

# DIFTERIA

---

Ricardo Delfini Perci \*

---

## Resumo

A difteria é uma doença infecciosa aguda e mortal quando não tratada. É causada pelo bastonete reto Gram positivo, "Corynebacterium diphtheriae". A vacinação obrigatória prevista pelo calendário nacional de vacinação é a principal forma de profilaxia. A utilização do meio de Loeffler e ágar telurito, assim como as provas bioquímicas, prova de Elek e o teste de Schick, são amplamente utilizados e com sucesso diagnóstico. A importância do diagnóstico clínico/laboratorial, sua notificação obrigatória e a vacinação contribuem para o controle eficaz da doença.

## Abstract

The Diphtheria is an infective, intense and mortal disease, when it's not treated. It's caused by the straight "bastonete" gram positive. Corynebacterium diphtheriae. The obligatory vaccination foreseen by the national vaccination calendar is the principal prophylaxy form. The use of Loeffler tests, elek's test and the schick's test, are widely used in successful diagnosis. The importance of the clinic/laboratorial diagnosis, its

obligatory notification and the vaccination, contribuilt to the officaciours control of the disease.

## 1. HISTÓRICO

Os primeiros relatos da difteria remontam à época de Hipócrates, no século IV a.C.<sup>4,13</sup>. No século II a. C., Aretaeus descreve detalhes da doença<sup>15</sup>, e no século VI, Aëtius detalha ainda mais a doença<sup>13,15</sup>.

Durante o século XVII, relatos isolados da doença foram descritos, até que o ano de 1613 se tornou conhecido como o "ano da difteria" na Espanha<sup>15</sup>, tendo provocado muitas mortes.

Em 1771, Samuel Bard, em Nova Iorque, descreve a doença na América<sup>15</sup>. Somente em 1821, Pierre Bretonneau estuda a membrana dos pacientes com difteria, e descreve a doença; fala do contágio, de sua evolução e do prognóstico<sup>4,13,15</sup>. É o próprio Bretonneau que, em 1825, realiza a primeira traqueotomia com sucesso, no tratamento da difteria<sup>15</sup>.

Klebs, em 1883, descreve as características do microorganismo encontrado no esfregaço da pseudomembrana. Um ano mais tarde, Loeffler consegue cultivar o microorganismo em meio artificial<sup>4,13,15</sup>.

---

\* Médico infectologista. Docente da UNIPAR.

Em 1888 Roux e Yersin isolam a toxina solúvel e termolábil, que já havia sido proposta como existente por Loeffler<sup>4,13,15</sup>. Em 1890 a toxina é modificada para a imunização em animais, e foi utilizada, como antitoxina, pela primeira vez em Berlim, em 1891<sup>4,13</sup>.

Theobald Smith, em 1909, nos EUA, demonstra que a neutralização prévia da toxina, como antitoxina, reduzia a gravidade das reações locais, sem perder o seu poder imunogênico<sup>13</sup>. A partir dessa data, o complexo toxina-antitoxina (TAT) começa a ser utilizado na prática. E, em 1913, Schick apresenta um teste prático para a identificação das pessoas não imunes e imunes à doença<sup>13</sup>.

Em 1922, o TAT foi administrado a diversas crianças nova-iorquinas, e em 1923 Ramon desenvolve o agente imunizante, tratando a toxina com formalina e produzindo o toxóide diftérico, que é utilizado até hoje.

Finalmente, em 1951, Freeman descobre que todas as estirpes toxigênicas de *C. diphtheriae* são lisogênicas<sup>13</sup>.

## 2. CARACTERÍSTICAS DO GÊNERO<sup>1,3,13</sup>

O gênero *Corynebacterium* (do grego CORYNE = clava) compreende os bastonetes retos ou ligeiramente encurvados, com características Gram positivos, não esporulados, imóveis, aflagelados e sem cápsula demonstrável. Seu tamanho varia de 2 a 6 micras de comprimento e 0,5 a 1,1 micras de diâmetro.

Quando são cultivados em meio de Loeffler, apresentam grânulos de polifosfato polimerizados, chamados de grânulos de Babes Ernest. Estes grânulos são corados de forma metacromática à coloração de Albert Leybourn.

No esfregaço apresentam-se com formações angulares entre si, formando “letras Y ou L”, e o conjunto apresenta-se como caracteres chineses.

O gênero inclui o bacilo da difteria, *Corynebacterium diphtheriae*, e outras espécies

encontradas em animais, e mesmo no homem, chamadas de “corineformes”. Tais espécies apresentam em sua parede celular o ácido micólico, de cadeia curta, o ácido meso-diaminopimérico, arabina, galactose, etc.. Essas características bioquímicas os diferem dos corineformes vegetálicos<sup>3</sup>.

Os principais gêneros propostos atualmente para os corineformes são<sup>3</sup>:

- *Corynebacterium*
- *Brevibacterium*
- *Arthrobacter*
- *Cellulomonas*
- *Curtobacterium*
- *Microbacterium*
- *Caseobacter*
- *Rhodococcus*
- *Oerkovia*

Alguns autores incluem o gênero *Propionibacterium* como semelhantes aos corineformes<sup>3</sup>.

O termo “difteróide” tem sido utilizado para designar os bacilos Gram positivos semelhantes ao *C. diphtheriae*, sendo as espécies deste gênero<sup>3</sup>. Muitas dessas bactérias têm sido relacionadas com infecções em humanos, principalmente em pacientes imunossuprimidos<sup>3</sup>.

## 3. CORYNEBACTERIUM DIPHTHERIAE<sup>1,3,6,8,10,13,18</sup>

### 3.1. Morfologia

São bacilos Gram positivos, em formato de clava, dispostos em ângulos, semelhantes aos caracteres gráficos chineses, imóveis, não esporulados e acapsulados; medem cerca de 0,3 a 0,8 micras de largura por 1 a 6 micras de comprimento. O corpo bacteriano pode ser reto ou ligeiramente encurvado, com extremidades intumescidas, semelhantes a uma clava, e com acentuado pleomorfismo. À bacterioscopia direta,



corada pela técnica de Albert Leybourn, apresenta-se com grânulos escuros e corpos bacilares em verde claro.

### 3.2. Cultivo

São aeróbias obrigatórias; crescem em meio ao soro de Loeffler ou Pai, coagulado; formam colônias pequenas e circulares e de superfície finamente granulosa; são de coloração acinzentada e de bordos irregulares. Seu crescimento é rápido, levando cerca de 8-10 horas. Outras bactérias, porém, podem crescer nesse meio, como os difteróides e os estreptococos, mas lentamente. São incubados a 35-37°C. Após 18 horas de cultivo, as amostras devem ser repicadas em ágar-sangue telurito de potássio, que serve como meio mais seletivo e também para o diagnóstico dos biótipos e teste de toxigenicidade; esta cultura deverá ser feita a 35-37°C por 36 a 48 horas. Nesse meio, as colônias de *C. diphtheriae* apresentam as seguintes características<sup>6</sup>:

a) **Colônias Lisas (biótipo mitis)** - colônias médias, medindo cerca de 1 a 3 micras, circulares, convexas, moles, lisas, de coloração negra brilhante e ligeiramente umbelicas; são hemolíticas em ágar sangue.

b) **Colônias Rugosas (biótipo gravis)** - colônias grandes, com cerca de 2 a 4 mm de diâmetro, convexas, opacas, rugosas, com bordas irregulares, de consistência friável e de coloração acinzentada.

c) **Tipo intermedius** - colônias pequenas, com cerca de 1 mm de diâmetro, de tamanho uniforme, com bordas irregulares, secas, planas e consistentes, de coloração acinzentada e com centro negro.

Devemos ainda semear uma amostra em ágar sangue, para o diagnóstico diferencial dos estreptococos causadores de anginas (*Streptococcus hemolítico* do grupo A). Outros meios podem ser utilizados como a cisteína-telurito e o meio de Tinsdale.

### 3.3. Características Bioquímicas:

Os *C. diphtheriae* são bactérias catalase positivas e nitrato positivo; não hidrolizam a uréia; utilizam a glicose e a maltose e não a sacarose.

Algumas diferenças entre os biótipos podem aparecer como a não fermentação do amido pelos biótipos intermedius e mitis e fermentação pelo gravis; os biótipos gravis e mitis, por sua vez, têm o crescimento estimulado pela cisteína. Já o biótipo intermedius não é estimulado. A característica da gravidade da doença em relação ao biótipo é interrogado atualmente.

## 4. DIFTERIA

A difteria pode ser definida como uma doença infecciosa aguda e contagiosa, que acomete principalmente crianças na faixa pré-escolar, até 10 anos no máximo. Tem havido elevada taxa de mortalidade em algumas regiões. Caracteriza-se por um forte comprometimento das vias aéreas superiores (com asfixia) e sistêmico (miocardite e neurite), causado pela exotoxina liberada pelo *C. diphtheriae*.

### 4.1. Toxina Diftérica<sup>4,10,13,18</sup>:

A toxina diftérica é produzida pelas cepas toxigênicas do *C. diphtheriae*, que são lisogenizadas com o bacteriófago. É uma exotoxina de cadeia peptídica única, termolábil e com PM de 62.000 daltons. Sua forma é mantida como uma alça por pontes de dissulfetos. Quando é submetida à hidrólise pela tripsina e em presença de redutores, a molécula se divide em dois fragmentos, A e B. O fragmento A é responsável pelos efeitos tóxicos da molécula, e o fragmento B é o responsável pela fixação aos receptores da mucosa e também é essencial à penetração do fragmento A no citoplasma da célula. Os receptores celulares seriam uma proteína de PM 120-170.000 daltons.



A produção da toxina “in vitro” depende da concentração de ferro (concentrações de 0,5 micrograma/ml suprimem sua produção), pressão osmótica, concentração de aminoácidos, pH e a disponibilidade de fontes adequadas de carbono e nitrogênio.

A toxina pode ser letal na dose de 0,1 micrograma/Kg; os efeitos tóxicos são decorrentes da capacidade de o fragmento A inativar o fator de alongamento 2 (EF-2) da cadeia peptídica, em presença do NAD, bloqueando de maneira irreversível a síntese protéica, levando as manifestações necrotizantes locais e neurotóxicas à distância.

Esta exotoxina é codificada por genes que fazem parte de certos bacteriófagos (gene tox). Esses bacteriófagos são capazes de lisogenizar o bacilo diftérico. A produção da toxina é, portanto, realizada quando o bacilo for lisogenizado pelo bacteriófago que contenha o gene tox. A atividade desse gene é regulada por proteínas codificadas por genes cromossômicos do bacilo diftérico.

#### 4.2. Patogenia e Patologia<sup>10,11,16,18</sup>:

A transmissão do bacilo se dá pelo contato direto com portadores ou doentes. Raramente a transmissão ocorre por fômites. O bacilo pode causar infecção na faringe, laringe, fossas nasais, ouvido, pele e genitais, sendo a infecção laringo-faríngeana a forma mais grave e clássica, também chamada popularmente de “crupe”.

Na mucosa do trato respiratório superior inicia-se a multiplicação do bacilo, não ocorrendo bacteremia mas apenas infecção local. A exotoxina é, então, liberada pelas bactérias, e sua fração B fixa-a à mucosa e a fração A penetra no citoplasma da célula, impedindo a ação do EF-2, ocorrendo morte celular e necrose do tecido, que, acrescido com o exsudato, leucócitos, hemácias, fibrina e as próprias bactérias, forma a pseudomembrana acinzentada, aderida à mucosa, causando sangramento vivo quando se tenta retirá-la. Esse

processo favorece a proliferação bacteriana que, por sua vez, libera mais toxina na circulação. A toxina liberada passa para a corrente sanguínea ou linfática, atingindo o miocárdio, sistema nervoso central, supra-renais, fígado e rins, causando lesões nesses órgãos. A quantidade de toxina liberada é proporcional à extensão da membrana; sua absorção, porém, é variável, de acordo com o local de produção e vascularização.

A localização laringo-faríngea leva à obstrução das vias aéreas superiores, pelo crescimento da pseudomembrana e conseqüente asfixia, com morte do paciente.

Microscopicamente os órgãos acometidos apresentam degeneração hialina (no coração e nervos periféricos), e microscopicamente verifica-se infiltrado mononuclear, edema e degeneração celular, que no coração é visto nas fibras musculares e de condução nervosa. Também observa-se neurite dos nervos periféricos e centrais, decorrente da degeneração gordurosa das bainhas de mielina.

#### 4.3. Aspectos Clínicos<sup>11,12,14,16</sup>:

O período de incubação geralmente é curto, variando de 2 a 5 dias, num máximo de 10 dias. As manifestações variam de acordo com o local acometido. Ocorrem manifestações clínicas locais, decorrentes da proliferação da pseudomembrana, e manifestações sistêmicas, decorrentes da liberação da toxina. Didaticamente classificaremos o quadro clínico de acordo com o local da infecção:

a) **Angina Diftérica** - É a forma mais grave da difteria. Inicia-se com palidez cutânea, mucosa, queda do estado geral, odinofagia e voz abafada, anorexia e febre baixa. No início do quadro, há uma hiperemia da faringe e edema amigdaliano. Logo evolui para o aparecimento de pontos esbranquiçados que, rapidamente, cobrem todo o palato e amígdalas, formando uma pseudo membrana acinzentada e fortemente aderida. Pode



ocorrer asfixia pelo crescimento da pseudomembrana e morte, em poucos dias. Nos casos brandos, há regressão espontânea em cerca de 10 dias.

b) **Laringite Diftérica** - Geralmente é secundária à infecção da faringe, sendo uma extensão da pseudomembrana à laringe. Cerca de 20% dos casos de difteria se apresentam nessa forma. É a forma de infecção mais freqüente na faixa etária dos 2 aos 5 anos de idade. Inicia-se com tosse e rouquidão que rapidamente evolui para voz anasalada, dispnéia inspiratória e tiragem, revelando a estenose de laringe. Febre baixa e prostração fazem parte do quadro clínico. A morte por asfixia é comum se não for tratada adequadamente.

c) **Rinite Diftérica** - É mais freqüente em lactentes, sendo uma forma rara de difteria e sempre será secundária à angina diftérica. Caracteriza-se pela respiração nasal difícil e secreção sero-sangüinolenta pelas narinas. Ocorrem, também, ulcerações das bordas nasais e lábio superior, com formação de crostas secundárias.

#### d) Outras Manifestações

1) **Difteria Ocular** - Ocorre conjuntivite aguda intensa, com ardor e dor ocular, fotofobia e exsudação local com a formação da pseudomembrana e edema palpebral.

2) **Otite Diftérica** - Geralmente ocorre por propagação da angina diftérica, ocorrendo otite, otorréia e otalgia intensa, com a formação da pseudomembrana no canal auditivo.

3) **Vulvovaginite Diftérica** - Vem sempre associada à angina diftérica. Caracteriza-se por inflamação aguda vulvar e vaginal com exsudato fibrino-purulento.

4) **Difteria Cutânea** - Também é secundária à angina ou rinite diftérica. Ocorre por contaminação de ferimentos de pele ou dermatite. Caracteriza-se pela exsudação fibrino-purulenta e formação da pseudomembrana.

Alguns autores consideram a existência de uma forma grave de difteria, dita "maligna", que se caracteriza por sintomas e sinais de início abrupto e proeminentes, assim como a presença da pseudomembrana de espessura grossa. Sua evolução geralmente é fatal.

As manifestações gerais decorrentes da ação da toxina são de aparecimento precoce, mas também podem aparecer tardiamente, após a segunda semana de doença.

As principais repercussões da toxina podem ser:

A) **quadro hematológico**: leucocitose moderada com neutrofilia e desvio à esquerda. Nos casos graves ocorre plaquetopenia e anemia.

B) **choque toxêmico**: pode ocorrer em qualquer fase da doença, sendo mais característico nos primeiros cinco dias.

C) **lesões cardíacas**: alterações do ritmo cardíaco, extrassístoles, alterações de bulhas (abafamento), cardiomegalia e insuficiência cardíaca. É a principal forma de morte súbita nos pacientes com difteria sem asfixia.

D) **neurites**: ocorrem em 6 a 20% dos casos, podendo manifestar-se nos nervos periféricos, palato e oculares, aparecendo paresias e paralisias. Sua manifestação geralmente é tardia.

E) **adrenais**: geralmente a falência das adrenais é uma ocorrência rara.

A miocardite é considerada por alguns autores como a complicação mais grave da difteria, podendo ser precoce ou mesmo tardia. Sua



instalação é progressiva, acompanhada de taquisfígmia, abafamento de bulhas e insuficiência cardíaca. O eletrocardiograma revela alterações características de miocardite.

#### 4.4. Epidemiologia<sup>2,4,6,11,14,16,17</sup>:

As infecções diftéricas ocorrem em todo o mundo. Em áreas tropicais ocorre grande incidência da forma cutânea em relação às outras formas.

A incidência mundial vem decaindo, sendo relatados 46.000 casos mundiais em 1983. Nos EUA são relatados anualmente 56 casos. No Brasil a incidência ainda é alta. Em 1980 foram notificados 2.436 casos e em 1986, 1.904.

O índice de letalidade chega a 5-10% e a morbidade no Estado de São Paulo chega a 4,6:100.000 habitantes. Em 1979 ocorreram 566 óbitos por difteria no Brasil.

No Estado do Paraná, o número de casos revela o coeficiente de letalidade de 2,8:100.000 para o grupo menor que 1 ano de idade e 27,3:100.000 para a faixa de 1 a 5 anos. No ano de 1991 foram registrados no Paraná 13 casos acumulados, 12 em 1992 e apenas 2 casos em 1993, até a data de realização da 34ª semana epidemiológica. Na cidade de Umuarama-PR não foi registrado nenhum caso em 1993.

As formas de transmissão são as vias respiratórias e raramente os fômites. Os portadores são os principais focos de transmissão, sendo o homem o único reservatório do bacilo (antroponose).

A faixa etária pré-escolar (dos 2 aos 6 anos) é a mais acometida e sua relação com o nível socioeconômico da população é evidente. A distribuição da doença segue o caráter sazonal, sendo mais incidente no outono-inverno.

Na população em geral, a taxa de portadores, oscila entre 1 a 3% e nos contactantes pode chegar a 8-14%. Em um estudo no Rio de Janeiro, entre 136 contactantes, Nogueira identificou 14,2% de

prevalência de portadores, sendo isoladas 72% de amostras toxigênicas. Daí a necessidade de investigação dos portadores e tratamento dos contactantes diretos.

#### 4.5. Tratamento<sup>5,11,14,16</sup>:

O tratamento se baseia na inativação da toxina circulante através da soroterapia, e da erradicação das bactérias através da antibioticoterapia.

##### a) Soroterapia

A finalidade da soroterapia é a neutralização da toxina circulante; o soro não atua na toxina já fixada nas células teciduais. Uma vez suspeito o diagnóstico de difteria, a introdução do soro deve ser imediata. Esse soro é heterólogo, proveniente de soro de cavalo hiperimune, portanto, passível de anafilaxia. A dose não deve ser inferior a 60.000 U.A., nos casos considerados leves ou benignos, e de 80.000 a 100.000 U.A. nos casos graves. A via endovenosa deve ser preferida, diluindo-se o soro em soro fisiológico ou glicosado e procedendo-se ao gotejamento contínuo de 15-20 gotas/min. As vias intra-muscular e subcutânea também poderão ser utilizadas.

O teste de sensibilidade deve ser realizado previamente à introdução do soro. Equipamentos para ressuscitação cárdio-pulmonar e para reversão de choque anafilático devem estar à mão. Esse teste é realizado pela via intradérmica, injetando-se 0,1 ml de soro diluído a 1:1.000 ou 1:100, e a leitura deve ser realizada 20 min. após, observando-se a formação de nódulo eritematoso maior que 1 cm de diâmetro nos casos reativos.

Outro possível teste é o teste ocular. Goteja-se 1 gota da diluição 1:10 de soro num dos olhos, e 30 min. após aparecerá lacrimejamento e hiperemia conjuntival nos casos sensíveis.

Nos casos de testes positivos (sensíveis), prepara-se esquema de dessensibilização, com



injeções intradérmicas ou subcutâneas, de diluições crescentes, até a dose total endovenosa, em intervalos de cerca de 15 minutos.

#### b) Antibioticoterapia

A penicilina e a eritromicina são as drogas de escolha para a erradicação dos bacilos. A penicilina G cristalina deve ser aplicada nas doses de 500.000 UI, a cada 3 horas, por via endovenosa e seguida de penicilina procaína 400.000 UI, intramuscular, a cada 12 horas, logo que haja melhora do quadro. O tempo total de tratamento deve ser de 10 dias. A eritromicina é a alternativa para os pacientes alérgicos à penicilina. Deve ser administrada por via oral na dose de 40 mg/kg/dia, divididos a cada 6 horas, por 10 dias.

Os contactantes e portadores devem receber a eritromicina como acima descrito, com finalidade profilática.

### 5. DIAGNÓSTICO LABORATORIAL<sup>3,6,7,8,10,11,16</sup>

#### 5.1. Coleta de material e transporte

Sendo a difteria uma doença de transmissão aérea, é necessário que a pessoa que irá coletar o material da orofaringe do doente use máscara para se proteger. A retirada do material deve ser realizada com cuidado, não deixando o local sangrar durante a raspagem. Com o auxílio de um "swab" esterilizado raspa-se a pseudomembrana, colhendo-se o material nela contido. Esse material deve ser semeado imediatamente em meio de Loeffler. Caso não seja possível o transporte, adicionam-se algumas gotas de caldo, e aguarda-se uma noite para a semeadura. Tal procedimento aumenta a recuperação do bacilo em cerca de 70%.

#### 5.2. Cultura

Para a cultura procede-se como descrito acima, semeando o material colhido nos meios de

Loeffler ou Pai e, depois, no meio ágar-sangue telurito, e, conjuntamente em meio ágar-sangue, para a diferenciação com os estreptococos.

#### 5.3. Testes de triagem com pesquisa de Fluorescência

Semeiam-se as colônias suspeitas em 2/3 do bizel do meio B de King, inclinado em tubo. Após a incubação de 24 horas, faz-se a leitura em câmara escura e sob a luz ultra-violeta. O aparecimento de coloração alaranjada fluorescente na metade do bizel é sugestivo dos bacilos.

#### 5.4. Testes de toxigenicidade

##### a) Toxigenicidade por imunodifusão radial simples

São preparadas duas placas com meio de Heimann e soro antidiftérico, nas diluições 1/1.600 e 1/3.200. Semeiam-se as colônias suspeitas em "spots" de alguns milímetros de diâmetro. Semeiam-se, também, uma placa extra de IDR, na diluição de 1/1.600. Essa placa é submetida a vapores de ácido acético. Após a incubação de 24 horas aparecerá um halo de precipitação em torno dos "spots". Esse halo é homogêneo e com bordos contínuos, bem delimitado, dando positividade à pesquisa. Caso esta placa seja negativa, procede-se da mesma maneira com as outras placas.

##### b) Teste de Elek

Com o meio de cultura de Loeffler ou Pai ainda mole, coloca-se uma tira de papel de filtro embebida em antitoxina diftérica; após a solidificação, semeia-se a amostra suspeita. Após 48 horas (até 72 horas) desenvolvem-se no ângulo formado entre a bisetritz e a tira de papel e a faixa do induto bacteriano linhas esbranquiçadas de precipitação, resultantes da união da toxina e antitoxina difundidas pelo meio.



### 5.5. Provas “in vivo”

Utilizam-se duas cobaias (A e B), e injetam-se na cobaia A 500 U de soro antidiftérico. Após 24 horas injetam-se em ambas as cobaias 0,1 e 0,2 ml de suspensão espessa de bacilos, cuja virulência foi questionada. Após 4 horas da primeira injeção, injetam-se na cobaia B 30 a 50 U de soro antidiftérico (para evitar sua morte). Observa-se a formação de reação inflamatória, com necrose, na cobaia B, revelando a toxidade das cepas.

### 5.6. Identificação Bioquímica

O meio DAU (duplo-açúcar-uréia modificado) vem sendo utilizado por Formiga<sup>8</sup>, com a facilidade de eliminação dos difteróides fluorescentes; esta técnica se torna fácil e rápida no diagnóstico bioquímico. Inocula-se a amostra oriunda do meio B de King ou Pai, em tubo inclinado, com a alça em agulha; após 24-48 horas observa-se a viragem do indicador colocado na coluna e no bizel. Outras provas confirmatórias podem ser realizadas com o ágar uréia de Christensen, e uma placa de ágar chocolate de McLeod.

### 5.7. Provas de Imunidade

Com a facilidade de se avaliar o estado imunológico da comunidade, a prova de Schick, idealizada em 1913, vem sendo utilizada com sucesso, e atualmente também é utilizada com a facilidade de imunização em massa. A prova consiste na inoculação intradérmica, na face anterior do antebraço direito, de 0,1 ml de toxina padrão (com 1/50 D.m.m. para uma cobaia de 260 g). Se o título de antitoxina circulante for suficiente, a toxina inoculada será neutralizada, não ocorrendo reação local. Porém, se o nível de antitoxina for baixo ou nulo, ocorrerá uma reação cutânea típica no local da injeção. Para se excluir

a reação alérgica aos compostos vacinais, injeta-se no outro braço uma solução de antitoxina inativa. As respostas ao teste podem ser:

a) **Reação Positiva:** há formação de área avermelhada no local da inoculação, em 24 horas, evoluindo para área de hiperpigmentação parda local, após 5 dias. Na área da inoculação, nada ocorre. Esta reação indica que o paciente não apresenta antitoxina circulante ou apresenta-a em níveis muito baixos e não protetores. O indivíduo será, portanto, susceptível à infecção.

b) **Reação Negativa:** não há formação de lesões em ambos os braços. Nesse caso o indivíduo possui níveis altos de antitoxina circulante, não sendo susceptível à infecção.

c) **Pseudo-reação:** a reação aparece precocemente, entre 12 a 18 horas da inoculação e em ambos os braços, desaparecendo em 48-72 horas. O fato indica hipersensibilidade aos compostos da antitoxina.

d) **Reação Combinada:** ocorre o aparecimento de reação em ambos os braços e precocemente. Mas desaparece entre 48-72 horas apenas no braço controle, mantendo-se no braço da antitoxina. Tal fato demonstra haver uma reação positiva por se tratar de pessoas que perderam a imunidade, mas mantiveram a hipersensibilidade. Essa reação aparece em idosos e crianças na faixa etária de 6-7 anos.

Outro teste utilizado é o teste de MOLONEY<sup>16</sup>, que avalia o estado de sensibilidade aos antígenos existentes na vacina antidiftérica. É indicado em crianças entre 6 e 11 anos, que não receberam nenhuma dose da vacina.

A vacinação é a medida profilática mais efetiva contra a difteria. O toxóide diftérico, que é a própria exotoxina purificada, foi introduzido em 1923. É habitualmente utilizado em precipitados pelo hidróxido de alumínio, acondicionado em



ampolas de 0,5 ml cada uma, contendo 25 ULf (unidade floclantes). O nível protetor da antitoxina sérica é de cerca de 0,01 UI/ml.

## 6. VACINAÇÃO<sup>4,5,11,15,16,18</sup>

A vacina é associada ao toxóide tetânico e à vacina anti-pertussis, tétano e coqueluche, respectivamente. É chamada de DPT (tríplice bacteriana, difteria, tétano e pertussis). Tem aplicação intramuscular, aos 2, 4, e 6 meses de vida, com reforço aos 18 meses, segundo o calendário vacinal brasileiro. Deverá haver mais dois reforços, aos 3 anos de idade e antes de iniciar o curso primário<sup>11</sup>.

Crianças menores de 7 anos e não imunizadas no primeiro ano de vida, deverão receber a vacina dupla infantil, (DT - difteria e tétano), com cerca de 10 a 12 ULf de toxóide diftérico. Alguns autores preconizam a revacinação a cada 10 anos, com dupla adulto (dT), que contém cerca de 2 ULf<sup>15</sup>. A vacinação em adultos não imunizados dependerá da resposta ao teste de Schick<sup>16</sup>.

Estima-se que 1 a 2% dos indivíduos vacinados não respondam à vacinação, permanecendo suscetíveis à infecção<sup>18</sup>. As taxas de prevenção variam de país a país e de estado a estado dentro de cada país. Não existe um estudo clínico controlado e cientificamente aceito para tal questão<sup>15</sup>. No Estado do Texas, por exemplo, as taxas de proteção variam em 54% e em 87% no Yemen<sup>15</sup>. No Brasil não existem dados confiáveis a este respeito. A queda nas taxas anuais da doença, porém, é evidente, mostrando a eficácia da vacina.

Os principais efeitos da vacina aparecem nos adultos e crianças maiores de 7 anos. Manifestam-se em geral sob a forma de hipersensibilidade, com reações cutâneas, abscessos assépticos, broncoespasmos etc.<sup>15,16</sup>. Efeitos como miocardite, neurite, paralisia ocular e diafragmática são raramente encontrados. De modo geral aparecem naquelas pessoas que apresentam intensa reação

alérgica local<sup>5</sup>. A solução para esses problemas se resume na melhor purificação do toxóide, removendo-se as proteínas estranhas, pela adsorção do toxóide em sal alumínio e a redução da quantidade de toxóide inoculada, para 1 a 2 ULf<sup>15</sup>. A vacina é contra-indicada em crianças com quadro febril, alérgico agudo e em tratamento com corticosteróides/imunossuppressores.

Um problema não resolvido pela vacinação é a infecção por cepas não toxigênicas do *C. diphtheriae*. Essas produzem doença local e podem ser transmitidas, tendo em vista que a vacina só protege contra as ações da toxina e cepas toxigênicas<sup>15</sup>.

## 7. CORINEFORMES DE INTERESSE MÉDICO<sup>3,10,14,19</sup>

A necessidade do isolamento das bactérias, antigamente consideradas como "*Corynebacterium sp*" ou difteróides, se faz tendo em vista os recentes isolamentos dessas bactérias como possíveis agentes oportunistas, causando infecções de pele, osteomielite, endocardites, infecções respiratórias e bacteremias. Muitas infecções relacionadas com catéteres e válvulas protéticas cardíacas foram relacionadas com os difteróides. Relatos de infecções peritoneais em pacientes submetidos a diálise peritoneal (DPAC) mostram que cerca de 1 a 2% dos casos são devidos aos difteróides (Propionibactérias e Bactérias do grupo JK.)<sup>19</sup> Relacionamos, a seguir, sucintamente, os principais corineformes relacionados às doenças humanas e animais: 3,14

- *C. ulcerans* - faringites exsudativas e infecções de pele;
- *C. pseudotuberculosis* (*C. ovis*) - linfadenites caseosas em ovelhas e úlceras e abscessos em eqüinos;
- *C. pyogenes* (*Actionomyces pyogenes*) - lesões purulentas em porcos e ovelhas;



- **C. haemolyticum** (*Aracanobacterium haemolyticum*) - úlceras de pele, faringites e abscessos;
- **C. equi** (*Rhodococcus equi*) - infecções em cavalos e vacas; foi encontrado em infecções pulmonares de humanos com neoplasias pulmonares e transplantados, com contato prévio com animais;
- **C. xerosis** - faz parte da flora normal da pele e nasofaringe, podendo causar infecções protéticas de válvulas cardíacas;
- **C. pseudodiphthericum** (*C. foemannii*) - faz parte da flora normal da faringe, podendo ocasionar endocardites e infecções em válvulas cardíacas protéticas;
- **C. striatum** - compõem a flora normal nasal, podendo causar infecções pleuropulmonares em leucêmicos;
- **C. grupo JK** - são cultivados de vários materiais, sangue, LCR, tecidos, líquido peritoneal, etc. A maioria das infecções ocorre no uso de catéteres ou granulocitopênicos em pacientes cirúrgicos. Fazem parte da flora normal da pele, principalmente nas axilas, região inguinal e reto;
- **C. bovis** - causam mastite bovina. São raros os casos de infecções em humanos;
- **C. Kutscheri** - produzem infecções em ratos neonatos de laboratório.
- **Grupo C. renle** - causam cistites e pielonefrites em vacas. Conhecem-se apenas dois relatos em humanos;
- **Corineformes do grupo A1 a A5** - são contaminantes de válvulas protéticas.
- **Corineformes do grupo D2** - aparecem isolados em aspirados transtraquéias de pacientes com pneumonia.
- **Corineformes do grupo E** - causam septicemia e pielonefrites em imunossuprimidos.
- **Corineformes do grupo F** - são isolados de sítios gênito-urinário humano.
- **Corineformes do grupo G** - são isolados dos olhos, garganta e gênito-urinário de humanos.

- **Corineformes do grupo I** - são isolados de feridas, garganta, sangue, etc. de humanos.
- **C. aquaticum** - foram isolados em dois casos humanos de endocardite e diabetes.
- **C. genitalium** - raramente causam uretrites inespecíficas em homens.
- **C. minutissimum** - são isoladas de lesões de dedos e axilas.

Outros gêneros de corineformes incluem os *Brevibacterium*, *Arthrobacter*, *Cellulomonas*, *Curtobacterium*, *Microbacterium*, *Caseobacter*, *Rhodococcus* e as *Oeskovia*. A classificação dos *Propionibacterium* como corineformes, é controversa, sendo eles considerados por muitos autores como difteróides anaeróbios<sup>10</sup>.

## CONCLUSÃO

Apesar da elevada taxa de letalidade da difteria, essa doença é perfeitamente prevenível através da vacinação.

O estudo da toxina e das técnicas de diagnóstico laboratorial facilitam o diagnóstico e o tratamento da doença.

## Bibliografia

1. BIER, O. Corinebactérias. In: \_\_\_\_. **Bacteriologia & Imunologia**. 21.ed. rev. amp. São Paulo : Melhoramentos, 1981. cap. 31, p. 572-584.
2. **BOLETIM EPIDEMIOLÓGICO DO PARANÁ**, Secretaria de Saúde, agosto, 1993.
3. COYLE, M. B. et al. Corinebacterias y otros organismos corineformes. In: \_\_\_\_. LENNETTE, E. H. **Manual de Microbiologia Clínica**. 4.ed. Buenos Aires : Panamericana, 1985. cap. 18, p. 249-262.



4. EDWARDS, K. M. **Imunização contra difteria, tétano e coqueluche em adultos.** In: \_\_\_\_\_. MOELLERING Jr, R. C. Clínicas de Doenças Infecciosas da América do Norte: imunizações em adultos I. Rio de Janeiro : Interlivros, 1990. v.1, p. 79-96.
5. FEIGIN, R. D., STECHENBERG, B. W. Diphtheria. In: \_\_\_\_\_. **Textbook of Pediatric Infections Diseases.** 2. ed. Philadelphia : W. B. Saunders Company, 1987. v. 1, cap. 28, p. 1134-1140.
6. FORMIGA, L. C. D. **Diagnóstico Microbiológico da Difteria** (1.º de 3 partes). Revista Brasileira de Patologia Clínica, Rio de Janeiro, v. 22, n. 2, 1986.
7. \_\_\_\_\_. **Diagnóstico Microbiológico da Difteria** (2.º de 3 partes). Revista Brasileira de Patologia Clínica, Rio de Janeiro, v. 22, n. 3, 1986.
8. \_\_\_\_\_. **Diagnóstico Microbiológico da Difteria** (3.º de 3 partes). Revista Brasileira de Patologia Clínica, Rio de Janeiro, v. 22, n. 4, 1986.
9. \_\_\_\_\_. **Quando, por que e como identificar os corineformes - comentários adicionais.** Revista Brasileira de Patologia Clínica, Rio de Janeiro, v. 24, n. 2, p. 62-64, 1988.
10. JAWTZ, E. **Bacilos Gram positivos não esporulados:** Corynebacterium, Propionibacterium, Listeria e Erysipelothrix. In: \_\_\_\_\_. Microbiologia Médica. 18.ed. Rio de Janeiro : Guanabara-Koogan, 1991. cap. 13, p. 156-160.
11. LONGO, J. C. Difteria. In: \_\_\_\_\_. VERONESI, R. **Doenças Infecciosas e Parasitárias.** 8.ed. Rio de Janeiro : Guanabara-Koogan, 1991. cap. 45, p. 367-378.
12. MARGARITELLI, C. E. Difteria. In: \_\_\_\_\_. MARCONDES, E. **Pediatria Básica.** 7.ed. São Paulo : Sarvier, 1985. v.2, p. 928-931.
13. McCARTY, M. Corinebactérias. In: \_\_\_\_\_. DAVIS, B. D. et al. **Microbiologia de Davis: Infecções Bacterianas e Micóticas.** 2.ed. São Paulo : Harper & Row do Brasil, 1979. v.3, cap. 24, p. 818-830.
14. McLOSKEY, R. V. Corynebacterium diphtheriae (Diphtheria). In: \_\_\_\_\_. MANDELL, G. L., DOUGLAS, R. G. et BENNETT, J. E. **Principles and Practice of Infectious Diseases.** 2.ed. New York : Wiley Medical Publication, 1985. cap. 165, p. 1171-1177.
15. MORTIMER Jr, E. A. **Diphtheria Toxoid.** In: \_\_\_\_\_. PLOTIK, S. A., MORTIMER, E. A. Vaccines. Philadelphia : W. B. Saunders Company, 1988. cap.3, p. 31-34.
16. NOGUEIRA, S. A., FORMIGA, L. C. D., LOPES, P. F. A. **Pesquisa de portadores de Corynebacterium diphtheriae e de susceptibilidade à toxina de Schick em contatos de difteria.** Revista Latino- Americana de Microbiologia. p. 221-226, 1982.
17. SAKANE, P. T. Difteria. In: \_\_\_\_\_. AMATO NETO, V., BALDY, J. L. S. **Doenças Transmissíveis.** 3. ed. Rev. Amp. São Paulo : Sarvier, 1989. cap. 22, p. 237-245.



18. SOUNIS, E. Epidemiologia e Prevenção de Difteria. In: \_\_\_\_. **Epidemiologia Aplicada**. Rio de Janeiro : Atheneu/Edit. UFPR, 1985. v.2, cap.10, p. 11-14.
19. TRABULSI, L. R., TOLEDO, M. R. F. Corynebacterium. In: \_\_\_\_. **Microbiologia**. 2.ed. Rio de Janeiro : Atheneu, 1991. cap.20, p. 127-130.
20. VAS, S, I. Infecções em cateteres de diálise peritoneal ambulatorial contínua. In: \_\_\_\_. MOELLERING, Jr, R. C. **Clínicas de Doenças Infecciosas da América do Norte**: infecções causadas por dispositivos protéticos. Rio de Janeiro : Interlivros, 1989. v.2, p. 303-329.