

Lepra e tuberculose

Isolamento, de escarro de leprosos, de varias amostras
de MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS (*)

Nota prévia pelo

Dr. H. C. de Souza Araujo

(Com 2 estampas)

Tendo sido convidado pelos Professores Ulysses de Nonohay e Oscar Pereira, respectivamente Presidente e Secretário Geral do 2.º Congresso Nacional de Tuberculose (Secção do Rio Grande do Sul), para, como "Membro de honra", realizar nesse Congresso uma conferência sobre o tema *Lepra e Tuberculose*, e não desejando fazer um trabalho de pura compilação sobre tão palpitante assunto, decidi empreender uma série de pesquisas experimentais, ao mesmo tempo que promovi um inquérito sobre a incidência da tuberculose pulmonar entre os leprosos internados nos nossos principais leprocômios.

As respostas dos diretores de cerca de vinte desses estabelecimentos serão objeto de publicação futura. Quanto aos primeiros resultados da parte experimental, por me parecerem de alta importância, resolvi publicar em *nota prévia* em virtude de ter sido adiado o referido Congresso, por motivo de força maior de todos conhecido e para o qual reservarei trabalho mais completo, precedido da análise da bibliografia referente ao assunto.

São dezenas os trabalhos de histopatologia provando a associação da lepra com a tuberculose cutânea ou visceral, ou da simbiose do bacilo de Hansen com o de Koch, mas foram sempre infrutíferas as tentativas de isolamento do *Mycobacterium tuberculosis* semeando fragmentos de pulmões ou de outras vísceras tuberculosas de leprosos. Somente George W. Mc Coy (1913) conseguiu obter, direta ou indiretamente, culturas do *Mycobacterium tuberculosis hominis* de sucos ganglionares do 10 dos 650 leprosos internados

(*) Trabalho lido na Academia Nacional de Medicina, seguido da exibição das culturas, a 26-6-1941.

na Ilha de Molokai, no arquipélago do Hawaii. Mc Coy considerou impressionante essa incidencia de 1,5 % de tuberculose ganglionar pura entre doentes nos quais era raríssima a tuberculose pulmonar.

As dezenas de amostras de culturas, pigmentadas ou não, de bacilos ácido-alcool resistentes isoladas de leprosos, na sua quase totalidade o foram de lesões cutâneas, lepromas, máculas ou infiltrações, e algumas, mais recentemente, do sangue ou da medula óssea. Revendo a literatura sobre bacteriologia da lepra não encontrei referência a nenhuma pesquisa sistemática com escarro de leprosos, por isso resolvi trabalhar exclusivamente com esta espécie de material e, pelos resultados obtidos, descobri uma verdadeira *mina* de bacilos ácido-álcool resistentes cultivaveis, em meios especiaes, como veremos a seguir.

MATERIAL

As minhas pesquisas abrangem, até esta data, quatro series de sementeiras. A 1.^a serie (11/2/41) constou de 15 escarros de leprosos, sendo 13 de doentes do Hospital-Colônia de Curupaití e 2 do Hospital dos Lázaros. A 2.^a serie (17/4/41) constou de 7 escarros, sendo 6 de doentes do Hospital-Colônia de Curupaiti e 1 de um doente internado no Hospital Central do Exército, trazido a Manguinhos pelo Prof. Olympio da Fonseca filho. A 3.^a serie (14/5/41) tambem constou de 7 escarros, 6 de Curupaití e um de um medico de minha clinica particular. Na colheita de escarros dos doentes do Hospital-Colônia de Curupaiti fui auxiliado pessoalmente pelo seu diretor interino, meu malogrado colega de turma Dr. Frederico Tavares Lobato, recentemente falecido.

A quarta série constou de 12 escarros obtidos por mim com o auxílio do Dr. Batinga, no leprosário Colônia de Itanhenga, do Espírito Santo, a 20 de maio último. Os resultados que figuram nesta *nota prévia* se referem às três primeiras séries; as sementeiras da quarta série ainda estão em observação, assim como parte das anteriores. Nos protocolos das experiências esses escarros receberam os números de 1 a 41, seguidos dos dados de identidade dos respectivos doentes.

As culturas obtidas tomaram, como designação provisória, os números correspondentes aos escarros de que foram isoladas.

TÉCNICA

1. Os escarros foram adicionados de volumes iguais de soluto de soda cáustica a 10 %, segundo a técnica de Petroff e deixados, após agitação, à temperatura do laboratório durante 15 a 30 minutos.

2. Sem a prévia neutralização do método de Petroff os escarros foram centrifugados durante 20 minutos, decantados, lavados com soro fisiológico e de novo centrifugados e decantados.

3. Com os sedimentos foram feitas sementeiras no meio de Loewenstein, com verde de malaquita, e algumas vezes também nos meios glicerinados. Os melhores resultados foram obtidos com as sementeiras feitas depois de permanecerem os sedimentos de 2 a 5 dias na geladeira.

4. Para verificação da presença de bacilos ácido-álcool resistentes foram feitos esfregaços de todos os sedimentos.

5. O resto de cada sedimento foi diluído em soro fisiológico e inoculado em cobaias, por via subcutânea, nas virilhas. O material de alguns casos foi insuficiente para esta prova complementar.

RESULTADOS DO EXAME DIRETO

Nenhum dos doentes cujos escarros serviram para estes estudos tinha diagnóstico radiológico ou experimental de tuberculose. Muitos deles eram, entretanto, considerados como suspeitos duma associação da lepra com a tuberculose pulmonar. Dos 15 escarros da 1.^a série 7, ou 46,6 % revelaram a presença de bacilos a.a. resistentes. Os escarros negativos ao exame direto (Ns. 2, 3 e de 10 a 15) tiveram este resultado confirmado pelas sementeiras ou pela inoculação em cobaias ou por ambas as provas.

Os casos com exame direto positivo foram os seguintes :

Caso 1. N. R., branco, 19 anos, ficha 20 do H.C.C. O exame microscópico do sedimento do escarro revelou abundantes bacilos a.a.r. com os característicos do de Koch e do de Hansen. À cultura obtida do bacilo de Koch (Cultura N.º 1, estudada adiante), a produção de tuberculose em cobaias e rato branco inoculados com esta cultura, como se verá dos protocolos do Dr. Torres, a obtenção de retroculturas desses dois animais e a tuberculização da cobaia inoculada com o próprio escarro confirmaram o exame microscópico.

Caso 4. J. B. S., preto, 37 anos, ficha 98 do H.C.C., doente suspeito de tuberculose e em tratamento pelo Gadusan. O exame direto do escarro revelou raros bacilos suspeitos de Koch.

A inoculação do escarro em cobaia e as sementeiras foram negativas.

Caso 5. J. S. B., branco, 26 anos, ficha 224 do H.C.C. O escarro, tendo dado pouco sedimento, foi semeado apenas um tubo de Loewenstein e inoculada uma cobaia. O exame direto foi positivo para Koch. A cultura

foi negativa. A cobaia inoculada a 12/2 foi sacrificada a 26/4, ou seja no 73.º dia da inoculação, apresentando os gânglios inguinais muito hipertrofiados e duas grandes bolsas de pus caseoso na virilha direita (ponto da inoculação) e na musculatura do abdomen. Fígado de aspecto tuberculoso. Os esfregaços do pus caseoso e dos gânglios revelaram poucos bacilos a.a.r. e os esfregaços das vísceras foram negativos. Semeei 8 tubos de Loewenstein a 26/4 sendo 4 com pus caseoso e 4 com emulsão dos gânglios e do fígado. Vinte dias depois (16/5) sete desses 8 tubos tinham germinado, continuando a crescer até hoje. Cultura N.º 5.

Caso 6. M. P. M., branco, 25 anos, ficha 319 do H.C.C. O exame direto revelou bacilos com os caracteres do de Koch e de Hansen, porem raros. A semeadura em Loewenstein foi negativa. A cobaia inoculada foi sacrificada a 28/4, apresentando gânglios hipertrofiados. Os esfregaços dos gânglios e das vísceras foram negativos.

Caso 7. J. M. S., preto, 59 anos, ficha 282 do H.C.C. O exame microscópico revelou alguns bacilos suspeitos de Koch e um feixe suspeito de Hansen. As semeaduras em 4 tubos de Loewenstein continuam estereis. A cobaia inoculada a 12/2 foi sacrificada a 30/4 apresentando os gânglios inguinais hipertrofiados e com raros bacilos. Os esfregaços das vísceras foram negativos.

Caso 8. P. F. B., preto, 35 anos, ficha 334 do H.C.C. A microscopia revelou abundantes bacilos com os característicos do de Koch e de Hansen. Dos 5 tubos de Loewenstein semeados de 12/2 e 17/2 a 22/3 um apenas apresentava uma colônia esférica, amarelada, que foi transplantada em tubos de Loewenstein. A 5/5 três deles apresentavam várias pequenas colônias, umas pigmentadas outras não. Continuam germinando parcamente. Cultura N.º 8.

Caso 9. E. T. C., branco, 29 anos, ficha 1210 do H.C.C. Microscopia: poucos bacilos a.a.r. incomparáveis. A inoculação em cobaia foi negativa e as semeaduras continuam em observação.

Dos sete escarros positivos três deram culturas ou sejam 43%.

Dos 14 escarros das séries 2.ª e 3.ª sete (50%) foram positivos (Ns. 16, 17, 18, 21, 24, 27 e 29) e até esta data 6 deles já deram culturas puras de bacilos a.a.r. As demais semeaduras continuam na estufa a 37°C e serão desprezadas após 3 meses de observação.

Amostras que deram culturas:

Caso 17. J. S. B., branco, 26 anos, ficha 224 do H.C.C. Exame direto rico em bacilos de Koch e alguns feixes suspeitos de Hansen. Dos

5 tubos de Loewenstein semeados a 22 de abril, quatro apresentavam colônias pequenas e esparsas a 5/5. E' a cultura N.º 17.

A cobaia inoculada com o escarro 17 continua em observação.

Caso 21. M. W., branco, 34 anos, ficha 123 do H.C.C. Exame direto rico em bacilos isolados e em globias. Semeados a 22/4 cinco tubos de Loewenstein germinaram todos. E' a cultura N.º 21.

A cobaia inoculada com o escarro 21 continua em observação.

Caso 22. R. D. M., doente da 1.^a Enfermaria do Hospital Central do Exército. O escarro deste doente, trazido a Manguinhos, pelo Prof. Olympio da Fonseca foi negativo ao exame direto e a cobaia inoculada com ele morreu dentro das primeiras 24 horas. O sedimento semeado no meio de Loewenstein produziu culturas puras de bacilos a.a.r. em 3 tubos, cujas colônias só foram visíveis a 16/5. Cultura N.º 22.

Caso 24. J. R. S. M., ficha 235 do H.C.C. O exame direto revelou poucos bacilos, porem alguns com a morfologia do de Koch e outros de Hansen. A 16 de maio foram semeados 3 tubos de Loewenstein, os quais apresentaram a 10 de junho franca germinação. Cultura N.º 24.

Caso 27. Maria A. F., parda, 16 anos, H.C.C. O seu escarro ao exame direto revelou poucos bacilos suspeitos de Koch. Dos 3 tubos de Loewenstein semeados a 16/5 a 10 de junho, 2 apresentavam colônias isoladas, rugosas, secas e de cor creme. Cultura N.º 27.

Caso 29. A. M., branco, 33 anos, médico (Lepra L3). O exame do seu escarro revelou bacilos típicos de Koch e de Hansen. Dos tubos de Loewenstein semeados a 16/5 no dia 10/6 três tinham germinado.

E' a cultura N.º 29. A cobaia inoculada a 16/5 foi sacrificada a 12/6. Apresentava na virilha direita, na zona da inoculação, um gânglio linfático muito aumentado e caseoso e outros gânglios hipertrofiados. Os esfregaços do nódulo caseoso, do baço e do fígado revelaram alguns poucos bacilos a.a.r. O pus caseoso foi semeado e germinou. Cultura N.º 29.

Em resumo, do total de 29 escarros obtive culturas de 9, ou sejam 31 %! Alem dessas 9 culturas originais já consegui 3 retroculturas.

ESTUDO DAS CULTURAS

Cultura N.º 1. Obtida do escarro N.º 1. Dois dos 4 tubos de Loewenstein semeado a 12 e 17/2, após 20 dias de estufa a 37° C., mostraram pequenas colônias esbranquiçadas, com o aspecto de cabeças de alfinetes.

Com 30 dias a cultura se apresentava como se vê na foto 1 da Estampa 1 : uma camada granulosa ou verrucosa cobrindo toda a superfície do meio, de um branco-pérola *sui generis* e de aspecto seco.

22 de março. No 33.º dia de germinação abrí um dos 2 tubos e fiz um esfregaço que, corado pelo Ziehl-Neelsen, me revelou uma cultura pura de bacilos ácido-álcool resistentes com a morfologia do de Koch.

Com ela repiquei, imediatamente, 3 tubos de Loewenstein, 3 ditos de batata glicerinada e 1 de caldo, também glicerinado. O restante da cultura emulsionei em 6 c.c. de soro fisiológico que inoculei em 3 cobaias e 3 ratos brancos, 1 c.c. em cada, por via sub-cutânea, as cobaias na virilha direita e os ratos na axila do mesmo lado.

1 de abril. Duas das 3 cobaias e 2 dos 3 ratos apresentavam pequenos nódulos palpáveis nos pontos de inoculação. Com emulsão do 2.º tubo dessa cultura reinoculei esses 6 animais, nas mesmas regiões, porém no lado oposto. Com a mesma emulsão semeei 9 tubos de meios glicerinados : batata, agar e caldo, 3 de cada.

8 de abril. Morreu 1 cobaia (16.º dia da 1.ª inoculação) apresentando na virilha direita um enorme gânglio linfático caseoso e na virilha esquerda outro menor além de outros gânglios hipertrofiados.

Os esfregaços do pus caseoso e dos gânglios revelaram abundantes bacilos a.a.r., enquanto que os esfregaços das vísceras foram negativos. Com o pus caseoso semeei 9 tubos de vários meios, exceto o de Loewenstein que não havia na ocasião, tendo permanecido todos estereis.

Diversos órgãos da cobaia foram entregues ao Dr. C. Magarinos Torres para exame histopatológico. O seu protocolo N.º 9762 informa :

“Diversos órgãos da cobaia lote 17, inoculada com cultura de escarro de leproso : Em preparações microscópicas de gânglio linfático e em fragmentos constituídos por tecido conjuntivo e muscular, necrose de caseificação e folículos tuberculosos típicos. Diagnóstico: Tuberculose”. (a) Dr. C. Magarinos Torres.

14 de abril. Morreu a 2.ª cobaia (22.º dia da 1.ª inoculação) apresentando um grande nódulo caseoso na virilha direita. Os esfregaços do pus caseoso revelaram abundantes bacilos a.a.r. isolados e em massas semelhantes às que se veem em material leproso. Os esfregaços das vísceras tinham poucos ou raros bacilos.

18 de abril. A 2.ª geração da cultura apresentava o seguinte aspecto : três tubos de Loewenstein repicados a 22/3 em franca germinação, em dois

sob a forma duma camada granulosa cobrindo a superficie do meio, como a cultura primária e o outro tubo germinando parcamente numa das bordas do meio. Nos 3 tubos de batata repicados a 22/3 houve germinação sob a forma de um induto de areia grossa. No caldo não germinou.

Nos meios glicerinados semeados a 1/4 observei: Exuberante germinação na batata, sem escurecê-la nem turvar a água. Cultura verrucosa, de cor creme-amarelado, abrangendo 2/3 da superficie da batata. Nos 3 tubos de agar a germinação se apresentava sob a forma de pequenas granulações esbranquiçadas, de vários tamanhos. O caldo estava limpido, parecendo não ter germinado.

19 de abril. Sacrifiquei a 3.^a e última cobaia do lote 17 (27.^o dia da 1.^a inoculação) encontrando em cada virilha um nódulo caseoso de 2 cm. de longo. O baço apresentava o aspecto de tuberculose miliar. O esfregaço do pus revelou relativamente poucos bacilos homogêneos e o do fígado raros. As demais vísceras não tinham bacilos.

Com o pus caseoso, colhido com pipeta estirada esterilizada, semeei 5 tubos de Loewenstein fresco. O protocolo 9777 seguinte dá o resultado do exame histopatológico:

“Nódulo da virilha e vísceras da 3.^a cobaia do lote 17:

“As preparações microscópicas, nos diversos órgãos examinados, mostram um processo inflamatório no qual tomam parte células epitelióides, células fusiformes, macrófagos, linfocitos e leucocitos polimorfonucleares. A necrose de caseificação aparece em focos de extensão variavel”. (a) Dr. C. Magarinos Torres.

23 de abril. Sacrifiquei 2 dos 3 ratos inoculados a 22/3 (32.^o dia) com a cultura n. 1. Ambos apresentavam, na axila direita, gânglios linfáticos hipertrofiados e caseosos; ambos positivos para bacilos a.a.r. à microscopia rotineira. O rato I revelou massas de bacilos no baço, abundantes nos gânglios e raros nos pulmões. Com pus caseoso dele semeei 5 tubos de Loewenstein e 3 tubos de meios glicerinados. Os esfregaços do rato II, tanto do pus como do fígado e pulmão, foram positivos. Os órgãos do rato I foram enviados ao Dr. Torres para exame histopatológico. O seu protocolo 9791 informa:

“Diversos órgãos de rato branco inoculado com cultura de bacilo a.a.r. pelo Dr. Souza Araujo:

“Hiperemia e pequenos focos de infiltração por heterófilos (microabcessos), no fígado. Hiperemia dos rins. Hiperemia e he-

morragia da polpa vermelha do baço. Nos pulmões, hiperemia (lesões tuberculoides). A porção central de alguns encerra numerosos heterófilos. Não há necrose de caseificação". (a) Dr. C. Magarinos Torres.

No dia 28 de abril sacrifiquei a cobaia inoculada a 12/2 com o escarro do doente N. R. que deu a cultura n. 1, encontrando lesões típicas de tuberculose, tais como: nódulo caseoso na virilha direita, foco caseoso no testículo direito, gânglios inguinais e axilares muito hipertrofiados e lesões miliares no fígado e baço. Os esfregaços do nódulo caseoso e do testículo foram ricos em bacilos a.a.r. e os do fígado e do baço continham-nos em menor número. Os esfregaços do pulmão e dos gânglios axilares foram negativos. O exame histopatológico deu:

Protocolo 9800. "Diversos órgãos de cobaia inoculada com escarro de leproso a 12/2/41.

"Hemorragias e atelectasia no pulmão. Tuberculose do testículo. Infiltração por histiocitos e células epiteloideas, no fígado. Tuberculose no gânglio linfático". (a) Dr. C. Magarinos Torres.

Esta é a mais cabal confirmação do diagnóstico de tuberculose para a cultura n. 1.

No dia 6 de maio, i.é o 45º dia após a inoculação com a cultura n. 1, sacrificamos o 3.º e último rato do lote 17. O seu aspecto externo e interno parecia normal. Os esfregaços do fígado, baço e rim foram negativos. Apenas encontrei uns poucos bacilos nos pulmões, aliás bacilos com a morfologia do de Koch.

No dia 10 de maio inoculei 2 cobaias e 1 rato com emulsão da cultura n. 1, terceira geração. A 17 de junho morreu uma das cobaias com grande ulceração na virilha direita, ponto da inoculação, e a outra no dia seguinte, 18 de junho, apresentando nódulo caseoso no ponto da inoculação, gânglios hipertrofiados, baço e fígado tuberculosos. Os esfregaços do pus e dos gânglios revelaram poucos e os de baço, fígado e pulmão raros bacilos a.a.r.

Cultura n. 1 "A". Os 4 tubos de Loewenstein semeados a 19 de abril com pus caseoso da cobaia 3 do lote 17 germinaram, apresentando, a 6 de maio, abundantes colônias com os caracteres da cultura n. 1 original. Não houve germinação na batata glicerizada. Na ocasião repiquei 4 tubos de Loewenstein, um de caldo e outro de agar glicerizados.

A 10 de junho os 4 tubos de Loewenstein apresentavam abundante germinação característica, o tubo de agar germinava parcamente e no caldo

havia apenas, no fundo do tubo, algumas colônias granulosas, sem turvação do meio. Das 2 cobaias inoculadas a 10 de maio com esta retrocultura uma morreu 9 dias após, sem lesões, e a outra no 25.º dia (4 de junho), com nódulo caseoso na axila direita, cujo pus se mostrou riquíssimo em bacilos a.a.r., enquanto que os esfregaços do baço e do pulmão eram pobres e foi negativo o do fígado. Os órgãos desta cobaia foram enviados à Secção de Anatomia Patológica para o respectivo exame.

Cultura n. 1 "B". No dia 23 de abril semeei com pus caseoso do rato I do lote 17, morto em consequência da inoculação com a cultura n. 1, 5 tubos de Loewenstein e 3 de meios glicerizados (batata, agar e caldo). No dia 8 de maio os 5 tubos de Loewenstein apresentavam franca germinação de colônias esféricas, disseminadas sobre a superfície do meio, como cabeças de alfinetes, de cor branco-pérola. Os meios glicerizados pareciam estereis e continuam na estufa.

A repicagem, nesse mesmo dia, em 3 tubos de Loewenstein e 4 de agar e caldo glicerizados, foi positiva. A 10 de junho as colônias do Loewenstein tinham o mesmo aspecto da cultura original; o agar apresentava colônias brancas de vários tamanhos, esparsas pelo meio e no fundo dos tubos de caldo já havia algumas colônias globulares, sem turvação do meio. Dos animais inoculados a 10 de maio com esta retrocultura n. 1 "B" (1.ª geração) morreu a 23 de junho uma cobaia com nódulo caseoso no ponto de inoculação, gânglios inguinais e axilares hipertrofiados e diversos microabscessos nas vísceras. Os esfregaços do pus caseoso e dos gânglios mostraram riqueza de bacilos enquanto que estes eram raros no baço, pulmão e rim.

Cultura n. 5. Como referi atrás, a semeadura do sedimento do escarro 5 (de J. S. B.) foi negativa, porem a cobaia inoculada com o mesmo sedimento, a 12 de fevereiro, se infectou e foi sacrificada a 26 de abril (75.º dia da inoculação) apresentando os gânglios inguinais muito hipertrofiados e duas bolsas de pus caseoso de cerca de 2 centímetros de comprimento por um de largo, do lado direito, uma na virilha e outra interessando a musculatura do abdome. Como é a regra nos casos antigos dessa infecção experimental, os esfregaços de pus e dos gânglios eram pobres em bacilos de Koch e os esfregaços das vísceras, inclusive o pâncreas, foram negativos. No mesmo dia 26 de abril semeei 4 tubos de Loewenstein com pus caseoso e outros 4 com emulsão de gânglios e fígado. Vinte dias após os 4 primeiros e 3 dos últimos apresentavam germinação mais ou menos exuberante de colônias com os caracteres das que venho descrevendo.

Cultura n. 8. Do escarro 8 (de P. F. B.), semeado a 17 de fevereiro, obtive a 10 de março germinação num tubo de Loewenstein. Era apenas uma colônia amarelada, do tamanho dum grão de arroz. Após verificar a sua pureza em bacilos a.a.r. repiquei-a em Loewenstein. A germinação da 2.^a geração foi muito lenta e constituída por pequeninas colônias brancas. A 16 de abril, com material colhido no fundo do segundo tubo original repiquei mais 3 tubos de Loewenstein. A 5 de maio fiz novas repicagens. A 10 de junho um dos tubos originais apresentava 2 colônias amareladas no centro do meio, do tamanho de uma lentilha e 2 menores. Dois tubos da 2.^a geração, de 16 de abril, apresentavam colônias esbranquiçadas muito pobres e um tubo da 2.^a geração de 5 de maio com uma colônia lenticular, rasa, amarelada, de aspecto húmido. Esta cultura continua a se desenvolver muito morosamente, em contraste com as outras descritas acima.

Cultura n. 17. A 22 de abril semei o escarro 17 (de J.S.B.) em 5 tubos de Loewenstein, dos quais 4 produziram cultura pura de *Mycobacterium tuberculosis*. A 8 de maio repiquei-a em 4 tubos do mesmo meio e todos germinaram francamente produzindo colônias de cor creme, rugosas.

No dia 10 de maio inoculei emulsão desta cultura em 2 cobaias e 1 rato branco. Nove dias após morreu uma das cobaias, com os gânglios axilares hipertrofiados e caseosos. Achando-me eu no Espírito Santo, em viagem de estudos, o meu auxiliar de laboratório Sr. Moacyr Borchert, tendo verificado riqueza em bacilos a.a.r. no pus caseoso, semeou-o em 4 tubos de Loewenstein, dos quais germinaram dois. A 10 de junho esses 2 tubos apresentavam uma cultura creme, uniforme, sobre toda a superfície do meio, com muitas colônias granulosa, aspecto de areia grossa espalhada sobre uma camada de goma. Esta retrocultura recebeu o n. 17 "A".

A 24 de junho morreu a cobaia inoculada a 22 de abril com o sedimento do escarro 17 (62.^o dia da inoculação). A necrópsia feita a 25 mostrou-nos os gânglios hipertrofiados e caseosos nas duas virilhas e hipertrofia dos gânglios axilares. Os esfregaços do pus caseoso revelaram muitos bacilos enquanto que os esfregaços das vísceras foram pobres. O pus foi semeado em 5 tubos de Loewenstein.

Cultura n. 21. Com o sedimento do escarro 21 (de M.W.) semei 5 tubos de Loewenstein a 22 e 23 de abril. A 8 de maio todos eles estavam germinando satisfatoriamente, apresentando o mesmo aspecto da cultura n. 1. A cultura original com 70 dias se apresentava como uma finíssima camada granulosa, de cor creme, cobrindo toda a superfície do meio. A cultura da 2.^a geração apresentava o aspecto de grãos de areia grossa, amarelada. Um tubo apresentava uma exuberante cultura cobrindo metade

da superfície do meio, saliente, de aspecto rendado e cremoso, semi-húmida, pouco diferente da original. Os meios glicerinados semeados a 8 de maio começam a germinar.

A emulsão da cultura original foi inoculada a 10 de maio em 2 cobaias e 1 rato. Uma das cobaias morreu a 19 de junho com lesões típicas de tuberculose. Os esfregaços dos gânglios são ricos em bacilos, sendo que os do baço e fígado um pouco menos ricos, e havendo poucos bacilos nos esfregaços do pulmão e nada no rim. A emulsão dos gânglios e do fígado foi semeada em 7 tubos de Loewenstein.

A outra cobaia morreu a 24/6 (45.º dia da inoculação) e foi necropsiada a 25. O esfregaço do nódulo caseoso inguinal parecia um esfregaço de leproma de rato inoculado com o bacilo de Stefansky, tal a sua riqueza em feixes. Os esfregaços dos gânglios hipertrofiados são também ricos em bacilos, contendo poucos os do fígado, baço e pulmões e raros os do rim.

Cultura n. 22 — Com sedimento do escarro do soldado R.D.M., do Hospital Central do Exército, semeei a 23/4 cinco tubos de Loewenstein dos quais 3 apresentavam início de cultura a 16/5, quando repiquei mais 3 tubos do mesmo meio. A 10/6 tanto a cultura original como a 2.ª geração de 15 dias apresentavam aspecto idêntico ao da n. 1.

Cultura n. 24 — A semeadura do escarro 24 (de J.R.S.M.) feita a 16/5 em 3 tubos de Loewenstein produziu germinação em todos eles, a 16/6, com aspecto característico. A cultura cobria toda a superfície do meio, era de cor creme e aspecto granuloso.

Cultura n. 27 — Dos 3 tubos de Loewenstein semeados com o escarro 27 a 16/5, a 10/6 havia germinação em dois, os quais apresentavam aspecto diferente das outras culturas, pelo que as fiz fotografar imediatamente. Um dos tubos, com colônias cremes, isoladas, salientes, umbilicadas como as de *M. tuberculosis avium*, segundo a descrição de Stanley Griffith, quebrou-se no atelier fotográfico. Resta-me o outro tubo com duas colônias cremes, rugosas e outra esférica, pigmentada de alaranjado, que estão em estudo.

Cultura n. 29 — Dos escarros semeados a 16/5 o último, n. 29, era de um médico (Dr. A. M.), caso de lepra L3, o qual, após exatamente um ano de regular tratamento antileprótico eclético, apresentava grandes melhoras nas lesões tegumentares, porém, ao contrário do que sói acontecer, emagrecia e estava ficando rouco. Suspeitando de tuberculose, pedi-lhe uma amostra de escarro, cujo exame direto foi positivo para Koch, assim como as lesões que produziu em cobaia, sacrificada a 12/6. A semeadura de 16/5 produziu cultura típica em dois tubos de Loewenstein. Com material da cobaia infectada com o

escarro estou tentando confirmar essas pesquisas. O Dr. A. M. faleceu a 23 do corrente, na Assistência Pública, vitimado por um colapso cardíaco.

Descrevi, sumariamente embora, como convinha a uma NOTA PRÉVIA, nove culturas originais das quais oito características de tuberculose e uma suspeita e três retroculturas similares às originais de que provieram.

E' de notar-se a dissemelhança de todas essas amostras de culturas de *Mycobacterium* com as isoladas de outras espécies de material leproso, das quais algumas tomaram o nome de *Mycobacterium leprae hominis* e outras o de *Mycobacterium leprae muris*.

Da cultura n. 1, logo que verifiquei a sua identidade à do bacilo de Koch, remeti amostras, para estudo, ao *Lister Institute*, de Londres, ao *National Health Institute*, de Washington, à *American Type Cultures Collection*, de Chicago, ao Instituto de Leprologia "Lleras Acosta", de Bogotá e ao Instituto Bacteriológico de Buenos Aires.

Ao meu prezado colega de Manguinhos Dr. Astrogildo Machado forneci amostras de cinco das culturas originais mais bem desenvolvidas para inoculação em coelhos, cobaias e camundongos afim de se verificar se elas são todas, como parecem, da espécie humana, ou se há também algumas da espécie bovina ou aviária.

Seguindo a técnica de J. H. Orr e G. B. Reed, da "Queen's University", de Kingston, Canadá, já iniciei pesquisas para dissociação dessas culturas nos tipos S (smooth) e R (rough) como elas são hoje classificadas. Além desse estudo biológico dos bacilos cultivados, vou prosseguir no estudo experimental sobre o seu poder patogênico para os animais de laboratório.

Os futuros resultados desses estudos serão trazidos ao conhecimento da Academia.

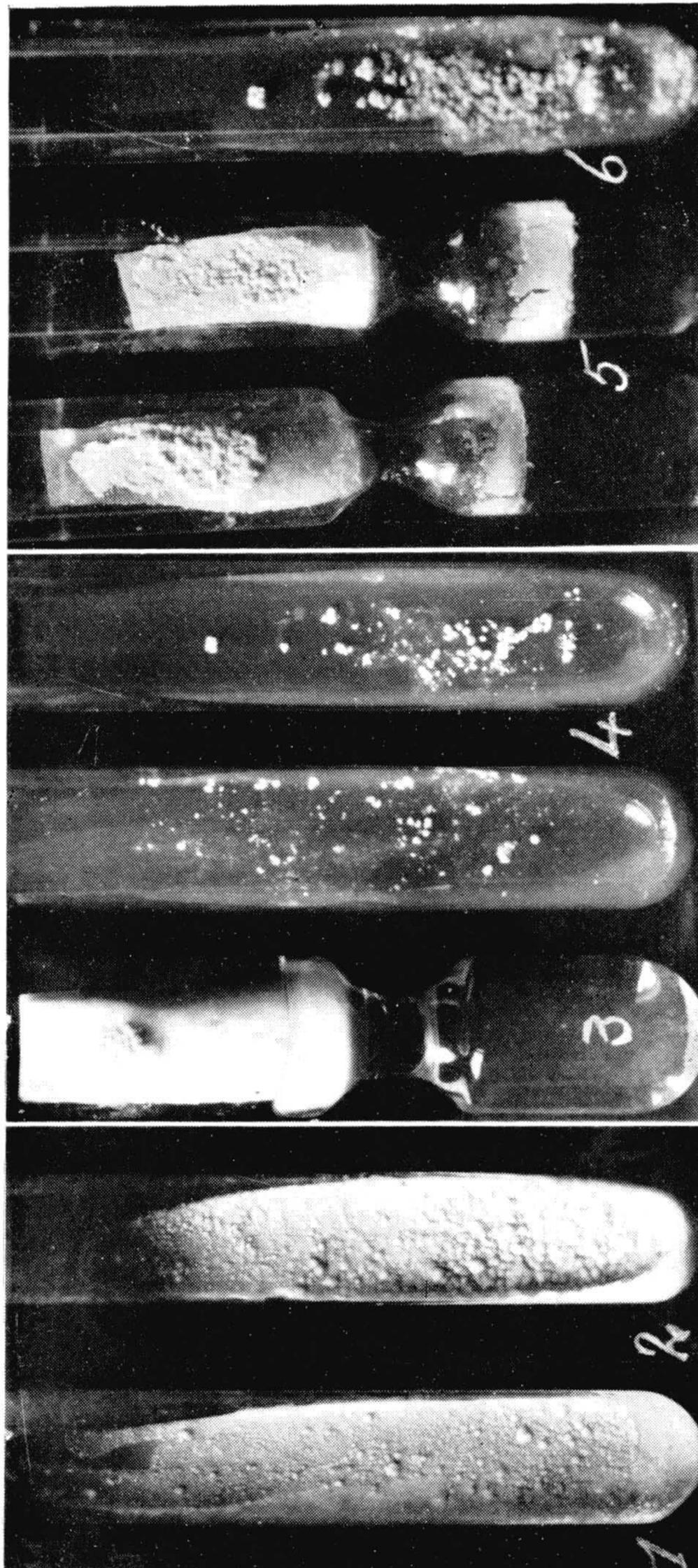
Cumpre-me o prazer de agradecer a valiosa colaboração do meu prezado colega Dr. C. Magarinos Torres, Chefe da Secção de Anatomia Patológica do Instituto Oswaldo Cruz e do meu auxiliar de laboratório Sr. Moacyr Borchert.

Manguinhos, 26/6/1941.

ESTAMPA 1

- Fig. 1 — Cultura n. 1. *Mycobacterium tuberculosis hominis*, tipo eugônico, "R", isolado do escarro do leproso N.R., ficha 20 do Hospital-Colônia de Curupaití. Meio de Loewenstein, idade 30 dias.
- Fig. 2 — A mesma cultura, de 60 dias, no meio de Loewenstein.
- Fig. 3 — A mesma cultura, de 30 dias, em batata glicerinada.
- Fig. 4 — A mesma cultura, de 30 dias, em agar glicerinado.
- Fig. 5 — A mesma cultura, de 60 dias, em batata glicerinada, com véus característicos.
- Fig. 6 — A mesma cultura, de 60 dias, 2.^a geração, em agar glicerinado.

(Fotos de J. Pinto)

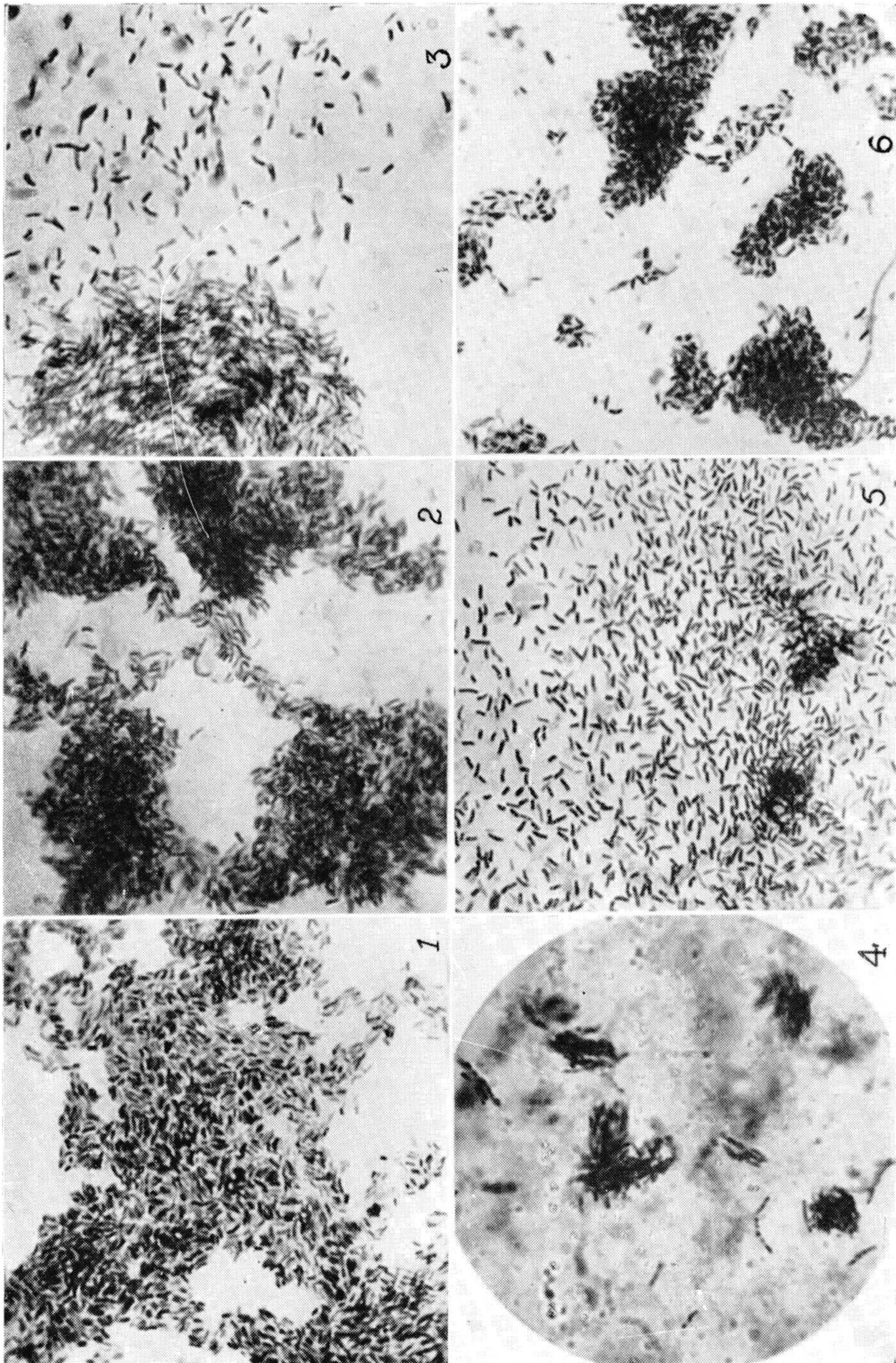


Souza-Araujo : Lepra e Tuberculose

ESTAMPA 2

- Fig. 1 — Esfregaço da cultura N. 1, de 34 dias, em meio de Loewenstein, corado pelo Ziehl-Neelsen. Todos os bacilos fortemente ácido-álcool resistentes.
- Fig. 2 — Esfregaço da cultura N. 1 "A", de 16 dias em meio de Loewenstein, obtida por semeadura de pus caseoso de cobaia (Lote 17) inoculada com a cultura N. 1.
- Fig. 3 — Esfregaço da cultura N. 1 "B", de 13 dias, em meio de Loewenstein, obtida por semeadura de pus caseoso de rato (Lote 17) branco inoculado com a cultura N. 1.
- Fig. 4 — Esfregaço de gânglio caseoso de cobaia (Lote 17) inoculada com a cultura N. 1. O exame histopatológico de órgãos desta cobaia, feito pelo Dr. Torres, provou a presença de lesões tuberculosas típicas.
- Fig. 5 — Esfregaço da Cultura N. 8 (pigmentada de amarelo) isolada do escarro do leproso P.F.B., ficha 334 do Hospital-Colônia de Curupaití. Meio de Loewenstein. idade 30 dias, 2.^a geração. Somente bacilos a.a. resistentes.
- Fig. 6 — Cultura N. 17, de 13 dias, em meio de Loewenstein, isolada do escarro do leproso J.S.B., ficha 224 do Hospital-Colônia de Curupaití. Cultura pura de bacilos ácido-álcool resistentes.

(Microfotos de J. Pinto).



Souza-Araujo : Lepra e Tuberculose