

SOBRE O BACILLO ACIDO-RESISTENTE DOS CADAVERES

ARGEMIRO RODRIGUES DE SOUZA

Dermatologista do Asylo Colona Pirapitinguy

Quando se installou em São Paulo o 2.º Congresso de Leprologia do Departamento de Prophylaxia da Lepra em 22 de outubro ultimo, tivemos o ensejo de trazer ao conhecimento do mesmo, os resultados da pesquisa de bacillos de Hansen em cadaveres exhumados do Asylo-Colonia "Pirapitinguy" e posteriormente do cemiterio da cidade de Sorocaba para fins de controlle. O nosso trabalho tornou-se mais complexo em vista de achados inesperados que vieram- alterar a série de factos e conhecimentos que se succediam de uma maneira ininterrupta á guiza de asserções com caracter empirico de autores estrangeiros como ARNING e SPRECHER. Assim é que aquillo que parecia pertencer a uma certa e determinada ordem de idéias préconcebidas, mudou-se repentinamente extendendo ramificações a campos differentes do nosso, e assumindo proporções inilludiveis de um problema verdadeiramente complexo.

Como veremos detalhadamente em nossas observações, os achados bacillares dos cadaveres de leprosos coincidem ponto por ponto, *mutatis mutandi*, com os dos cadaveres sem lepra e com causa mortis previamente conhecida. Os bacillos de uns são identicos aos de outros, chimica, tinctorial e nrorphologicamente, donde a conclusão tacita e immediata de que se trate de um só e unico bacillo: o bar cillo acido-resistente dos cadaveres. Este não é facultativo nos meios cadavericos e muito pelo contrario rigorosamente encontrado em toda e qualquer pesquisa levada a effeito nesse sentido, em occasiões differentes, em locaes differentes ou com tempo de inhumação difference.

O novo bacillo citado em meia linha por SACQUEPÉE o único tratadista onde foi possivel encontrar essa referencia breve,

apresenta um pleomorphismo que se aproxima mais do bacillo de Hansen do que do de Koch, já considerado isoladamente, já estudando o seu modo de agrupamento. Estes aspectos poderão ser verificados nas preparações que temos a honra de apresentar aos nobres consócios.

Esforçar-nos-emos por tornar o nosso trabalho inconfuso e systematizado, procurando antes de tudo recapitular a questão ainda sob certos aspectos bastante controvertida, dos bacillos acidoalcool-resistentes no organismo humano ou fóra delle e cuja classificação foi realizada magistralmente por PHILIBERT e BEZANÇON.

Estes autores filiam os microbios deste grupo de que o bacillo da tuberculose é o typo principal, aos do genero discomyces. Não são mais bacilos, mas já cogumellos donde o nome de mycobacterium tuberculosis e de mycobacterium lepra dado por certos bacteriologistas aos bacillos da tuberculose e da lepra.

Os bacillos muitas vezes granulosos, são susceptiveis de apresentar as extremidades dilatadas em dava e de se ramificar, caracteres que igualmente encontraremos no mycobacterium por nós estudado. Pelas granulações mais ou menos abundantes e a dilatação em dava das extremidades, o bacillo de Koch se liga ás corynebacterias, aos bacillos diphterico e do mormo.

Uma das propriedades as mais importantes dos microbios deste grupo é a sua reacção tinctorial especial: difficuldade maior de impregnação pelos corantes, resistencia a descoloração pelos acidos mineraes diluidos, uma vez a coloração obtida; não é entretanto um caracter constante da especie; o bacillo de Koch pode em suas fórmãs jovens ou em certas fórmãs acclimatadas em culturas homo-geneas, perder sua acido-resistencia. Não se deve entretanto, exagerar o valor desta a ponto de crér que é por causa de sua estructura especial que o bacillo da tuberculose tem um poder pathogenico particular. Muitos acido-resistentes si bem que tendo a mesma estructura que o bacillo de Koch, não são pathogenicos ou o são differentemente.

O aspecto das culturas, quando esta se processa é commum á todos os acido-resistentes; desenvolvem-se em véu á superficie dos liquidos ou em grumos em seu interior, mas sem se mixturar ao meio. Nos meios solidos dão colonias exteriores ao mesmo, todas de superficie, assemelhando-se a lichens, muito difficeis de dissociar.

Quando pathogenicos produzem todas as mesmas lesões: lesões fibro-caseosas e tuberculos encerrando gigantocytos.

Em consequencia da descoberta por EHRlich da reacção corante toda especial do bacillo de Koch, considerou-se que a mesma

era quasi especifica e que todo bacilo se corando pelo methodo de EHRLICH era um bacillo tuberculoso.

Pouco depois descobriram-se alguns bacilos tendo a mesma reacção corante que o bacillo de Koch, no smegma (ALVARES e TAVEL), no cerumen (BIENSTOK e GOTTSTEIN), mesmo no sangue putrefeito, e em um caso de pseudo-tuberculose pulmonar (ZAHN); mas as condições muito particulares do habitat destes bacillos não infirmavam o valor do diagnostico pratico da reacção corante de EHRLICH. Em 1896 para elucidar a questão da presença do bacillo tuberculoso na manteiga, KOCH e PETRI, inoculando systematicamente diversas amostras de manteiga no peritoneo das cobayas viram desenvolver-se uma peritonite de falsas membranas nas quaes formigavam bacillos que, inteiramente semelhantes aos de Koch por sua morphologia e suas propriedades corantes dellas se distinguiram entretanto pelo facto que vegetam em baixa temperatura sobre meios não glycerinados e que dão sobre estes meios colonias visiveis já ao fim de 24 horas; e emfim inoculados em cobayas não se mostram pathogenicos.

RABINOVITCH, KORN, COGGI, TABLER, BINOT, MARPE, MOELLER e BECK isolaram da manteiga e do leite pelo mesmo processo bacillos analogos aos descobertos por KOCH e PETRI.

Em 1898, MOELLER encontra sobre uma planta dos prados, herva da thimothea, um bacillo acido-resistente que possui, pouco mais ou menos os mesmos caracteres que o bacillo da manteiga de PETRI; o mesmo autor isola outros typos vizinhos sobre os grãos de cereaes, nos celleiros e nas esterqueiras. A partir desta data a attenção foi despertada para a classe numerosa dos acido-resistentes que se encontram tanto na natureza como nos animaes e no homem são e doente. Alguns destes bacillos foram isolados e cultivados; elles apresentam caracteres muito vizinhos e constituem um grupo de bacillos que se podem chamar, tuberculoides: são os bacilos do leite e da manteiga, o bacillo da herva thimothea e do esterco, o do smegma, o de KARLINSKY, o bacillo da amygdala encontrado por BECK e o bacillo da gangrena pulmonar encontrado por RABINOVITCH.

Estes microbios apresentam os seguintes caracteres:

Desenvolvem-se tão bem sobre os meios não glycerinados quanto sobre os meios glycerinados. Sobre meios solidos dão colonias, a principio gordurosas, cremosas, brancas ou amarelladas, que pouco a pouco tornam-se mais seccas e podem ser escamosas como as colonias do bacillo de Koch. Sobre caldo glycerinado, desenvolve-se um véu exuberante, pregueado, mais luxuriante que o fornecido pelo bacillo de Koch. Os bacilos que formam estas co-

lonias têm o mesmo aspecto morphologico do bacillo de Koch; alguns são entretanto menores ou ramificados como este ultimo.

São acido-resistentes e mesmo alcool-resistentes como o bacillo tuberculoso. Inoculados nos animaes estes bacillos são em geral pouco pathogenicos; o bacillo da herva de thimothea, muito bem estudado por BESANÇON e PHILIBERT é entretanto susceptivel quando se inocula em dóse massiça no peritoneo da cobaya, de determinar a morte do animal depois da producção de uma peritonite de falsas membranas. O bacillo de MOELLER foi tornado pathogenico nas mesmas condicções.

Nos dois casos produz-se ao fim da terceira semana uma lesão identica; o figado e o baço são englobados em uma falsa membrana espessa que os mascara quasi completamente; o grande epiplon é séde de espessas falsas membranas e é muitas vezes transformado em uma corda volumosa fibro-caseosa. As lesões são em geral superficiaes, o parenchyma sendo pouco attingido; BINOT e MOELLER, comtudo assignalaram lesões tuberculiformes no figado e no baço; MOELLER mesmo, cellulas gigantes nos nodulos intrapulmonares. BEZANÇON e PHILIBERT observaram o figado crivado de pequenos nodulos semelhantes a tuberculos, mas não tinham a exstructura histologica do folliculo tuberculoso; pareciam antes a pequenos abcessos miliares. KORN com o seu bacillo da manteiga conseguiu tuberculizar não a cobaya mas o coelho, produzindo neste animal um abcesso no ponto de inoculação subcutanea e nodulos no pulmão que evoluiram para a formação de cavernas. Em todas estas lesões acham-se bacilos acido-resistentes em muito maior quantidade que nas lesões produzidas com o bacillo da tuberculose humana. Apezar desta riqueza em bacilos as lesões devidas aos bacillos tuberculoides são pouco virulentas, tendo PHILIBERT com BEZANÇON procurado reinocular em série as lesões produzidas, sem o conseguir.

O parentesco exacto deste grupo de bacilos acido-resistentes com o bacillo de Koch é actualmente muito dif ficil de estabelecer; assim é tambem em relação aos acido-resistentes encontrados no homem doente; bacillo de Ginsberg, Hansen e Stefansky, o primeiro encontrado em uma lesão tuberculiforme do olho.

BEZANÇON procura classificar os bacillos acido resistentes em duas grandes categorias; os bacillos hereditariamente acido-resistentes e os accidentalmente acido-resistentes; os primeiros tambem são denominados, tuberculoides.

Pertencem a esta categoria:

I — Bacillo de tuberculose humana, bovina, aviaria e pisciaria.

II — Bacillos não cultivados; bacillo da lepra, bacilo de Ginsberg, bacillo de Stefansky, bacillo da Verruga do Perú.

III — Bacillos da manteiga: de Petri, Rabinowitch, Korn (I e II), Tobler (I, II, III, IV e V), BENEVENUTI, MARKE, BINOT, AUJESKY, BECK, HERBERT, HERR e BENIND, GRASSI, BERGER, NARPMANN.

IV — Bacillos do leite: MOELLER e CARNEVALI.

V — Bacilos da natureza: Thimothea, bacilo de Moeller, Grass, Bacillus II de Moeller, Mist. Bacillos de Moeller (esterco).

VI — Bacillo da pseudo-tuberculose dos Bovideos de Moeller.

VIII — Bacilos achados no homem: gangrena pulmonar de Rabinowitch, smegma, de Moeller, amygdala, de Beck e o de Mironescu, provavelmente do leite.

Todos estes microbios merecem ser colocados ao lado do bacilo de Koch em vista de suas grandes analogias com elle.

A' segunda categoria pertencem os bacilos chamados pseudo-acido resistentes como o mostra uma analyse precisa de seus caracteres. São os seguintes: bacillo do ubre das vaccas de Cowie, certos bacillos do smegma, o bacillo do cerumen de BIENSTOCK e GOTTSTEIN, os bacilos do tartaro dentario e do enduto da lingua, o bacillo de Stoltz encontrado no meato urethral de uma mulher atacada de pyelonephrite, o bacillo de Dietrich achado num kysto do ovario suppurado e varios outros. Estes bacilos com effeito não teem a propriedade acido-resistente senão nos meios ricos em acidos graxos nos quaes elles permanecem, mas parecem perdei-a desde que se ensaie de cultural-os. Não são os verdadeiros acido-resistentes, da manteiga, leite, herva da thimothea. bacillos que sempre em suas transplantações successivas, conservam sua propriedade acido-resistente, que é para elles um caracter de especie, mas antes bacillos que emprestam accidentalmente a propriedade acido resistente ás condicções do meio nos quaes teem permanecido; alem disso não resistem por muito tempo á descoloração pelos acidos e não são alcool-resistentes como o bacillo de Koch e os verdadeiros acido-resistentes.

A acquisição momentanea da propriedade acido-resistente de certos microbios foi demonstrada experimentalmente por BIENSTOCK que cultivou o Bacillus anthracis e o B. subtilis sobre meios adicionados de manteiga e conseguiu transferir-lhe transitoriamente a propriedade acido-resistente: RAMOND e RAVAUT obtiveram o mesmo resultado com o bacillo de EBERTH. Finalmente PHILIBERT e BEZANÇON conseguiram transformar o bacillo do carbunculo em acido-resistente empregando meios adicionados de manteiga ou lanolina; esta propriedade desaparecia nas repicagens.

O schema seguinte, organizado por BESANÇON nos fornece os caracteres distinctivos entre os bacillos hereditariamente acido-resistentes ou tuberculoideos e os accidentalmente acido-resistentes ou pseudo-acido-resistentes.

— — o — —

Bacillos tuberculosos e tuberculoideos:

- 1.º — Coram-se em vermelho pelo methodo de Gabbet.
- 2.º — Resistem á acção descorante da solução aquosa saturada de acido tartarico agindo durante 10 minutos.
- 3.º — Resistem á acção descorante rapida do acido nítrico ao 1|3.
- 4.º — Resistem á acção descorante prolongada do acido nitrico ao 1|3 pelo menos 2 minutos.
- 5.º — Resistem á acção descorante do alcool pelo menos uma hora.
- 6.º — Não se córa pelo azul de Unna agindo 10 minutos.

— — o — —

Bacillos accidentalmente acido-resistentes.

- 1.º — Coram-se em vermelho pelo methodo de Gabbet; alguns elementos tomam o azul.
- 2.º — Resistem á acção descorante da solução aquosa saturada de acido tartarico agindo durante 10 minutos.
- 3.º — Resistem á acção descorante rapida do acido nitrico ao 1|3.
- 4.º — Não resistem á acção descorante prolongada do acido nitrico ao 1|3, no maxima 2 minutos.
- 5.º — Não resistem á acção descorante do alcool no maximo de 5 a 10 minutos.
- 6.º — Coram-se pelo azul de Unna agindo 10 minutos.

Torna-se necessario por consequente destacar do grupo dos bacillos acido-resistentes uma outra categoria de bacillos que não teem senão as apparencias da propriedade acido-resistente que a devem somente ao meio no qual elles permanecem. E' evidente que estes bacillos, vivendo em um meio encerrando corpos graxas e não sendo alcool-resistentes, são importantes de conhecer em vista dos erros que poderão ser commettidos no diagnostico do bacillo de Koch.

O bacillo acido-resistente dos cadaveres humanos, como veremos pelas nossas observações, apresentam todos os caracteristicos

de um verdadeiro acido-resistente podendo ser classificado entre os bacillos tuberculoides ou melhor hereditariamente acido-resistentes si bem que não tenhamos ainda em mãos os resultados das inoculações e tentativas de culturas já iniciadas; o mesmo bacillo enquadra-se perfeitamente com o primeiro esquema de BEZANÇON, isto é:

1.° — Cora-se em vermelho pelo methodo de Gabbet.

2.° — Resiste á acção descorante da solução aquosa saturada de acido tartarico agindo durante 10 minutos.

3.° — Resiste á acção descorante rapida do acido nitrico ao 1|3.

4.° — Resiste á acção descorante prolongada do acido nitrico ao 1|3, isto é 10 minutos.

5.° — Resiste á acção descorante do alcool durante uma hora.

6.° — Não se córa pelo azul de Unna agindo durante 10 minutos.

Algumas das nossas preparações antes de soffrerem coloração pelo Ziehl, foram lavadas com alcool absoluto ou ether e como verificamos facilmente os bacillos conservaram sempre sua faculdade acido-resistente. MARCHOUX e HOLPHEN empregaram este processo para o seu mycobacterium putricolens o qual perdia a propriedade acido-resistente.

Este caracter é importante para a distincção de certos acido-resistentes morphologicamente identicos não obstante suas origens differentes.

O bacillo por nós estudado é portanto rigorosamente acido-alcool-resistente; conserva sempre suas propriedades tinctoriaes typicas após descoloração acida por mais de 10 minutos e descoloração alcoolica por mais de uma hora.

Relataremos agora as nossas observações a principio realizadas no Asylo-Colonia "Pirapitinguy", servindo-nos do seu cemiterio particular onde 6 cadaveres de idades differentes foram exhumados para o fim que collimamos.

— — o — —

OBSERVAÇÕES CADAVERES LEPROSOS

N.° 1 — R. F., 50 anos, feminino, brasileira, parda, viuva, domestica, internada em 3-6-1932. Apresentava 4 maculas achromicas no abdomen, 2 no rosto e uma bem grande na espadim direita. Anesthesia thermica nos cotovellos e nas plantas. Inicio de mal perfurante nos pés. Perturbações trophicas das unhas. Elastoma diffuso da face. Forma clinica: Maculo-anesthetica NI. Muco nasal: 4684 |— —|. Fallecimento: 3-2-935. Causa mortis: Cancer do estomago. Exumação: 21-9-1936. Resta somente o esqueleto. Nota-se sobre os ossos uma camada escura semi-solida ou pastosa como reliquat das partes molles. Este

material foi retirado para exame. Laminas: 6379 + 6380 Riquíssima, 6381, 6382, 6383, 6384, 6385 e 6386 Ricas. Observa-se em todas ellas que foram coradas pelo Ziehl-Neelsen o mesmo polymorphismo do bacillo leproso, isto é: bacilos longos, curtos, granuloses formas em massas de cigarros, agglomerados de granulações fuchsinophilas e granulações esparsas.

N.º 2 — F. L. S., 64 annos, branco, brasileiro, casado, lavrador, internado em 21-10-1934. Apresentava as seguintes lesões: atrophia accentuada de todos os musculos das mãos com garra cubital bilateral, artelhos atrophiadados e mutiladas com alterações trophicas das unhas. Dois males perfurantes extensos do pé direito e cicatrizes dos mesmos no esquerdo. Anesthesia thermica e dolorosa nos antebraços, mãos, pernas e pés. Anesthesia tactil nas mãos e pés. Cubitae espessados e dolorosos. Forma clinica: Nervosa pura, N3. Muco nasal: 4343 |— —|. Fallecimento em 23-1-1935. Causa mortis: Cachexia leprotica. Exhumação em 4-9-1936. Nota-se sómente o esqueleto. Foi retirado material de varios pontos do mesmo e espalhado em laminas: 5383, 5384, 5385 e 5386, coradas, pelo Ziehl apresentavam sempre abundantemente, badllos acido-resistentes esparsos ou agglomerados, simples ou granuloses, agglomerados de granulações etc. Uma das laminas, 5387 foi corada pelo processo de Unna mostrando-nos nitidamente bacillos corados em azul e bacillos corados em amarello ou matron indifferentemente. Segundo o processo de Unna encontrámos nos preparações bacillos vivos e bacillos mortos. Nas laminas coradas pelo Ziehl, deparámos tambem com granulações cyanopbilas dentro do corpo bacillar, no centro ou extremidades.

N.º 3 — J. P., 45 annos, brasileiro, branco, casado, lavrador, internado em 16-5-1932. Fades leonino, nodulos subdermicos e hypodermicos no rosto e orelhas. Alopecia superciliar. Hypertrophia mamillar. Nodulos eruptivos no tronco e membros superiores. Tuberculos e infiltrações diffusas nas nadegas. Nodulos eruptivos nas pernas. Amyotrophia interossea e hypothernar com esboço de garra cubital bilateral. Anesthesia thermica nos membros superiores e inferiores. Forma clinica: Mixta, C3 N3. M. N. 991 + +. Fallecimento em 22-2-1935. Causa mortis: Cachexia. Exhumação: 31-8-936. Resta somente o esqueleto. O material que serviu para exame foi retirado de sobre os ossos em diversos pontos e apresentava-se sempre com o mesmo aspecto, isto é, escuro, semi-solido indicando a phase ultima da decomposição cadaverica. Laminas: 5361, 5362 e 5364 + + +; 5365 Muito rica: 5366 Corada pelo processo de T. e Aoki, notavam-se indistinctamente bacillos corados em azul e bacillos corados em vermelho, isto é, bacillos mortos e bacillos vivos.

N.º 4 — F. D., 58 annos, viuva, branca, brasileira, domestica, internada em 31-1-1932. Infiltração diffusa do rosto, fronte, alopecia superciliar. Amyotrophia hypothernar, cubitae dolorosos. Nodulos hypodermicos nas pernas. Ulcerações nos pés e terço inferior das pernas. Tuberculos nas coxas e nadegas. Infiltrações pigmentadas diffusas no tronco e membros superiores. Alguns nodulos eruptivos esparsos. Forma clinica: Mixta, C3 N2. M. N. + +. Fallecimento em 18-8-1934. Causa mortis: Cachexia leprotica. Exhumação em 31-8-1936, portanto dois annos depois. Esqueleto residual; camada escura semi-pulverulenta cobrindo os ossos. Em certos pontos, adipocera. Laminas: 5367, 5368, 5370, 5371, 5372 retiradas de pontos differentes isto é, cabeça, membros superiores e inferiores. Resultado + + +. Bacillos acido-resistentes isolados ou agglomerados, granuloses ou lisos muito bem corados. Pelo processo de Unna bacillos em azul e bacilos em amarello.

N.º 5 — B. L., 40 anos, branco, solteiro, brasileiro, lavrador, internado em 19-1-1932. Facies leonino, tuberculos nas orelhas, tronco e membros. Amyotrophia interossea e hypothernar. Cubital direito espessado e doloroso. Infiltrações diffusas do tronco e antebraços. Males perfurantes plantares. Esboço de

garra cubital bilateral. Anesthesia thermica nos cotovellos, antebraços, mãos, joelhos, pernas e pés. Forma clinica: Mixta C3 N2. M. N. +. Fallecimento em 3-2-1932. Causa mortis: Cachexia leprotica. Exhumação: 11-9-1936 ou 4 annos e meio depois. Substancia pulverulenta de coloração escura ou marron cobrindo os ossos. Laminas: 6248, 6250, 6306, 6307 e 6309. Ricas, de acido-resistentes muito bem corados, alguns isolados outros em grupos, granulações numerosas e bacillos granuloso. A lamina 6302 foi corada pelo processo de Unna revelando-nos a presença de bacillos corados em azul e corados em amarelo. A lamina 6305, corada pelo processo de Aoki mostrou-nos badillos corados em azul e em vermelho vivo em grande quantidade.

N.º 6 — A. B. C., 48 annos, branco, brasileiro, lavrador, casado. Internado em 30-8-1934. Facies leonino. Tuberculos e infiltrações diffusas das orelhas, faces e fronte. Laryngite leprotica. Reacção chronica caracterizada por nodulos eruptivos nos antebraços, mãos, pernas e tronco. Tuberculos nas mãos e nodulos hypodermicos nas pernas. Amyotrophia interossea e hypothenar. Anesthesia thermica dos antebraços, mãos, pernas e pés. Cubitae dolorosos. Auricular direito espessado. Forma clinica: C3 N2. Muco nasal + + +. Fallecimento em 8-8-1935. Causa mortis: Cachexia leprotica. Exhumação em 27-8-1936, portando um armo depois. Restam do cadaver só os ossos que apresentam em sua superficie uma camada escura, semi-molle que foi retirada para exame. Aqui e alli, adipocera. Osteolyse das extremidades digitaes. Laminas: 5351, 5352, 5353, 5354, 5355, 5356, 5357 e 5358: Riqueza de bacillos acido-alcool-resistentes, muito bem corados, isolados ou conglomerados, lisos ou granuloso, agglomerados de granulações ou granulações isoladas, fuchsinophilas ou cyanophilas.

CADAVERES NÃO LEPROSOS

N.º 7 — B. F., fallecido de edema do pulmão em 10-11-1932. Exhumação em 5-10-1936. Restam somente os ossos que se acham cobertos em certos pontos por camada escura mais solida ás vezes pulverulenta. Laminas: X. 1, X. 2, X. 3, X. 4 e X. 5 + + + e ricas. Notam-se nestas laminas os mesmos caracteres morphologicos dos bacilos dos cadaveres leproso; isolados, agglomerados ou em grupos. Campos microscopicos sempre muito ricas. Laminas: 4214, 4238, 3547, 4243 e 4244: bacillos esparso agglomerados, bacillos com granulações cyanophilas nas extremidades em forma de dava.

N.º 8 — Sepultura 27. Causa mortis: infecção puerperal em 8-10-1936. Laminas: 4213, 4212 e 4245. Ricas. Bacillos com o mesmo polymorphismo do da lepra ou da tuberculose. Laminas coradas pela dupla coloração de Unna revelaram a presença de microbios corados em azul, e microbios corados em marron, isto é, (segundo Unna) bacillos vivos ou mortos. Formas anacido-resistentes filamentosas.

N.º 9 — Sepultura 28. Fallecido sem assistencia medica. Exhumação em 8-10-1936. Laminas: 4201, 3518 e E.52. Ricas. Identicos achados microscopicos. Algumas destas laminas foram lavadas em ether antes da coloração sem resultado, isto é os bacillos mostravam-se sempre em abundnda, isolados ou em grupos.

N.º 10 — Sepultura 29. Causa mortis: insuficiencia cardiaca. Exhumação em 8-10-1936. Laminas: 5769 e 4241 + +. Convém fazer salientar que estes cadaveres foram examinados com 3 annos e 10 mezes, no minimo, de inhumação, no Cemiterio Municipal da cidade de Sorocaba.

N.º 11 — Sepultura 30. Causa mortis: Pneumonia. Exhumação em 8-10-1936. Laminas: 4202, 4210 e 4205. Todas estas, descoradas pelo acido nitrico durante 10 minutos e pelo alcool absoluto uma hora: bacillos esparso, granuloso e agglomerados.

N.º 12 — Sepultura 35. Causa mortis: Colapso cardíaco. Exhumação em 8-10-1936. Laminas: 4211 e 4239 + +. Mesmos achados microscopicos.

N.º 13 — Sepultura 37. Causa mortis: Sclerose cardio-renal. Exhumação em 8-10-1936. Laminas: E. 53, 4224 e 32: bacillos esparsos, alguns curtos outros longos, granações e agglomerados de bacillos ou de granações.

N.º 14 — Sepultura 38. Causa mortis: Tuberculose pulmonar. Exhumação em 15-10-1936. Laminas: 5799, 5795 e 5797: granações, bacillos esparsos, agglomerados badllares ou de granações. Não se distinguem se são bacillos de tuberculose ou outros acido-resistentes; a morphologia é perfeitamente identica á dos outros.

N.º 15 — Sepultura 40. Causa mortis: Edema agudo do pulmão. Exhumação em 15-10-1936. Laminas: 5789, 5791 e 5786: Riquissimas. Pelo processo de Duna, a maior parte dos bacillos tomou a coloração azul (vivos?).

N.º 16 — Sepultura 41. Causa mortis: Senilidade. Exhumação em 15-10-1936. Laminas: 5783, 5784, 5787: Bacillos acido-resistentes esparsos, alguns agrupamentos, raras granações fuchsinophilas.

N.º 17 — Sepultura 42. Causa mortis: hypertrophia da prostáta. Exhumação em 15-10-936. Lams. 5778 e 5779: Bacillos acido-resistentes esparsos, granações, formas anacido-resistentes.

N.º 18 — Sepultura 43, (8 annos de inhumação). Causa mortis: Sclerose cardio-renal. Exhumação em 15-10-936. Lams. 5775. Agrupamentos de bacillos acido-resistentes, granações, (rica) +++ . 5769, 5776 mesma disposição.

N.º 19 — Sepultura 34 (criança de 5 annos). Causa mortis: Dysenteria badllar. Exhumação em 15-10-936. Lams: 5766, 5767, 5762 e 5772: Badllos esparsos numerosos, alguns agrupamentos ++.

CADAVERES DE CÃES

Foram examinados 2 cadaveres de cães com 6 mezes de inhumação e mortos a tiros pelos guardas do A. C. "Pirapitinguy". Identicos achados bacillares.

— — o — —

Um apanhado retrospectivo sobre o que foi realizado até este ponto induz-nos a crer, pela riqueza dos achados bacillares cadavericos ao lado de sua identidade morphologica e tinctorial, que se trate de um unico bacillo, commum a todos os cadaveres inhumados quer sejam de leprosos ou tuberculosos, quer sejam de outras molestias ordinariamente cathalogadas. Tornou-se absolutamente impossivel, pelo menos para nós, estabelecer differenças entre os bacillos dos cadaveres leprosos e os bacillos de outros cadaveres humanos ou dos cães; os achados confundem-se em toda sua complexidade.

Convem fazer salientar que evitávamos na colheita do material para exame, a contaminação do mesmo pela terra circumjacente o que poderia difficilmente se verificar notadamente no Cemiterio do Asylo-Colonia "Pirapitinguy" onde os cadaveres ficavam abrigados pela longa conservação dos seus continentes. Encarece-se a importancia deste facto, pela razão de que foram des-

criptas duas especies de bacilos acido-resistentes: *Mycobacterium alluvialum* e *Mycobacterium coeliacum*, o primeiro por KERSTON e o segundo por GRAY e THORNTON e, que tem o seu habitat no solo, não são pathogenicos, e possuem a propriedade de se cultivar com facilidade.

Em nossas pesquisas, adoptámos tambem o processo de UNNA com o fito de saber si os acido-resistentes dos cadaveres eram vivos ou mortos. Como se sabe, Unna procurou pôr em evidencia a morte dos bacillos de Hansen no organismo pela dupla coloração victoria-blau-safranina e pode verificar ao lado das modificações clinicas, modificações graduas na coloração dos bacillos de Hansen que quando mortos tomavam a coloração amarellada e quando vivos tomavam a coloração azul.

De nossa parte corámos innumeradas laminas pelo processo de Unna e constatámos sempre que os bacillos se impregnavam indifferentemente da côr azul e da côr amarellada.

Processo de Unna: 1.º — Victoria blau, uma noite, lavar. 2.º — Acido nitrico a 30%, 5 segundos — 3. Alcool absoluto até que da preparação não se desprenda mais materia corante. — 4.º Safraninã a 1 por 100, dez minutos, lavar. — 5.º Acido nitrico a 30%. 5 segundos. — 6.º Alcool absoluto.

T. e AOKI usaram de uma dupla coloração erythrosina — azul de methyleno, para distinguirem os bacillos vivos dos mortos. Seu processo é o seguinte: 1º Frottis delgado e fixado ao ar. — 2º Solução de erythrosina durante 5 minutos a 80% (erythrosina, 1,0 — acido picrico, 0,15, agua distillada 100). Cuidadosa lavagem em agua. — 3.º Mergulhar durante um minuto os frottis em solução de potassa caustica (potassa 5,0, alcool absoluto 30,0, agua distillada 70,0). Lavagem em agua. — 4º Corar um minuto na solução seguinte: potassa caustica 1,0, solução alcoolica saturada de azul de methyleno 15,0, agua distillada 100. Os bacillos mortos se coram em azul violeta, os bacillos vivos em vermelho carregado. Lançamos mão deste processo tambem e verificámos que os bacillos se mostravam indifferentemente corados em azul e corados em vermelho.

Por estes dois processos e a julgar pelas afirmações de seus autores, nas nossas preparações havia tanto bacillos mortos como vivos.

Mas para se aquilatar da agressividade morbida de um germen, e isto é principio estabelecido em bacteriologia, torna-se indispensavel realizar a sua cultura e inoculação sem o que nada se pode afirmar de positivo e real, podendo qualquer processo bio-chimico soffrer contestação inargumentavel. O bacilo acido-resistente dos cadaveres está sendo presentemente objecto de estudos nesse particu-

lar compondo-se de tentativas de culturas e de inoculações em cobayas. As primeiras estão sendo feitas pelo Dr. José Toledo Mello assistente de Microbiologia da Faculdade de Medicina, que de bom grado collabora comnosco nesse mister.

A' maneira do que se procede com toda bacteria fizemos varias colorações pelo Gram, chegando a conclusão, aliás de acordo com a regra geral de que o acido-resistente dos cadaveres não toma o Gram.

RAVELLAT-PLA, de Barcelona, tem descripto, corroborando as conclusões de ALMEIDA MAGALHÃES e de FONTES a respeito do polymorphismo do bacillo da tuberculose, fôrmas anacido-resistentes filamentosas, intermediarias entre as fôrmas coccoides (bacteria de ataque) e as fôrmas verdadeiramente acido-resistentes; as taes formas filamentosas, actinomycoides são reveladas igualmente entre os acido-resistentes dos cadaveres, formando amontoados de filamentos corados em azul, compactos ou fragmentados, curvos, rectos ou entrelaçados. Os fragmentos dão-nos a impressão de granulações cyanophilas. Estas aliás são encontradiças no acido-resistente quer numa das extremidades, ou quer exactamente no centro do corpo bacillar imitando a localização esporular do bacillo do carbunculo.

Relembrando os factos e acquisições mais recentes sobre a natureza exacta da numerosa classe dos acido-resistentes e, seguindo o criterio lucido de BEZANÇON nos ensaios de classificação destes, poderemos incluir as bacterias que acabamos de estudar no subgrupo dos acido-resistentes tuberculoides ao lado dos bacillos da tuberculose, lepra (humana e dos ratos) da verruga do Perú, etc. cuja enumeração já foi feita a priori.

Como vimos os bacillos acido-resistentes que não os da lepra ou tuberculose tambem são susceptiveis de formarem pequenos ou grandes agglomerados muito semelhantes aos agrupamentos do bacillo de Hansen o que poderia induzir os espiritos menos avisados, a erros clinicos de consequencias muitas vezes funestas; e isto se explica pois o acido-resistente banal pode desenvolver-se em região seborrheica de sua predilecção que lhe offrece um optimo meio de cultura e ahi ser encontrado em pequenos ou grandes agrupamentos, e ser facilmente tomado pelo bacillo de Hansen.

Não existe, apoiado no estudo consciencioso de nossas preparações um character distintivo entre os bacillos encontrados nos cadaveres leprosos e os encontrados nos cadaveres não leprosos e de cães; são rigorosamente identicos, observando a mesma disposição que o bacillo da lepra humana, isto é, em agrupamentos mais ou menos semelhantes "às globias" de Neisser ou feixes, como mas-

sos de cigarros. Aliás os bacillos da tuberculose quando em culturas podem occasionalmente affectar esta mesma disposição. Trata-se por consequente de uma bacteria pertencente á flora cadaverica proliferando alli onde o meio é propicio isto é cheio de acidos graxos. No Asylo-Colonia "Pirapitinguy", os bacillos de Hansen ou sobreviveram e se confundiram com os outros acido-resistentes seus irmãos, nos meios cadavericos ou foram histolysados pela decomposição cadaverica; não obstante a primeira hypothese é a mais aceitavel porque como já fizemos salientar em trabalho anterior, a resistencia do bacillo de Hansen no meio exterior é fóra de duvida, permanecendo com os mesmos caracteres clinicos e morphologicos ao nivel do sólo, nos exgottos e fôssas congeneres, e principalmente na agua; não se pode conceber que um seu semelhante e irmão como é o acido-resistente do cadaver vá procurar para si um meio de cultura que se comporta antitheticamente como verdadeiro destruidor do bacillo de Hansen. Dada a sua grande resistencia, sem faltar em vitalidade, é possivel que sobreexista á decomposição cadaverica, confundindo-se, quem sabe, com seus irmãos de resistencia.

RAVELLAT-PLAT, continuando a senda aberta por CARDOSO FONTES em um de seus ultimos estudos, após tecer considerações em torno do polymorfismo do germen da tuberculose dividindo-o em 3 phases diferentes sob o ponto de vista morphologico e clinico, acha que o classico bacillo de Koch é uma fórmula de resistencia do virus tuberculoso pois, bio-pathogenicamente se comporta como os esporos; conserva sua vitalidade e virulencia durante muito tempo; permanece no organismo em estado de latencia absoluta; reproduz-se passando pelas fórmulas anacido-resistentes e condicções de ataque etc. O bacillo de Koch é a bacteria que em condicções desfavoraveis, sitiada nos accumulos cellulares inflammatorios, adopta a forma de maxima resistencia; encontra-se-o preferentemente nos tuberculos. Dahi a idéia de se pensar em uma fórmula de resistencia tambem para o germen da lepra que segundo outros autores passaria por uma phase saprophyta antes de se tornar pathogenico para o homem.

Em 1926, ALEXIS WLADIMIROFF, Director do Instituto de Medicina Experimental de Leningrado, affirmou ter a convicção de que o bacillo da Lepra apresenta uma phase pathogenica de um cogumelo saprophyta, existente na terra e nas habitações. Em 1929, E. L. WALKER (journ. Prey. Medic., vol. 3, 1929, pag. 167) , após ter estudado bacteriologicamente material de mais de 600 leprosos do Hawaii e depois de ter isolado varias amostras de actynomyces, concluiu que o bacillo de Hansen existente nas lesões leprosas é provavelmente a phase tissular desse microorganismo pleomorphyco e acido-resistente facultativo. Diz que os ger-

mens cultivaveis da lepra são actynomyces e que o "Actynomyces da lepra" como os outros actynomyces pathogenicos é um organismo originario do sólo, adquirida por contaminação de feridas, e o contagio de homem a homem seria o modo secundario de disseminação da doença.

Em 1928, SOUZA ARAÚJO, isolou de material leproso do homem, um actynomyces a que denominou Actynomyces Lepromatis: com a cultura de Kedrowsky, esta tambem produziu em meios especiaes, fôrmas bacillares, acido-alcool-resistentes. (Memorias Inst. Osw. Cruz. Tomo 22, 1929).

Assim tambem, á semelhança dos bacillos da lepra e da tuberculose com os quaes se confunde clinica e morphologicamente, o acido resistente dos cadaveres não passa de uma mycobacteria, já pela sua maneira de divisão, já pelas suas esferas terminaes. Concatenando paciente e exhaustivamente os factos, muitas vezes somos impellidos passivamente diante da classe cada vez mais numerosa e emaranhada dos bacillos acido-resistentes á conjecturas desapaixonadas e fugazes sobre o saprophytismo do bacillo de Hansen o qual em certas e determinadas condições poderia tornar-se pathogenico para o homem ao variar de meio como já o affirmaram WALKER e WLADIMIROFF. O bacillo de Hansen desenvolver-se-ia alli, onde existisse um meio de cultura composto de exotoxinas ou productos extranhos provenientes da histolyse provocada por bacteria cuja natureza ainda é desconhecida mas que se concebe ser um virus filtravel, desde as memoraveis experiencias de MARKIANOS levadas a effeito no Laboratorio de Marchoux sobre a lepra dos ratos. Em 1932, SEZARY e VAUDREMER trituraram leproma humano em filtrado aspergillar e filtraram em vela L. 3. Este filtrado semeado em caldo de batatas, produziu após nove mezes de incubação, formas pseudo-meningococcicas que repicadas noutros meios passavam para a phase acido-resistente. MOACYR SOUZA LIMA, reproduziu, brilhantemente, no Instituto Conde Lara as culturas de Vaudremer.

MANALANG, do Hospital São Lazaro de Manilha, estabeleceu ultimamente, em trabalho que produziu forte celeuma nos meios scientificos, uma relação entre os diferentes estadios do virus leproso e distinctas etapas da doença. Segundo esse autor, as lesões precoces seriam determinadas pelo ultra-virus; surgiriam mais tarde as fôrmas granulares acido-resistentes com a formação do tecido fibroso; o progresso desta formação histo-pathologica estaria em relação com as formas typicas acido-resistentes que attrahiriam as cellulas de Virchow,enchendo os espaços deixados pelas ramificações fibrosas do tecido conjunctivo. Acha ainda que a etapa anacido-resistente é a mais virulenta e causadora da infecção le-

protica, ao passo que a etapa acido-resistente é saprophytica e inactiva; esta afirmação vale por uma orientação prophylactica e therapeutica completamente diversa da actualmente seguida. O bacillo acido-resistente seria pois para MANALANG, não a causa da lepra, porém apenas um "symptoma" microscopico da doença e, para certas formas mesmo symptomas dos mais inconstantes.

Estas idéias avançadas de MANALANG teem revolucionado os estudos sobre lepra, devendo não obstante serem acceptas com uma certa reserva.

Sem intuitos doutrinaris e longe de nós tal pensamento, desde o momento em que nos propuzémos estudar o tão controvertido assumpto dos acido-resistentes na natureza e o encontrámos tão numerosos e morphologicamente identicos aos de Hansen e de Koch, é que se nos afigura o problema da etiologia da lepra sob um novo e interessante aspecto, mais complexo, mais cheio de escolhos, mórmente havendo lido e conjecturado sobre as idéias de MANA-LANG, WLADIMIROFF e WALKER. Realmente, a abundancia dos bacillos acido-resistentes nos cadaveres lança-nos em duvida que, não tóma corpo, mas quiçá irá tornar menos poderoso o nó gordio constituído por certos problemas que até o momento permanecem insoluveis, desafiando a argucia de todos aquelles que perseverantemente se lançaram em uma trilha cheia de obices antes de attingirem a realidade dos factos para o bem individual, collectivo e ethnico.

RESUME'

L'auteur a fait des recherches de bacilles acido-résistants dans 19 cadavres humalnes exhumés, des quels 6 de lepreux, et 11 a rencontré toujours grand quantité de batonnets acide-alcool-resistants avec un polymorphisme entièrement identique au du bacille de Hansen et de Koch: badlles longs, granuleux, agglomerés plus ou motas grands, granulations fuchsinophiles ou cyanophiles isoles et au dedans du corps badllaire, des formes filamenteuses entrelacées anacido-resistants. Il falt rejaillir Is fait de ces bacilles s'agglomerer dans grands groupes sem blables aux constctués pour is bacille de la lépre. Les cadavres avaient de 1 jusqu' á 431 années de inhumation; le material par examen etalt retire de sur les os et colore par le Ziehi-Neelssen. 11 n'a pas su dire si les badlles des cadavres lepreux etaient de Hansen ou simplement acide-reslstants de la flore cadaverique, puis on confondaient facilement avec les d'ailleurs cadavres. Par dernier it a exhume 2 cadavres de chiens dont materlax ont présenté les memes aspects bacterloscopiques. Leur études poursuivent pour tentatives de culture et de inoculations qui est effectuant. 11 cite les theories de MANALANG, WLADINIROFF et WALKER sur le saprophytisme du badale de Hansen et it demande si celuici n'on pas developrait lá où existalent produits derives de l'action d'autres batteries sur les tissus vives ou morts.

SUMMARY

The autor did researchs of acid-fast bacillus in 19 human exhumed corpses of with of lepers and founds always great quantity of add-fast bacterias with a polymorphism entirely identic to the Hansen and Koch's bacteria: short bacterias, long, grained, more or less great agglomerated, fuchsinophilic or cyanophilic grained, isolated and into bacteria's body, anacid-fast filamentous intermingled forms. He does to leap again the fact of these bacterias to agglomerate themselves in great groups like the constituted by the leprosy's bacteria. The corpses had of 1 to 4½ years of inhumation: the material for examination was drawn of the bones and colored by the Ziehl-Neelssen. He does not know to say if the corps leper's bacterias were Hansen's bacillus or purely corpses add fast, why they confused themselves easily with the bacillus of other corpses. At last he has exhumed 2 dogs corpses whose materials have presented the same bacterioscopic squares. His study does porsue for tentatives of culture and inoculations, what, he is effecting. He remembers the MANALANG, WLADIMIROFF and WALKER'S theories on the saprophytism of the Mycobacterium leprae, and he askes if this don't should himself develop in that place where products derived of the action of other bacterias on the living and dead tissues existed.

ZUSAMMENFASSUNG!

Der Verfasser hat Untersuchungen fiber die säurewiderständigen Bazillen an 19 Leichen, von denen 6 von Aussäizigen waren, angestellt, and fand bei alien grosse *Mengen* von sdure-alkoholwiderstndigen Staebchen mit dem gleichen Polymorphismus wie der Bazillen von Hansen and Koch: Kurze, lange, granulierten, in meter oder weniger grossen Gruppen, isolierte fuchsinophilische oder cyanophilische Granulationen and im bazillaren Karper, fassrige, ineinandergeflochtene, nichtsdurewiderständige Formen. Er hebt die Tatsache hervor, dass diese Bazillen sich in grossen Gruppen zusammenballen, genau wie die von Leprabazillen gebildet.

Die Leichen waren von 1 bis zu 4 Jahren begraben, das Material far die Untersuchungen wurde fiber den Knochen entnommen and mit Ziehl-Nelsen gefärbt.

Der Verfasser weirs nicht anzugeben, ob die Bazillen der Leichen von Aussdtzigen Hansen-Bazillen, waren oder nur sdurewiderstaendige der kadaverischen Vegetation, dean die ersteren waren sehr schwer von denen der anderen Leichen zu untershefden.

Zuletzt exhumierte er zwei Leichen von Hunden, deren Material die gleichen bakterioskopischen Slider ergaben.

Seine Studlen setzen sich mit Versuchen der Heranziehung and Inokulierung fort, die er im Augenblick vornimmt. Er bringt die Theorfen von Manalang, Wladimiroff and Walker fiber den saprophytismus des Hansenbazillus and fragt, ob dieser sich nicht dort entwickelt, wo Produkte vorhanden sand, die aus der Aktion von anderen Bakterien auf lebende oder tote Gewebe herrühren.

BIBLIOGRAPHIA

- BESSION — Traité de bacteriologia et serologie clinique.
- BEZANÇON, FERNAND — Précis de Microbiologie clinique, 1920.
- MARCHOUX — La lépre. Traité de Pathologic exotique, 1919. Tomo 7.
- RODRIGUES DE SOUZA, ARGEMIRO — Destino do bacillo de Hansen fóra do organismo. Revista Brasileira de Leprologia. Vol. 5. 1937.
- RAVELLAT - PLA — Concepto clinico de la Tuberculosis. Publicaciones del Instituto Ravetlat-Pla. Barcelona. Agosto, 1934.
- SACQUEPÉE — Traité de Bacteriologic.
- SOUZA ARAÚJO, H. C. — Etiologia da lepra. Jornal dos Medicos, n.º 77, 5 de setembro 1936.
- VESPOLI, MIGUEL — Estudo synthetico dos mais importantes factores favorecedores da infecção hanseniana e modeladores da evolução da leprose. Rev. Brasileira de Leprologia, setembro de 1936. Num. 3, pag 341.



