

SAPROPHYTISMO DO BACILLO TUBERCULOSO (1)

Pelo Dr. A. FONTES

Chefe de Serviço do Instituto Oswaldo Cruz

A noção de *saprophytismo* deve ser encarada sob diversos aspectos no estudo do bacillo de tuberculose: sob o aspecto classicamente admitido, noção microbiologica, sob o aspecto de avirulencia para o hospedeiro, noção pathogenica, sob o aspecto de reversibilidade de caracteres que permita classificar o agente da infecção tuberculosa como originario de uma fonte unica, ponto de partida de typos apathogenos, symbioticos, ou virulentos, noção phylogenetica.

I

Existe o bacillo da tuberculose em vida saprophytica no meio exterior?

A tendencia natural do espirito é crer que as especies actualmente pathogenicas ter-se-iam adaptado á vida parasitaria; umas incompletamente, podendo ainda exercer a funcção ordinaria e só vivendo como parasita occasionalmente; outras que, por se terem de tal sorte adaptado á vida parasitaria, perderam a faculdade de viverem nas condições do meio exterior, senão completamente, ao menos, quasi que por completo. Estas especies só em condições especiaes podem viver em condições de vida saprophytica, no sentido micro biologico, isto é, sujeitas ás vicissitudes do meio exterior.

O estudo da flora microbiana saprophytica revelou a existencia de uma classe de microorganismos, morphologicamente semelhantes ao bacillo de KOCH e como elle caracterisados pela estructura particular que lhes confere a propriedade de acido-resistencia.

Esta classe, conhecida ainda como a de germes para-tuberculosos, mostra representantes no solo, nos vegetaes, em productos animaes diversos; e se, acaso ficasse demonstrada a capacidade tuberculigena, de qualquer d'essas especies, não só o problema microbiologico como o medico e o hygienico, referentes á infecção tuberculosa, muito se esclareceria.

As verificações orientadas neste sentido por contraditorias ainda não fizeram praça.

As experiencias de KOLLE, SCHLOSSBERG e PFANNESTIEL (1) que inoculando bacillos saprophytas acido-resistentes e bacillos tuberculosos de animaes de sangue frio, conseguem em inoculação intra-peritoneal em cobayas, por passagens successivas, determinar a infecção tuberculosa generalisada, as de JOSEF IGERSHEIMER e H. SCHLOSSBERGER (2) que inoculando bacillos para-tuberculosos na camara anterior do olho em cobayas obtiveram lesões graves, semelhando ás produzidas por bacillos tuberculosos; ás de SAN FELICE (3) que conseguiu infecções tuberculosas ty-

(1) Memoria apresentada ao 20. Congresso Pan-Americano de Tuberculose, reunido no Rio de Janeiro de 30 de Junho a 7 de Julho de 1929.

picas, partindo de um streptotryx acido-resistente, isolado de um rato, acham contradicta nas experiencias de BRUNO LANGE (4) com acido-resistente dos instrumentos de sopro, de BRUNO HEYMANN e WALTER STRAUSS (4) e de DAL COLLO (6).

MAHER (7) refere entretanto ter isolado de um abscesso traumatico do escroto um bacillo acido-resistente com os caracteres do bacillo de smegma que, por passagem em batata caldo glicerinado em estufa, ao cabo de 3 semanas originava pequenas colonias com aspecto de colonias do bacillo da tuberculose do typo humano.

Essas colonias deram por infecção da cobaya por via intra-peritonial o quadro de tuberculose generalizada, transmissivel em serie.

O caso clinico terminou 6 mezes depois por morte em virtude de tuberculose pulmonar, activa, inexistente clinicamente, por occasião de infecção do escroto.

CALMETTE (8) com BOQUET e NÉGRE não conseguiram mesmo depois de 10 passagens em cobayas e coelhos, augmento de virulencia de uma amostra de *phléole*, de MOELLER, nem tampouco a capacidade de determinar a formação de tuberculos; verificaram entretanto, que, após as passagens pelo organismo animal, a amostra em questão se cultivava mais facilmente á temperatura de 37°C. e que determinava o phenomeno de KOCH em cobayas tuberculosas, apesar de não exercer nenhum poder protector em relação ás inoculações subseqüentes do bacillo tuberculoso.

Resulta entretanto ainda da observação de grande numero de observadores que a condição de pathogeneidade pode ser, ainda que accidentalmente, apresentada pelos acido-resistentes banaes, ou para-tuberculose. Assim concluem PHILIBERT, COURMONT, CANTACUZENE, BEZANÇON (9), e mesmo reacções biologicas tem sido evidenciadas que aproximam os para-tuberculose dos bacillos tuberculosos verdadeiros.

A para tuberculina de IRIMESCO (10), a função antigenica evidenciada por OGAWA (11), o estudo da biologia de diferentes amostras (COURMONT, CANTACUZENE, DESCOS, RODET e GALAVIELLE (12) fallam sobre a possivel ligação de parentesco entre as bacterias acido-resistentes banaes e o bacillo de KOCH.

Se em verdade não pode ser ainda evidenciada nitidamente a função pathogena tuberculigena de acido-resistentes saprophytas, de sorte a permittir ligação phylogenetica clara entre elles e os bacillos da tuberculose, pode-se entretanto affirmar que: *condições especiaes podem agir sobre estes ultimos transformando-os em typos cada vez mais proximos ao dos acidos-resistentes banaes, por modificações profundas de sua biologia tornando-as avirulentas, alterando-lhes o bio-chinismo de sorte a perderem as principaes características dos bacillos pathogenos, em estreita relação com a vida do parasitismo obrigatorio.*

As antigas verificações de AUCLAIR (13) fallam ainda em favor desta these.

Observações muito interessantes acabam de ser communicadas por LEON KARVACKI (14) á Sociedade Poloneza de Biologia. Possui KARVACKI dez amostras de bacillos tuberculosos que germinam e se desenvolvem em culturas á temperatura ordinaria. Quatro realisam o quadro saprophytico completo: facil desenvolvimento em meios communs, á tem-

peratura ordinaria, avirulencia por os animaes de laboratorio, funcção chromogena accentuada. Estas amostras de origem humana e de origem equina apresentam ainda profundas modificações do seu metabolismo cultural; alteração e enfraquecimento em algumas de poder fermentivo, cheiro pronunciado de trimetnylamina, producção de tuberculina fraca. As outras 6 amostras apresentam ainda lacunas em seu saprophytismo.

Apezar de se desenvolverem a temperatura ordinaria, o seu desenvolvimento é lento e só se faz em meios p roprios á tuberculose. Algumas dellas são já apathogenas para a cobaya.

As observações que desde 1923 venho fazendo nesta ordem de idéas fallam eloquentemente em favor do possivel saprophytismo do bacillo da tuberculose. Não me furto a transcrever o que com BARBOSA DA CUNHA (15) publiquei, para melhor entendimento das conclusões.

* * *

“Culturas de tuberculose aviaria, e bovina, antigas no laboratorio, com 5 mezes de desenvolvimento em gelose glicerinada á 5 o/o, foram transplantadas em 5-VII-23, para meios de SABOURAUD-maltosado e meio de SABOURAUD-maltosado-glicerinado á 5 o/o. As culturas se desenvolveram abundantemente nos tubos com o meio glicerinado e foram pouco abundantes nos tubos isemptos de glicerina. As amostras semeadas se comportaram igualmente, não sendo possivel estabelecer differença apreciavel no desenvolvimento das respectivas colonias, quando comparadas nos mesmos meios de cultura. (Observação feita em 11-XI-923).

N’esta ultima data se procedeu a uma nova passagem nos mesmos meios, tendo sido observado um mez depois culturas mais abundantes que da primeira passagem. Estas culturas foram conservadas até Abril de 1924, quando iniciamos a verificação por novas series utilizando-nos das amostras mais antigas da collecção do Instituto. Dentre estas sobreleva notar a amostra T. M. 1 (typo humano) que nessa occasião contava cerca de 25 annos de passagens successiva em meios artificiaes, sem passagem em animal e que conservava toda a virulencia e caracteres morphologicos e culturaes classicos.

Não só essa amostra como ainda outra do typo humano (T. M. 4) e outras do typo bovino foram mantidas por passagens successivas em meios de SABOURAUD-maltosado, glicerinado-glycosado-maltosado, glicerinado-glycosado, conservação, conservação-glicerinado e gelose-glicerinada, até Outubro de 1924, sem que fossem notadas differenças accentuadas no desenvolvimento das culturas, nem na virulencia das amostras.

Pelos exames repetidos essas amostras conservaram sempre sua morphologia em bastonetes mais ou menos granuloso, sua acido-resistencia mais ou menos accentuada e sua virulencia sem modificação apreciavel. O mesmo succedeu em culturas mantidas por passagens repetidas em meios liquidos de composição identica ao SABOURAUD (com exclusão de gelose) e no meio usado para o preparo da vaccina do carbunclo symptomatico, immensamente favoravel á attenuação desse germem, e que é constituído pelo caldo de carne, sôro de cavallo e glycose.

Ainda ahí as amostras de tuberculose semeiadas se desenvolveram sem atenuação apreciavel de sua virulencia e sem modificação sensível na sua morphologia e caracteres culturaes. (Observações feitas em 8 de Setembro de 1924).

Alguns dos tubos de cultura em SABOURAUD-maltosado, glicerinado-maltosado e glycosade-maltosado foram deixados fóra da estufa em exposição á luz diffusa, arrolhados com rolha de cortiça, sem nenhuma repicagem. Assim de Agosto de 1924 a Novembro de 1926 permaneceram essas culturas, quando foram então repicadas para novos tubos de SABOURAUD. *A semente não se desenvolveu nos tubos repicados, que foram conservados na estufa durante 45 dias.*

Addicionou-se então um pouco de caldo simples aos tubos originaes e foram elles mantidos em estufa até Fevereiro de 1927. Nessa data a amostra T. M. 1, semeada em SABOURAUD-glycosado em 29-VIII-24, repicada novamente deu desenvolvimento a culturas pujantes de bacillos de tuberculose, alcool-acido-resistentes.

Em 6 de Janeiro de 1928, procedeu-se a uma nova transplantação da semente do tubo original T. M. 1., semeada em Agosto de 1924, tendo havido abundante desenvolvimento em todos os tubos semeados.

A vitalidade da semente no meio de SABOURAUD-glycosado se mantinha ainda, após 3 annos e 5 mezes. As outras amostras não mais se desenvolveram.

As experiencias acima referidas demonstram *a possibilidade do bacillo da tuberculose manter-se em estado de vida latente em culturas artificiaes durante o praso de 2 annos e 7 mezes, recobrando a sua virulencia (na acepção da capacidade de reproducção) sem perder os seus caracteres morphologicos e culturaes, bastando para isso encontrar elementos favoraveis ao seu desenvolvimento: CALOR, ELEMENTO NUTRITIVO E HUMIDADE.*

* * *

Essas experiencias conduziram o nosso espirito á verificação da possibilidade de vida do bacillo da tuberculose em condições proximas ao saprophytismo natural. Para esse fim estabelecemos a seguinte serie experimental, cujo protocollo damos a seguir:

21 de Março de 1927—Foram semeados 2 balões de caldo glicerinado a 5 o/o em superficie com cultura em pelle de T. M. R. (amostra isolada de urina de homem, typo humano); 2 balões com cultura em pelle de T. H. A. (typo humano, isolado de escarro).

Os balões foram conservados á temperatura ambiente e expostos á acção da luz diffusa.

Na 1a semana todas as pelles semeadas foram ao fundo dos balões.

5-5-927—Em um dos balões semeados com T. M. R. (balão 1) a semente que fora ao fundo serviu de nucleo ao desenvolvimento de uma cultura de cogumelo (observação feita 48 dias depois da semeadura).

22-6-927—Nessa data um fragmento da semente do balão 1, que accarretava consigo uma particula de cultura do cogumelo, emulsionado em um pouco dagua physiologica, foi inoculado em 2 cobayas.

Estas cobayas apresentaram cancro e ganglios correspondentes infartados no prazo commum.

22-8-927—Nessa data foi extrahido um ganglio inguinal de uma das cobayas. Esfregaços do ganglio mostraram numerosos bacillos acido-alcool-resistentes, e mycelio. Com pús do ganglio foram semeados tubos de batata-glycerinada, PETROFF, e gelose-glycerinada em SABOURAUD.

11-10-927—As culturas se desenvolveram bem em batata e em PETROFF e em gelose-glycerinada e no meio de conservação de SABOURAUD.

Nos esfregaços feitos com o material retirado dos tubos de PETROFF e conservação de SABOURAUD, foram vistos abundantes mycelios, ao lado de bacillos acido-alcool-resistentes, com bastonetes GRAM positivos.

Nesta data procedeu-se á repicagem desses tubos para meios proprios á tuberculose, assim como tambem para meio de SABOURAUD. Neste ultimo meio desenvolveu-se uma cultura de actinomyces.

30-11-927—As sementes depostas nos balões em 21-3-927, foram retiradas e inoculadas em 8 cobayas, obedecendo á seguinte serie:

Balão n. 1. Tuberculose renal + cogumelo actinomyces: 2 cobayas.

Balão n. 2. Tuberculose renal + cogumelo não caracterizado: 2 cobayas.

Balões III. IV. V e VI—com T. M. 1 e T. H. A.—caldo esteril limpido: 2 cobayas para cada balão.

Durante o mez de Dezembro morreram as cobayas correspondentes aos balões III e IV, sem lesões tuberculosas. As outras se conservaram vivas sem manifestações de doença até a data actual.

Dessas experiencias decorre que *o bacillo da tuberculose foi capaz de viver em latencia no interior do caldo de cultura, á temperatura ambiente e exposto á luz, diffusa, sem se desenvolver, e supportando a concurrencia vital com o desenvolvimento de uma cultura de cogumelo durante o prazo minimo de 45 dias e maximo de 90 dias (até onde chegou a nossa observação), sem modificação de sua virulencia.*

Por outro lado foi elle acompanhado em *symbiose pelo actinomyces que tambem foi isolado da lesão da animal.*

Restava verificar se poderia ser tambem attribuida qualquer acção pathogenica a esse actinomyces.

Com esse fim procedeu-se á inoculação de uma cobaya com fragmento da cultura em SABOURAUD-conservação (1º repique do tubo de PETROFF, onde fora semeado o pus da cobaya primitivamente infectada).

No animal infectado com o actinomyces houve desenvolvimento de tuberculose. Nos ganglios inguinaes foram encontrados numerosos bacillos de KOCH. Não foi encontrada nenhuma fórmula attribuiavel ao actinomyces.

Uma verificação da cultura do actinomyces (2º repique) feita posteriormente mostrou a existencia de raros bastonetes acido-alcool-resistentes. Tratava-se por consequencia de resto da semente do tubo de PETROFF, passado para o meio de SABOURAUD. Uma cultura de actinomyces semeada em SABOURAUD (3º repique) não infectou a cobaya quando experimentada.

Assim, pois, *o actinomyces não apresentou poder pathogenico para a cobaya.*

A repicagem do balão "I" feita em 7-XII-927 para SABOURAUD deu desenvolvimento á uma cultura identica á que fôra obtida após a passagem desse cogumelo pelo organismo da cobaya.

Verificou-se assim experimentalmente a concurrencia vital de um germen não pathogenico com um germen pathogenico em symbiose nas condições normaes do meio exterior, symbiose que se manteve por passagem no organismo animal, conservando-se ambos os germens com os seus caracteristicos physio-pathologicos, isto é, um o seu poder pathogeno intacto (bacillo da tuberculose), o outro a sua não pathogenidade (actinomyces saprophyta).

As sementes mantidas nos balões de caldo até Novembro foram nessa data inoculadas em cobayas que se mostraram sem alteração de saúde, nenhuma dellas se infectando.

Os tubos semeados com o pús da cobaya infectada por essa amostra de tuberculose deram desenvolvimento a magnificas culturas luxuriantes, todas, porém, dotadas de forte poder chromogeno. Quer os tubos de PETROFF, quer os de batata-glycerinada ou os de gelose-glycerinada, mostraram culturas coradas em róseo salmão mais ou menos accentuado, até a côr de vermelho tijolo, entremeado com coloração crême.

É digno de nota e se deve accentuar que *a propriedade chromogena mostrou-se neste caso independente da constituição chimica, do meio. Do mesmo modo, não esteve ella ligada á idade da cultura do laboratorio, por isso que foi verificada nessa amostra immediatamente depois da passagem pelo organismo da cobaya, quando anteriormente essa amostra não tinha poder chromogeno accentuado e que tambem não se manifestou nas culturas subsequentes áquellas obtidas após isolamento do germen do pús tuberculoso.*

Os preparados microscopicos dessas culturas são tambem muito interessantes.

Nelles se observou a predominancia de fórmias em streptothrix.

DISCUSSÃO

As experiencias acima relatadas nos suggerem considerações de valor pratico.

A possibilidade do bacillo da tuberculose se manter em estado de vida latente durante o prazo de 2 annos e 7 mezes, recobrando sua vitalidade pela addicção de elementos nutritivos que asseguravam ainda a conservação da vida da cultura original ao cabo de 3 annos e 5 mezes, falla muito alto em favor da grande resistencia do virus tuberculoso ás causas dysgeneticas do meio exterior.

Esta condição de resistencia e de vida latente ainda se tornou mais patente na serie experimental III.

Desta serie se conclue que a contaminação accidental por um actinomyces não se oppoz á vida symbiotica desse cogumelo com o bacillo de KOCH, conservando cada especie suas caracteristicas biologicas, a saber: não pathogeneidade do actinomyces e a pathogeneidade e virulencia do bacillo da tuberculose. *Essas experiencias nos mostraram, pois, que devemos manter grandes reservas sobre a destruição do virus tuberculoso, pelas condições dysgeneticas do meio exterior, e nos fazem pensar na possibilidade de infecções originarias de meios infectados''.*

Ao mesmo pensar conduz a experimentação de SOPARKAR (16) que meverificou a virulencia de bacillos em escarros dessecados mantidos obscuridade mesmo após 309 dias.

Do exposto se deduz pois que o virus da tuberculose póde se manter em latencia de vida por prazo superior a 2 annos e 7 mezes, e viver em symbiose com um cogumelo não pathogeno por prazo de 90 dias, sujeitos as condições normaes do meio ambiente (acção da temperatura e da luz). Neste ultimo caso o virus não perdeu a sua virulencia nem a sua pathogeneidade.

Não ha entretanto na litteratura sobre o assumpto documentação concludente que permitta affirmar a condição de vida normal saprophytica ao bacillo da tuberculose.

II

Pode o bacillo da tuberculose viver em condição saprophytica no organismo animal?

É o caso do saprophytismo parasitario tantas vezes encontrado em clinica e que as seguintes observações esclarecem.

1—Doente de idade avançada, com bronchite chronica, sem bacillos de KOCH na expectoração ao exame microscopico.

A inoculação do escarro determinou na cobaya a formação do cancro da inoculação e a adenite classica com bacillos acido-resistentes.

O pús do ganglio reinoculado não determinou doença em segunda passagem, sendo reabsorvido.

2—Adolescente com tuberculose renal desde idade de 7 annos, comprovada por bacterioscopica e inoculação de urina.

O animal inoculado morreu por tuberculose generalisada no prazo de 2 mezes.

O adolescente que mantem permanente eliminação de bacillos tuberculosee pela urina desenvolve-se normalmente e se encontra com 20 annos de idade.

A primeira destas observações mostra a possibilidade de existencia do germem em estado quasi saprophyta, incapaz já de determinar lesões lethaes no animal de experiencia enquanto que entretem o estado morbido em seu hospedador.

A segunda observação nos mostra a existencia de um germem tuberculigeno de virulencia grandemente attenuada para o seu portador, mantendo-se entretanto seu poder virulento e aggressivo intacto para o animal de experiencia.

A seguinte observação de MOENKEBERG e ONETO (17) é ainda muito suggestiva.

Féto de mãe tuberculosa, extrahido por cesareana, sem lesões tuberculosas placentarias, revela por inoculação do sangue do cordão a presença do virus que determinou a infecção classica da cobaya.—O féto se desenvolveu normalmente e até a idade de anno e meio nada aparentou que revelasse doença.

As observações clinicas acima transcriptas mostram claramente uma condição especial de vida ao bacillo da tuberculose compativel com mani-

festações de virulencia as mais diversas, que se objectivam na maior ou menor receptividade de organismo infectado.

Amostras quasi que apathogenas para os seus hospedadores conservam integralmente sua virulencia para animaes de laboratorio; amostras quasi avirulentas para os animaes de laboratorio, entreteem condições morbidas no organismo hospedador.

Em qualquer dos casos, entretanto é certo que *condições de saprophytismo ainda que incompletas mostram a possibilidade que tal função biologica se estabeleça por condições normaes.*

Um outro ponto a abordar no estudo do saprophytismo parasitario é o da existencia possivel do bacillo da tuberculose, na intimidade dos tecidos, sem determinar lesões anatomicas, conservando ou não a sua pathogenicidade para os animaes de laboratorio. As verificações experimentaes de todos os que se vem occupando com o estudo dos elementos filtraveis do virus tuberculoso, dão forte testemunho do phenomeno referido.

Do exposto se deduz pois *que o bacillo da tuberculose em condições especiaes de parasitismo pode soffrer modificações em sua virulencia de sorte a mostrar um estado particular de saprophytismo relativo.*

III

Deriva o bacillo de KOCH de uma fonte saprophytica?

A resposta experimental a este conceito só pode ser dada pela verificação do augmento de virulencia progressivamente obtido por adaptação parasitaria dos saprophytas banaes, ou pela constatação da reversibilidade dos typos de tuberculose conhecidos, que atinja á criação de especies apathogenas.

A documentação experimental apresentada em resposta a 1a questão do presente trabalho attende ainda a questão que estudamos.

Não tem sido possivel crear, partindo de saprophytas banaes, um typo de acido-resistentes com os caracteres integraes, morphologicos, culturaes e pathogenicos attribuiveis aos bacillos da tuberculose.

Mostra entretanto a litteratura sobre o assumpto, experimentação, ainda que contraditada, tendente a evidenciar a reversibilidade dos typos de tuberculose.

DUBARD, BATAILLON, TERRE, BERTARELLI, e BOCCHIA, DIEUDONNÉ, SAN FELICE, KLEBS, SCHROEDER (18) fallam sobre a possibilidade de adaptação de bacillos tuberculosos de mammiferos a organismos de animaes de sangue frio, ou vice-versa. permittindo uma verdadeira transformação de um typo em outro typo.

RAMON et RAVAUT, LUBARSCK e MAYER, AUCHÉ e HOBBS, LEDOUX-LEBARD, MOELLER, A. WEBER e TANTE, VON BETEGH (19) CALMETTE não conseguem obter a adaptação do virus tuberculoso humano ou bovino aos animaes de sangue frio.

Si acaso nada de concludente resulta da experimentação que acaba de referir, é entretanto possivel demonstrar experimentalmente modificações impressas a amostras de tuberculose typicas, que, transitorias, permittem a regressão ao typo original, ou, permanentes, dão origem á constituição de uma nova raça.

TATSO BURO, YABE, MASONA SHIBATO, JOSHITO KABA-YASHI (20) em 17 amostras do bacillo de KOCH observam duas variedades anômalas isoladas directamente de dois casos de tuberculose pulmonar, pelo methodo de PETROFF.

Estas duas variedades T. Y. 1 e T. Y. 2, apresentavam os seguintes caracteres: não eram acido-resistentes, coravam-se facilmente pelas côres basicas de anilina e eram GRAM positivas, morphologicamente semelhantes a um streptothrix, desenvolviam-se egualmente bem em meios communs e glycerinados a temperatura de 37°C. em 24 á 48 horas.

Mostravam fraco poder pathogeno para a cobaya cujas lesões não apresentavam nenhuma semelhança com lesões de tuberculose verdadeira.

As provas de fixação de complemento, com o sôro de cobayas inoculadas com essas amostras, quando utilizado o antigeno de BESREDKA na maioria dos casos foram negativas, enquanto que foram sempre positivas com o sôro de cobaya inoculada com tuberculose, quando utilizado como antigeno emulsões de T. Y. 1, e T. Y. 2.

Passando essas amostras novamente por meio PETROFF ou de BESREDKA com ovo, ao cabo de 3 a 8 gerações readquiriam a acido-resistencia e a morphologia do verdadeiro bacillo da tuberculose, assim como o seu poder pathogenico para as cobayas que morriam com tuberculose generalisada.

CALMETTE (21) com a B. C. G. realisou a segunda affirmação. Foi a CALMETTE possivel com GUERIN obter por artificio de culturas (meios biliados) uma raça de bacillo que não produz tuberculose no organismo dos animaes sensiveis, mas que conserva sua aptidão a secretar tuberculina, e a servir de antigeno; ella permanece toxica e não se desenvolve senão ás proximidades de 38°C.

Em intima correlação com o estudo do saprophytismo se acha o problema da mutação bacteriana.

Cabe a FERRAN (21 ter sido o genio pioneiro que abriu o caminho ao estudo das anomalias observadas no desenvolvimento do cyclo da vida do bacillo de KOCH.

Em memoravel communicação á Acad. de Sciencias e á Sociedade de Biologia de Paris em 1897 lançou FERRAN as bases de sua doutrina que desde então empolga os biologistas no afan das confirmações e das contradictas.

A demonstração dada por este sabio do pleomorphismo e da profunda modificação biologica determinadas á biologia do bacillo de KOCH por influencias exteriores; perda de acido-resistencia, aquisição de mobilidade, desenvolvimento em anaerobia, perda de virulencia, como se encontra nas raças artificiaes creadas nas culturas homogeneas, são aquisições definitivas, confirmadas pela experiencia universal.

Acreditando assim em verdadeira mutação FERRAN confere o caracter saprophyto ao elemento pathogenico. Foi esta a base orientadora do theoria que FERRAN defende com a pertinacia sómente possivel na defeza dos principios que se creem exactos.

Se possivel foi obter por modificações tão profundas da biologia do bacillo de KOCH uma raça avirulenta, condições favoraveis podem reintegrar-o em sua funcção pathogenica, por nova adaptação parasitaria, e reco-

nhecendo no meio exterior a origem da vida em qualquer das suas manifestações, synthetisa FERRAN a sua doutrina denominando *alpha* (α) a todas as bacterias não acido-resistentes, de procedencia diversas, capazes de, quando em culturas puras, determinar nos animaes injectados a formação de tuberculos e a presença de bacillos de KOCH.

A esse bacillo, termo final da evolução do saprophita ao parasita pathogeno, denominou FERRAN *gamma* (γ).

Entre a bacteria *alpha* e a bacteria *gamma* ha um grupo de bacterias que mostra raças distinctas, mais ou menos proximas por seus caracteres biologicos, das bacterias *alpha* ou das bacterias *gamma*. A este grupo FERRAN denominou bacterias *béta* (β).

As bacterias *gamma* quando em caldos artificiaes de cultura perde algumas de suas propriedades, originando uma sub-raça não acido-resistente, que elle denominou *epsilon* (ϵ). Entre as bacterias *gamma* e *epsilon* figura a variedade acido-resistente emulsionavel designada pelo nome de bacterias *delta* (δ).

A doutrina de FERRAN, ainda que não universalmente comprovada encontra fortes argumentos em factos de observação experimentol. O pleomorphismo do bacillo do KOCH não soffre mais contestação. A verificação de fórmias culturaes anomalas vem dia a dia sendo comprovadas por varios pesquisadores.

ARLOING et COURMONT (23) DOSTAL (24) VAUDREMER (25) REENSTIERNA (26), PLA y ARMENGOL (27), KIRCHNER (28), ainda que sob pontos de vista diversos, confirman o pleomorphismo em culturas.

MELLON e ELISABETH JOST (29) verificaram lesões de natureza tuberculosa capazes de determinar a tuberculose verdadeira quando reinjectadas, e devidas um micro-organismo GRAM-negativo, semelhante aos paratyphicos.

PETROFF, BRANCH and STEENKEN, Jr. (30) obteram a dissociação da B. C. G. em colonias avirulentas "R" e colonias virulentas "S".

SWEANY (31) obteve fórmias de degeneração em condição não acido-resistente, granulares, cocoides, bacillares que revertem á fórmula tyrica após passagem por animal. Algumas destas fórmias não podem ser regeneradas em fórmias acido-resistentes.

Em minhas experiencias partindo de amostras do typo humano, antigas em laboratorio, sem passagem por animal, obtive em sub-culturas em caldo-glycerinado e em caldo simples um bacillo GRAM-negativo se desenvolvendo em profundidade.

A primeira cultura feita mostrava filamentos granulosos acido-resistentes em cujas pontas terminaes de ramificação se apresentavam pequenas particulas não acido-resistentes appensas, sob a fórmula de bastonetes. Em campos diversos dos preparados se viam essas mesmas fórmias reunidas em abundancia em estado puro.

Foram obtidas culturas dessas fórmias em estado puro em duas gerações successivas, entre o 5º e 10 dias após a sementeira. Não se desenvolveram em gelose inclinada e se extinguiram após a 2ª passagem em caldo, onde não eram mais vistas estas fórmias após a 3ª passagem, permanecendo entretanto o caldo levemente turvo.

Por menos concludentes que sejam as observações acima declaradas deixam ellas entrever a possibilidade de uma mutação bacteriana no typo dos elementos previstos por FERRAN, e só a continuidade e repetição das experiencias permittirá um iuizo definitivo.

Assim concluiremos:

É possível a mutação do bacillo de KOCH em typos pleomorphicos e avirulentos, mas, apezar da grande serie de factos experimentaes accumulados, tendentes a julgar da possibilidade da transformação por caracteres adquiridos hereditariamente, ou por mutação das bacterias saprophytas acido-resistentes ou não, em verdadeiros bacillos de KOCH, não se poude ainda obter a demonstração peremptoria desse phenomeno.

BIBLIOGRAPHIA

- 1—W. KOLLE, H. SCHLOSSBERGER und W. PFANNSTIEL—Tuberkulose—Studien IV—Ueber die Tierpathogenität u. s. w. Deutsch. Med. Woch.—21 April—937.
- 2—JOSEF YGERSHEIMER and HANS SCHLOSSBERG—Tuberkulose Studien V—Zur Pathogenität der Säurefeste Bakterien. in besonderen der Passage stamme säurefester Bazillen. Deutsch. Med. Woch.—12 Mai 1921, pg. 526.
- 3—SAN FELICE—Anali de Ygieni XXXI—1921—pg. 457.
- 4—BRUNO LANGE—Weitere Untersuchungen über einige der Tuberkelbazillen verwandete. Saurefeste Saprophyten. Deutsch. Med. Woch 182—Juli 1920—pg. 763. Zeilscho. F. Hyg.—T. XCIII—1921. pg. 43—73. Deutsch. Med. Woch.—17 March 1922. pg. 350.
- 5—BRUNO HEYMANN und WALTER STRAUSS—Deutsch. Med. Woch. 28 Juillet 1922. pg. 999 und 1000.
- 6—DAL COLLO, G. P.—Contributo alla conosceza dei rapporti fra bacillo tubercolare ed altri germi ácido-resistenti. Boll. Inst. Sierot. Milaneze.—T. III—1924. pg. 95.
- 7—MAHER STEPEN—The origin of the tubercle bacillus. The Amer. Rev. of Tub.—Vol. XII—n. 4. Dec. 1925.
- 8—A. CALMETTE—Sur la question du transformisme des bacilles paratuberculeux et des bacilles tuberculeux. Bul. de l'Inst. Pasteur. T. XXII—pg. 593.
- 9—PHILIBERT, COURMONT, CANTACUZENE, BEZANÇON—Congrés International de la Tuberculose.—Paris—1905.
- 10—IRIMESCU—Id. Id.
- 11—OGAWA, TOYO—Untersuchungen über Komplementbildung bei Tuberkulose. II Mil. Zeitschrift für Im. Forsch. Band.—44 Sept. 1925—2/3—S. 218—244.
- 12—DESCOS, RODET et GALAVIELLE—Congrés Int. de la Tuberculose. Paris—1905.
- 13—J. AUCLAIR—Les modifications du bacille tuberculeux humain. Aptitude du bacille de KOCH á se transformer en saprophyte. Arch. de Med. Exp. n. 4—Juillet 1903.

- 14—LEON KARVACKI—Saprophytisme des Bacilles Tuberculeux.
Cont. Rend. Soc. Biol.—T. C. n. 13—1929—pg. 1152.
- 15—A. FONTES e BARBOSA DA CUNHA—Inst. Oswaldo Cruz.
Suplemento das Memorias n. 3. Nov. 1928.
- 16—M. B. SOPARKAR—The Vitality of the Tubercle Bac. outside the Body.
Indian Jor.—of Med. Ses.—T. IV—f. 4.—April 1917—
pg. 627, 650.
- 17—MOENKEBERG e ONETO—2o. Congresso Pan Americano de Tuberculose—Cordoba—Out. 1927.
- 18—DUBARD, BATAILLON, TERRE, BERTARELLI e BOCCHIA, DIEUDONNE, SAN FELICE, KLEBS, SCHROEDER—Rev. Med. de Hamburgo n. 7—Julio 1925. Numero em homenagem del LX aniv. del Prof. Dr. L. BRAUER.
- 19—RAMON et RAVAUT, LUBARSCH, et MAYER, AUCHE et HOBBS, LEDOUX, LEBARD, MOELLER, A. WEBER et TANTE, VON BETEGH—Apud.—CALMETTE—op. cit. n. 8.
- 20—TATSO BURO, YABE MASONA, SHIBATO KABAYASHI—Studies on the greatly changed form of tubercle bacillus etc. etc. (red. at. the second Congress of the Japan 1927. Tuberculosis Ass.—Med. in Osaka—April 6.
- 21—A. CALMETTE. Op. Cit. (8).
- 22—FERRAN J.—Las mutaciones bacillares en lo que afectan a la etiologia la patogenia, la profilaxis y la terapeutica de las infec. pre-tuberculosas e tuberculosas.
- 23—ARLOINH—Sur l'obtention de cultures homogènes du bacille de la tuberculose.
C. R. Ac. de Soc.—9 Mai 1898.
—ARLOING, et GOURMONT—C. R. Ac. de Sc.—8 Out. 1898—pg. 312.
- 24—DOSTAL—Wien. Med. Woch. 1913 n. 12 e 15.
- 25—VAUDREMER—Le Bacille Tuberculeux.
1 Vol.—Presses Universitaires.—1927.
- 26—REENSTIERNA, J.—Sur la vie non acido-résistente du microorganisme de la tuberculose.
Arch. del l'Inst. Pasteur de Tunis—T. XV—n. 4—1926.
pg. 309.
- 27—PLA y ARMENGOL—Concepto clinico de la tuberculosis et. etc. Publicações do Inst. Ravetllat-Pla—Barcelona—1927.
- 28—KIRCHNER, O.—Studien Zur Morphologie und Biologie des Tuberkuloseerregers. III—Nicht saurefeste Formen in Saponin-Glycerin-Bouillon-Kulturen.
Beitrage zur Klinik der Tuberkulose. 70 Band—Heft 3
pg. 375.
- 29—MELLON, RALPH, R. and ELISABETH L. JOST. Experiments on the Filterability of the granular Phase of the Tubercle Bacillus.—The Amer. Rev. of Tuberc. Vol. XIX—Mai 1929—n. 5—pg. 483.

- 30 - PETROFF S. A., BRANCH, ARNOLD, STEENKER Jr. WILLIAN—
A Study of Bacillus CALMETTE GUERIN, etc. The
Amer. Rev. of Tuberc.—Vol. XIX—Jan. 1929—n. 1—
pg.
- 31 - SWEANY, HENRY C.—The Regeneration of Acid-Fastness in Appa-
rently Degenerated Tubercle Bacilli.
The Amer. Rev. of Tuberc.—Vol. YVIII—Nov. 1928—
630.
-