M. 1966. Dermatite micótica (streptotricose) em ovinos de Itaquí (Rio Grande do Sul). Revta Med. Vet., S. Paulo, 2(2):109-112.
- Londero, A.T., Ramos, C.D. & Santiago, M. 1968. Dermatophilosis in cattle from Rio Grande do Sul (Brazil). Mikosen 11(1):25-28.
- Londero, A.T., Santiago, M. & Ramos, C.D. 1967. Dermatite micótica em equino. Revta Med. vet., S. Paulo, 3(1):77-79.
- Mason, J.H. & Bekker, J.C. 1934. Further notes on lumpy wool in South Africa. Onderstepoort J. vet. Sci. anim. Ind. 3(1):211-216.
- Mémery, G. 1961. La streptothricose cutanée, III. Bactériologie. Revue Elev. Méd. vét. Pays trop. 14:141-163. (Citado por Gordon 1964)
- Nicolet, J., Klingler, K. & Fey, H. 1967. "*Dermatophilus congolensis*" agent de la streptothricosis du chamois. Fath. Microbiol. 30(6):831-837.
- Pier, A.C., Neal, F.C. & Czsewski, S.J. 1963. Cutaneous streptothricosis in Iowa cattle. J. Am. vet. med. Ass. 142(9):995-1000.
- Plowright, W. 1958. Cutaneous streptothricosis of cattle in Nigeria. II. The aerobic *Actinomyces* (*Nocardia* sp) associated with the lesions. J. comp. Path. Therap. 68(2):133-147.
- Portugal, M.A.S.C. 1968. Estreptotricose em bovinos, ocorrência no Estado de São Paulo. Ciência e Cultura 20(2):306.
- Portugal, M.A.S.C. 1970. Estreptotricose em bovinos. Ocorrência e isolamento do agente. Arqs Inst. Biol., S. Paulo, 37(2):143-156.
- Roberts, D.S. 1957a. Some features of the mycotic dermatitis organism. Aust. vet. J. 33(6):141-143.
- Roberts, D.S. 1957b. An ecological study of the mycotic dermatitis organism. Aust. vet. J. 33(9):233-236.
- Roberts, D.S. 1961. The life cycle of *Dermatophilus dermatonomus*, the causal agent of ovine mycotic dermatitis. Aust. J. exp. Biol. med. Sci. 39(Parte 5):463-476.
- Roberts, D.S. 1963a. Chemotactic behaviour of the infective zoospores of *Dermatophilus dermatonomus*. Aust. J. agric. Res. 14(3):400-411.
- Roberts, D.S. 1963b. The influence of carbon dioxide on the growth and sporulation of *Dermatophilus dermatonomus*. Aust. J. agric. Res. 14(3):412-423.

- Roberts, D.S. 1965a. Cutaneous actinomycosis due the single species *Dermatophilus congolensis*. Nature, Lond., 206(4988): 1068 p.
- Roberts, D.S. 1965b. Penetration and irritation of the skin by *Dermatophilus congolensis*. Brit. J. exp. Path. 46(6):635-642.
- Roberts, D.S. 1967a. Dermatophilus infection. Vet. Bull. 37(8): 513-521.
- Roberts, D.S. 1967b. Chemotherapy epidermal infection with *Dermatophilus congolensis*. J. comp. Path. 77(2):129-136.
- Roberts, D.S. & Graham, N.P.H. 1966. Control of ovine cutaneous actinomycosis. Aust. vet. J. 42(3):74-78.
- Thimann, K.V. 1963. The life of bacteria, their growth metabolism and relationships. 2.<sup>a</sup> ed. Macmillan, New York. 909 p.
- Thompson, R.E.M. 1954. A species of *Rhizobium* isolated from strawberry foot-rot in the sheep. J. Path. Bact. 68(2):445-452.
- Thompson, R.E.M. & Bisset, K.A. 1957. *Polysepta*: a new genus and sub-order of bacteria. Nature, Lond., 179(4559):590-591.
- Van Saceghem, R. 1915. Dermatose contagieuse (Impétigo contagieux). Bull. Soc. Path. exot. 9:354-359.
- Vigier, M. & Balis, J. 1967. Variabilité et antigénicité de *Dermatophilus congolensis*. Revue Elev. Méd. vét. Pays trop. 20(1):67-76.
- Waksman, S.A. & Henrici, A.T. 1943. The nomenclature and classification of the *Actinomycetes*. J. Bact. 46(4):337-341.
- Waksman, S.A. 1959. The *Actinomycetes*. Nature, occurrence and activities. Williams & Wilkins, Baltimore, U.S.A. 327 p.

ABSTRACT.- Cruz, L.C.H.da [*Dermatophilus congolensis*. I. Its isolation from cattle and some morphological and physiological aspects]. *Dermatophilus congolensis*. I. Seu isolamento de bovinos e alguns aspectos morfológicos e fisiológicos. *Pesquisa Agropecuária Brasileira, Série Veterinária* (1974) 9, 13-19 [Pt, en] UFRRJ, Km 47, Rio de Janeiro, GB, ZC-26, Brazil.

Ten samples of *Dermatophilus congolensis* were isolated from cattle of São Paulo, Guanabara, Rio de Janeiro, Piauí, Espírito Santo and Goiás. Some physiological characteristics, such as the influence of certain factors over proteolytic activity, the role of CO<sub>2</sub> in the life cycle, sensibility to penicillin and negative aerotaxis of the zoospores were studied. Solid, semi-solid and liquid media were applied to morphological studies.

*Additional index words*: Proteolytic activity, CO<sub>2</sub> influence over the life cycle, penicillin sensitivity, cristal production, aerotaxis, experimental infection, classification.