

VII CONTRIBUIÇÃO AO ESTUDO DA LEPROSA MURINA

HERMINO LINHARES

Do Instituto Oswaldo Cruz

O BACILO DE STEFANSKY

a) — *Morfologia*: O bacilo da lepra murina é um bastonete com 3-5 micra de comprimento, Gram positivo, que se cora bem pelo método de Ziehl. Marchoux e Sorel (75) dizem que ele resiste ao descoramento tão bem ou melhor que o bacilo de Hansen: o ácido nítrico a 10%, H₂SO₄ a 25% e HCl a 3% não o descoram facilmente. Cowdry e Heimburger (19) fizeram experiências usando o método de Ziehl-Neelsen (modificado por Gersh, etc.) para tecido, no qual a coloração é feita em cortes por congelação: os bacilos mostraram menor consistência granular do que quando usaram a técnica comum, o que demonstra, ou ter havido algum erro no processo de congelação, não evidenciado ou que eles são menos granulados do que se supõe. Cowdry e Ravold (20) declaram que os bacilos da lepra murina se apresentam dentro das células formando rosetas com aspecto radiado as quais diferem da forma típica observada nas glóbias da lepra humana. Estas rosetas são provavelmente focos de multiplicação dos bacilos. Souza Araujo (122 e 123) diz que o bacilo de Stefansky, do mesmo modo que o de Hansen, forma as glóbias de Marchoux e os "globi" de Neisser, o que mais o aproxima do da lepra humana. Por outro lado acentua que os dois microorganismos são morfológicamente idênticos.

No nosso material, (59, 59a e 60a), bastante numeroso, tivemos oportunidade de observar cerca de mil cortes corados pelo Ziehl, assim como um número muito elevado de esfregaços contendo bacilos da lepra murina; os resultados das pesquisas concordam plenamente com as do Prof. Souza Araujo, quanto à morfologia do bacilo de Stefansky que é praticamente indistinguível do de Hansen. Se bem que os dois bacilos possam formar glóbias intracelulares, não se observa, ou muito raramente, aquela disposição em "maços de cigarro" tão peculiar da lepra humana.

b) — *Virulência*: Urabe (140) estudou as variações na virulência entre duas amostras isoladas, as quais foram inoculadas por via subcutânea em ratos brancos do mesmo peso. O resultado mostrou que a amostra Kumamoto produz infecção mais rápida e mais grave do que a amostra Manchúria.

As várias amostras podem diferir em virulência, o que é melhor observado em animal menos sensível. Assim, Ichiara e Ichioara (47) estudaram o poder infectante para camundongo, de três amostras de bacilos da lepra murina que não apresentavam senão leves diferenças, porém nêstes animais houve variação nítida da patogenicidade. Marchoux (71) constatou que a virulência aumenta com o número de passagens. Assim, uma amostra oriunda de rato selvagem dá lepromas em 12 a 14 meses, porém, uma amostra com 35 passagens produz lepromas volumosos em 4 a 5 meses.

Row (112) declara que os bacilos têm pouca virulência, o que pode ser constatado facilmente por exames microscópicos das células cheias dos microorganismos que, apesar disto, não revelam alterações degenerativas e parecem manter sua capacidade de multiplicação. Badger e Fite (2) observaram nítidas variações de virulência de três amostras diversas de bacilos, comparando as alterações produzidas nos ratos. Lesões macroscópicas denotando generalização do processo, apareciam mais cedo com as amostras Hawai e Florida do que com a S. Francisco. A primeira foi a mais virulenta de todas. Talvez essas dissemelhanças fossem devidas ao tempo durante o qual elas foram passadas em animais de laboratório.

Krakower e Gonzales (52) trabalhando com uma amostra de bacilo isolada de camundongo, verificaram diferenças quanto à infectividade para os camundongos e ratos, sendo para aqueles muito maior. Eles pensam que os bacilos que produzem a doença espontânea nos camundongos apresentam diferenças biológicas com os que produzem a lepra dos ratos.

O curso da doença pode ser acelerado ou modificado quando os animais sofrem processos de infecção secundária. , Marchoux (65) inoculou estafilococos em ratos, os quais receberam também bacilos da lepra murina, obtendo lesões mais extensas nêstes do que nos controles que apenas receberam os bacilos de Stefansky. As infecções secundárias têm importância, não porquê modifiquem a virulência dos microorganismos da lepra murina, mas provavelmente porque enfraquecendo mais os animais, facilitam a propagação da infecção.

Com as várias amostras de bacilo de Stefansky isoladas de ratos doentes, na cidade do Rio de Janeiro (57a e 58) e inoculadas experimentalmente na região axilar direita de ratos brancos de la-

boratório, nós não observamos variações significativas de virulência.

c) — *Viabilidade*: Marchoux e Sorel (75) dizem que o bacilo resiste 5 minutos a 60° mas não 15 minutos. Marchoux (70), Marchoux e Chorine (72) declaram que os bacilos tratados com H₂SO₄ a 5% ou antiformina a 15% não perdem sua vitalidade mais do que os bacilos de Koch em presença dos mesmos agentes. Experiências feitas em 16 ratos, mostraram que 15 contraíram lepra após inoculação de fragmentos de leproma submetidos ao ácido sulfúrico e à antiformina.

Chorine (12) verificou que os bacilos emulsionados em água fisiológica glicerizada a 40 % e guardados na geladeira durante 39 meses podem infectar ratos. Conservados nas mesmas condições por 51 meses não mais produzem infecção.

Tisseuil e Chorine (135) verificaram que os bacilos impregnados durante urna hora por solução hidroalcoólica de fucsina básica e bem corados, não morrem, mantendo as mesmas propriedades patogênicas dos bacilos não tratados. Lowe (63) confirmou esta experiência e viu que os bacilos corados sobrevivem 10 minutos no HCl a 1%.

E' interessante a experiência de Hashimoto e Honda (42) que após estudarem diversas amostras de bacilos ácido-resistentes da água, verificaram que poderia haver certa relação entre estes microorganismos e o da lepra murina. A inoculação em dois ratos de urna das amostras causou a forma músculo-cutânea da infecção. Hashimoto e Kinebuchi (43) produziram lesões iguais às da lepra murina fazendo ratos normais ingerirem emulsão destes bacilos da água.

Berny (6) examinou a ação *in vitro* do azul de metilênio a 1% sobre o bacilo, fazendo uma emulsão de leproma de rato e misturando com igual volume do corante. Após incubação a 37°C por 12 a 24 horas, fez inoculação em ratos, concluindo, pela observação dos animais, que a solução do corante não teve efeito atenuante sobre o bacilo. Dharmendra e Mukherji (25) também verificaram que o azul de metilênio não tem ação atenuante *in vitro* sobre o bacilo e *in vivo* não tem ação degenerativa e não modifica a morfologia ou as propriedades corantes. Anderson (1) observou que são necessárias temperaturas superiores a 43°C para matar os bacilos; a 50°C durante 5 horas houve grande atenuação.

Terada e col. (130 e 131) fizeram um estudo comparativo por meio de tests bioquímicos entre o bacilo da lepra humana e do rato e obtiveram reações semelhantes. Assim ambos davam reação de catalase e lipase e não davam de oxidase, protease e amilase, assim

como não fermentavam monossacarídeos. Com bacilos ácido-resistentes não patogênicos, obtiveram reação de catalase e lipase e não de oxidase, gelatinase, casease e amilase, mas fermentavam monossacarídeos como glicose, levulose e galactose.

Prudhomme (107) mostrou que os bacilos vivos separados de todos os traços tissulares reduzem no vácuo certos corantes óxido redutores, particularmente o O-cresol-indo-2-6-diclorofenol. Não houve modificação quando os bacilos foram mortos pelo calor, formol ou irradiação por ultravioleta. Foram necessários cerca de 4 bilhões de germes para descolorir em 24 horas 0,014 mgr. de corante. Ele verificou que as irradiações com raios ultravioleta destroem a vitalidade do bacilo em 10 minutos, e diminuem muito a virulência se ela é feita por 2 a 5 minutos, mas a irradiação com lâmpada de mercúrio a 20 cms. de distância mata-os em 2 minutos (102 e 110).

Prudhomme (109) estudou a ação do bacilo de Stefansky *in vitro*, sobre certos ácidos aminados. Os bacilos desembaraçados de tecidos foram semeados em meios nutritivos, não contendo como fonte de azoto, senão um ácido aminado. Entre 12 ácidos aminados ensaiados não foram atacados senão a alanina, taurina e prolina. Não sabe porém se os bacilos se utilizam destes ácidos aminados ou se são as diastases bacilares que os atacam. Prudhomme (108) verificou que, numa suspensão de leproma centrifugado 4 vezes, a última água de lavagem não continha nenhuma substância redutora ou proteína. Ele construiu uma curva de densidade da suspensão para ser lida no fotômetro de Vernes. Prudhomme (101) declara que o bacilo de Stefansky não se conserva bem durante 14 dias em caldo glicerinado a 5%, senão em pH entre 6 e 7 com um ótimo na vizinhança de pH 6,4. Tanguy (128) verificou que após repetidas inoculações de bacilos de Stefansky em seis cobaias, cinco apresentaram reação positiva à tuberculina e dois coelhos deram intradermoreação positiva três semanas após a última inoculação. Os bacilos mortos e os paratuberculosos não sensibilizam a cobaia.

Sato (114) observou que o bacilo morre a 56°C em 30 minutos e a 70°C dentro de 5 minutos, assim como com antissépticos como o ácido carbólico a 5 % ou o cloreto de mercúrio a 1:1000. Ele preparou antígenos e verificou que ratos leproso tiveram reações com os diferentes antígenos em 0 a 25% dos casos, mas animais sadios foram sempre negativos. Na infecção humana obteve 5% de reações e nas pessoas normais o teste foi sempre negativo. Takagi (126 e 127) publicou estudos bacteriológicos e pesquisas anatomo-patológicas sobre a lepra murina, mas não conseguimos obtê-los. Nishimura (88) fez um estudo sobre os microorganismos ácido resistentes obtidos

de ratos selvagens e conseguiu com alguns deles produzir infecção em ratos brancos.

Souza Lima (124) diz que antígenos com bacilos de Stefansky usados em indivíduos são produzem reações idênticas à lepromina. A reação de Mitsuda em ratos inoculados com lepra murina, mas sem lesões aparentes, deu 60% de resultados positivos. Yatsushiro (153) verificou a ação de Baysol, desinfetol, Mikesol, Ermil, Halomin, lysoform e formalina sobre material oriundo de secreção nasal de leproso e nódulos de lepra humana e murina. Dos vários desinfetantes o Baysol a 3% e Mikesol a 5% foram os de maior ação. Cowdry, Ravold e Parker (21) verificaram por processo de microincineração que os bacilos dão pouco ou nenhum resíduo mineral. Foram feitos estudos espectroscópicos. Gomes (38 e 39) fez experiências sobre a ação de um carotenóide em solução coloidal a 1%, sobre suspensões bacilares injetadas ao mesmo tempo e diz que após um início positivo houve impedimento ulterior do desenvolvimento da infecção. Inoculado antes, houve regressão da infecção. Burnet e Cabasso (10) observaram que em solução salina os bacilos ficam viáveis cerca de 1 mês, retendo sua ácido-resistência por talvez 1, ano. Em parafina líquida a aglutinação tem lugar com poucos dias e os bacilos se tornam granuloso, o mesmo se observando com essência de terebentina e óleo de chaulmoogra. Os elementos aglutinados, quando inoculados em camundongo, não causam infecção.

Nossa experiência é muito pequena no que diz respeito à viabilidade do bacilo de Stefansky. Apenas podemos dizer que em nossas mãos, tumores de rato guardados na geladeira em solução fisiológica com 40% de glicerina, mostraram-se infectastes 24 meses depois.

d) — *Filtrabilidade*: Markianos (76, 77, 78, 79 e 84) assinalou a presença de uma forma filtrável do bacilo da lepra murina. Este ultravirus exigiria um período relativamente grande para se desenvolver, pois os primeiros elementos suspeitos não apareciam senão a partir do segundo mês; o primeiro estágio visível pelo exame microscópico foi uma forma granulosa. Após filtração de suspensão de leproma murino em Chamberland L₂, fez inoculação em 4 ratos jovens havendo inicialmente lesões nos gânglios regionais e mais tarde generalização do processo com ulcerações e hipertrofias ganglionares, o que confirmaria a existência de uma fase de ultravirus do bacilo de Stefansky. Formas bacilares foram encontradas 21 dias após a inoculação. Descrevendo as diversas fases, diz que no início aparece uma forma granular, depois bacilos granuloso e finalmente a forma típica. Filtrados obtidos em Berke-

feld e inoculados em ratos jovens e adultos mostravam maior suscetibilidade dos primeiros o que encontra paralelo em crianças e adolescentes nos casos de lepra humana.

Gomes (35, 36, 37 e 40) filtrou uma emulsão de leproma murino e concluiu que o filtrado era mais virulento do que os bacilos suspensos em solução fisiológica; êle pensa que na verdade existe uma fase de ultravirus dos bacilos de Stefansky. A filtração feita em papel de filtro e depois em Seitz serviu para experiências de instilação no ólho de camundongos, tanto do filtrado como de bacilos que ficaram no papel; dias depois encontrou bacilos nos animais que receberam o filtrado mas não nos inoculados com suspensão de bacilos. A administração do virus produziu eliminação por via nasal, a qual começou 24 horas após; triturou a mucosa nasal dêstes ratos, filtrou em Seitz e inoculou novo lote, sacrificando uma a duas semanas depois, tendo encontrado bacilos ácido-resistentes nos gânglios regionais. Verificou que a resistência dos filtrados à ação dos raios ultravioletas é superior á dos bacilos lavados.

Watanabe (148)₁ infectou ratos após filtrar emulsão de leproma em Chamberland L₂ e L₃ e em Berkefeld V. Não foram encontrados bacilos nos primeiros três meses em nenhum dos animais inoculados e manifestações leprosas só foram observadas a partir do sexto mês. Estes fatos levaram-no a pensar numa possível passagem do virus da mãe ao feto e diz clue as experiências demonstraram que isto pode suceder em alguns casos (149). Há um trabalho de Urabe (139) sôbre ultravirus da lepra murina e bacilos ácido resistentes saprofiticos que não conseguimos obter.

Chocroun e Peltier (18 e 99) estudaram a questão da existência de uma forma de virus do bacilo de Stefansky e investigaram a possibilidade de algumas formas visíveis atravessarem o filtro. Usaram velas Chamberland L₂ e L₃ e submeteram os filtrados durante hora e meia a uma corrente elétrica, tendo encontrado no anódio, em 4 dentre 6 experiências, pequeno número de bacilos. Isto indica que alguns germes passaram atravez do filtro e explica a infecção dos ratos com os filtrados. Os animais inoculados com filtrados nos quais não foram encontrados bacilos por electroforesis, não apresentaram qualquer sintoma de infecção, mas os casos positivos produziram lepra murina. A frequência e rapidez da evolução das lesões foram proporcionais ao número de bacilos encontrados nos filtrados. Em suma, a infecção não se produz em ratos inoculados com filtrados em Chamberland L₂ e L₃ senão quando existem bacilos. Walker e Sweeney (146) conseguiram filtrar emulsão de leproma murino em Seitz, Berkefeld N e W e Chamberland L₂ e L₃ com resultados positivos em 17 entre 52 tests. Eles porém não creem que estas pesquisas demonstrem a presença de

um ultravirus pois já haviam observado previamente que bacilos ácido resistentes podem passar em tais filtros. Lowe (63) inoculou 53 ratos com filtrado em Chamberland L₂e L₃, encontrando em 4 deles poucos bacilos e em um infecção generalizada. Considera o caso positivo como defeito na vela e conclue que sua experiência é contrária à existência da forma filtrável.

Hoje, após uma série de experiências de vários investigadores que usaram processos mais delicados de pesquisa, parece fora de dúvida, como diz muito bem Marchoux (71) que: "Il ne doit donc plus être question d'ultravirus aussi bien pour la lépre que pour la tuberculose". Sempre que o bacilo não foi encontrado, após minuciosas pesquisas, não houve infecção dos animais inoculados com os filtrados.

CULTURAS

Inúmeras tentativas de cultura do bacilo da lepra murina, nos meios os mais diversos, têm sido feitas, mas até agora, como no caso da lepra humana, nenhuma delas foi significativamente demonstrada como pertencente ao *Mycobacterium* em causa. Os motivos destes resultados irregulares foram detalhadamente discutidos por Lowe (63).

Faremos uma rápida revisão sobre os principais trabalhos até agora elaborados e daremos os resultados, por nós observados, das tentativas de culturas feitas.

Hollman (45) procurou fazer culturas com bacilos oriundos de ratos com lepra murina, usando q método de simbiose com amebas e vibriões coléricos, segundo a técnica de Clegg para a lepra humana; diz ter feito várias passagens. Em 8 ratos inoculados por via subcutânea com cultura pura obteve lesão local em todos, com presença de bacilos no pulmão de 2 e no muco nasal de 1. Em 3 animais inoculados por via intraperitoneal encontrou bacilos ácido-resistentes no baço de 2. Bayou (4) cultivou facilmente em agar glicerinado ou caldo de peixe, um bacilo-ácido resistente proveniente de um animal inoculado com lepra murina. Este bacilo era tão semelhante ao da lepra humana que ele pensou numa verdadeira identidade das infecções. Wellman e Hand (150) cultivaram em um meio especial de agar e placenta, bacilos ácido-alcool resistentes oriundos de lepra humana e murina. Zinsser e Carey (154) fizeram numerosas experiências e obtiveram multiplicação de bacilos em cultura de tecido usando o método de Hamsson, Bunows e Carrel: os bacilos são semeados em plasma coagulado contendo fragmentos de baço de ratos jovens. Não tiveram resultados em meio com embrião de rato.

Wolbach e Honeij (152) em 1914 fizeram uma revisão sôbre as tentativas de cultura.

Uchida (136) cultivou 5 amostras de bacilos ácido resistentes, usando o método da antiformina para isolamento. Walker e Sweeney (145) cultivaram em meio de Musgrave e Clegg, material de baço, testículos, gânglios, pulmões e tecido subcutâneo de 24 entre 37 ratos leprosos. Eles pensam que os bacilos da lepra humana e do rato são idênticos, sendo a mesma doença. Walker (144) diz que os dois microorganismos são idênticos, pertencendo aos *Actinomyces*; pensa que este actinomices é um saprofito que vive na terra e que só se torna parasito por casualidade. Cultivou o bacilo da lepra murina e inoculou as culturas em ratos, conseguindo reisolar o actinomices depois de mais de um ano. Mais tarde, Walker e Sweeney (147) tentaram cultura em meio com tecido embrionário de rato e com outros tecidos, inclusive tumores malignos de rato e camundongo. Não observaram multiplicação de bactérias ácido-resistentes nos tecidos embrionários, picados e suspensos em solução de Tyrode.

Ohtawara e Ichihara (93) não conseguiram bons resultados nas tentativas de culturas Ota e Asami (97) Fizeram cultura, em meio de Petroff e Petragnani, de fragmentos de gânglios de ratos infectados, tratados ou não com uma solução de ácido sulfúrico a 5 e 10%, durante 5 a 20 minutos. Em 11 casos apareceram colônias entre 5 e 110 dias. Foram obtidos dois tipos de cultura, uma da côr da gema de ovo (*M. leprae muris*, var. *vitellinum*) e outra de côr amarelo creme (*M. leprae cremeum*). Os bacilos destas duas culturas, inoculados em ratos, produziram hipertrofia ganglionar e foram encontrados macrófagos contendo-os. Kahn e Schwarzkopf (49 e 50) dizem ter cultivado, em meio de Petroff e Löwenstein, uma amostra de bacilo da lepra murina. Colônias apareciam sob a forma lisa e rugosa. Uma das culturas inicialmente rugosa dissociou-se espontâneamente, depois de ter sido incubada a 37°C., durante várias semanas. Conseguiram obter um único elemento de cada tipo de colônia e fazer passagens por várias gerações. Interessante é que ocorreu dissociação em ambos os casos e colônias rugosas apareceram em placas de lisas puras, assim como colônias lisas nos meios oriundos de um único bacilo de colônia rugosa. Essas mutações foram mais comuns do tipo liso para rugoso. Denney e Eddy (23) semearam bacilos em solução de Tyrode, contendo leucocitos. Os bacilos de Stefansky foram atraídos pelos leucocitos, sendo fagocitados. Houve multiplicação intracelular até o fagocito ser distendido a ponto de romper-se e, por outro lado, as colônias extracelulares aumentaram em tamanho. Gerbenis (33) , assim como Lowe (62), servindo-se do método de Löwenstein e da técnica de Ota e Sato, nunca obteve cultura do bacilo de Stefansky,

quer partindo de sangue do coração, quer de leproma ou pus de abcesso rico em germes.

Salle (113) usou a técnica de Carrel, para isolar e cultivar material oriundo de lepra humana e murina. Ele crê que as duas infecções são produzidas por um mesmo microorganismo. Apesar de ter conseguido fazer algumas passagens nas quais os bacilos gradativamente perderam a ácido-resistência, não infectou ratos. Sato e Sato (115) obtiveram culturas de bacilos ácidos resistentes semeando emulsão de gânglio e de nódulo de rato branco e selvagem. Os meios usados foram de Petragnani, Petroff, Löwenstein, Hohn e Otawara; o material para cultura ficava durante 30 minutos em ácido sulfúrico a 5%, na estufa a 37°C.

Eles conseguiram muitas culturas mas suspeitam não serem do verdadeiro bacilo de Stefansky porque a inoculação em rato branco foi negativa. Mais tarde, Sato (114) tentou cultivar material de 30 ratos infectados, conseguindo 14 amostras de vários bacilos ácido-resistentes que davam culturas de diferentes tonalidades, mas eram bacilos saprofitas na natureza.

Hemmert - Halswick (44) descreve uma infecção leprosa em camundongos, tendo conseguido cultura em batata glicerinada, mas Ele mesmo pensa não se tratar do agente da lepra murina. Gavrillov e Dubois (30) dizem que o bacilo da lepra murina foi cultivado em agar glicerinado, meio com ovo de Denys, batata e Löwenstein. Apareceram pequenas colônias após 2 meses e foram feitas passagens. Kudicke e Vollmar (55) conseguiram culturas em meio com tecido, e observaram muitos bacilos intracelulares.

Lowe (63), Lowe e Dharmendra (24 e 64) não conseguiram confirmar as culturas com os diversos métodos até então usados. Fizeram durante 3 anos tentativas em cultura de tecido usando embrião de galinha ou tecido de rato mas não se observou multiplicação dos bacilos ou esta foi muito pequena. Prosseguindo nas pesquisas verificaram também que a atmosfera recomendada por Soule e Mac Kinley, isto é, 48% de oxigênio e 10% de anidrido carbônico, não é necessária porque com ou sem ela em certos meios de cultura obtiveram uma multiplicação inicial sem conseguirem fazer passagens. Ensaios de cultura a partir de sangue, segundo o método de Löwenstein, foram sempre negativos. Em culturas com produtos de digestão triptica das proteínas (tipo Duval e Holt) obtiveram uma vez tão grande quantidade de bacilos que permitiu supor um processo de multiplicação, entretanto as passagens foram negativas. Em suma, em alguns casos parece ter havido uma multiplicação inicial mas sempre com repicagens negativas. Lampe e Moor (57) de cerca de 200 ratos infectados naturalmente obtiveram ao todo 50 culturas de microorganismos ácidos resistentes, em meio de Löwenstein. Após minucioso estudo concluíram que todas

as culturas eram de saprofitas. Viam-se bastonetes ácido-resistentes pleomorfos, pouco resistentes à antiformina, com variável capacidade cromógena; na primeira cultura cresceram geralmente devagar, mais rapidamente nas passagens e por fim eram cultiváveis nas meios simples, como agar e caldo. Se inoculados em ratos, um ou dois meses depois davam, no ponto de inoculação, abscessos subcutâneos circunscritos, fistulosos, cheios de bacilos ácido-resistentes, às vezes intracelulares. Depois de alguns meses o processo cicatrizava. A evolução é portanto inteiramente diferente da observada na lepra murina.

Prudhomme (106) em meio de Sauton com um outro microorganismo, adicionou três gotas de suspensão de bacilos da lepra murina, obtendo cultivo e mesmo conseguindo fazer passagens em série. Diz que nestas culturas mistas o bacilo permanece vivo e virulento até 7 meses a 37°C e por 30 dias e mais à temperatura ambiente. Suwo e Kin. (125) verificaram que os tecidos novos dos nódulos da lepra murina crescem em meios apropriados, mas que os velhos não podem ser cultivados dêste modo. Os tecidos recém formados contêm linfocitos, células epitelióides e fibroblastos; os linfocitos são os primeiros a sofrer processos regressivos e, mais tarde, as células epitelióides, porém os fibroblastos permanecem vivos por mais tempo. No citoplasma das células epitelióides e dos fibroblastos foram encontrados regularmente numerosos bacilos, o que não ocorreu com linfocitos. A multiplicação parece dar-se nas células e no meio de cultura.

Ogasawara (90), Ohtawara. Ichiara e Shimizu (94) tentaram culturas do bacilo de Stefansky em vários meios. Nishimura (89) obteve cultivo de bacilos da tuberculose humana, com material de ratos domésticos e selvagens aparentemente leprosos. Em 18 amostras obtidas 4 eram de bacilos saprofitas e 14 de bacilos da tuberculose humana. Gavrilov e Fester (31 e 32) dizem que em diversos meios, como batata, gelose glicerizada, Dorset glicerizado, adicionados de produtos provenientes da hipoderme de animal receptível, o bacilo de Stefansky apresenta uma evolução lenta, havendo um periodo de multiplicação, um periodo de estado e um de decréscimo. Semeados em cultura de tecido, comportam-se de maneira diversa, segundo o tecido origina-se ou; não de um animal receptível. No primeiro, com tecido de rato, o bacilo é fagocitado por fibroblastos e aí conserva por muito tempo seu aspecto normal. Com tecido de cobaia ou embrião de galinha a fagocitose é nula ou quasi nula, os bacilos ficando livres no meio e se desagregando. Em culturas em agar glicerizado e meio de Denys, com caldo de pele de rato, os microorganismos ficam vivos por muito tempo. A inoculação em ratos produziu infecção. A virulência, fraca na primeira se-meadura, decresce mais com as passagens.

Numerosas tentativas de cultura foram por nós feitas. Usamos material de lepra murina obtido de animais infectados naturalmente (58 e 59) ou não, como também de pombos, galinhas e *Poliplax spinulosa infectados* (60) e ainda material humano. Não só este último, como o de lepra murina do lote 1 e 8 provenientes de Londres nos foram fornecidos pelo Prof. Souza Araujo a quem agradecemos.

Nestas pesquisas usamos (diversos meios de cultura. Dr. Arêa Leão, Chefe da Secção de Micologia do Instituto Oswaldo Cruz, preparou filtrados de *Actinomyces* e de *Aspergillus* cultivados durante um mês em meio de Sauton, os quais foram adicionados a vários meios aeróbios ou anaeróbios. Os resultados serão resumidos a seguir:

A) — Material humano: sementeiras de pus de leproma de J. F. (23-10-41), de emulsão de leproma de N. F. (24-7-41) e pus de leproma de L. (5-11-41). Meios aeróbios usados: caldo simples, glicosado, de Martin, com ou sem filtrados de *Aspergillus* ou *Actinomyces*, meio de Löwenstein e batata glicerinada: total 34 tubos; meios anaeróbios: caldo simples, glicosado, de Martin com 10% de filtrado de *Actinomyces* ou 50% de filtrado de *Aspergillus*, num total de 14 tubos. Total geral 48 tubos. Todos os resultados foram negativos. —

B) Material de lepra morim:

a) . Oriundo de Londres e com várias passagens em nosso Serviço. Com emulsão de tumores de ratos do lote 1 e lote 8 fizemos sementeiras nos seguintes meios: Löwenstein, Löwenstein com 5 cc. de filtrado de *Aspergillus* ou de *Actinomyces*, caldo simples com 50% de filtrado de *Actinomyces* ou de *Aspergillus*, caldo glicosado com 10% de filtrado de *Actinomyces*, batata glicerinada; alguns destes meios líquidos foram cobertos com uma camada de óleo de vaselina. Usamos ao todo 56 tubos de cultura e os resultados foram negativos. Em dois tubos pareceu ter havido multiplicação pequena, mas provavelmente tratava-se do material semeado em abundância, pois repicagens em diversos meios deram resultados completamente negativos.

b) Oriundo de ratos espontaneamente infectados, capturados na cidade do Rio de Janeiro. Com material retirado de 17 destes animais tentamos fazer cultura, geralmente com emulsão de tumores, mas às vezes com triturado de gânglios ricos em bacilos ácido-alcool-resistentes. Como todos os resultados foram negativos damos apenas o número e os meios utilizados.

Meios de Löwenstein — 85 tubos; idem com 5 cc. de filtrado de *Actinomyces* — 7 tubos; idem com 5 cc. de filtrado de *Aspergil-*

lus — 8 tubos. Total: 100 tubos. Caldo simples — 12 tubos; idem com 50% de filtrado de *Aspergillus* — 5 tubos; Total: 17 tubos. Caldo glicosado — 12 tubos; idem com 10% de filtrado de *Aspergillus* — 11 tubos; idem com 10% de filtrado de *Actinomyces* — 11 tubos; idem (anaeróbicos) com filtrado de *Aspergillus* — 8 tubos e de *Actinomyces* — 9 tubos. Total: 51 tubos. Caldo glicerinado — 15 tubos; idem com 50% de filtrado de *Aspergillus* — 5 tubos e de *Actinomyces* — 5 tubos. Total: 25 tubos. Caldo de Martin anaeróbico — 26 tubos; idem, com 10% de filtrado de *Aspergillus* — 16 tubos. Total: 42 tubos.

Total geral do número de meios usados nas tentativas de cultura de bacilos ácidos resistentes de tumores e gânglios dos ratos capturados com lepra murina: 235.

c) Oriundo de *P. spinulosa* capturados em ratos em adiantado estado de infecção. Os Poliplax foram colocados durante meia hora em solução a 5% de ácido sulfúrico, depois lavados várias vezes em água destilada, triturados e o material, rico em bacilos, foi semeado em 16 tubos de Lowenstein. Os resultados foram negativos. Em alguns tubos apareceram pequenas colônias brancas de bacilos anácido-resistentes.

d) Oriundo de gânglio e pulmão de gambás infectadas experimentalmente, rico em bacilos ácido-alcool-resistentes. As sementeiras feitas em 18 tubos de Lowenstein foram negativas.

e) Oriundo de baço de pinto e músculo do peito de pombo, com infecção provocada e rico em bacilos. As sementeiras feitas em 11 tubos de Löwenstein foram negativas.

O número de sementeiras feitas por nós com material humano foi muito pequeno e sendo assunto por demais discutido, não será motivo de qualquer interpretação de nossa parte. Com lepra murina porém, se incluirmos todo o material semeado, mesmo o de outros animais infectados, além de ratos, teremos um total de 336 sementeiras sem resultado. A impossibilidade de cultivar os bacilos, abundantemente existentes nos ratos doentes capturados no Rio, é mais uma confirmação de que estávamos de fato lidando com lepra murina. As tentativas de cultura têm sido motivo de diversas discussões científicas mas os resultados positivos são ainda hoje duvidosos. As regras de Koch, tão importantes nas questões culturais de bactérias, têm sido, até certo ponto, de pouco interesse para muitos pesquisadores. Anualmente aparecem novas culturas de bacilos da lepra murina incapazes porém de resistir 'a uma, crítica imparcial; é interessante que a maioria daqueles que descrevem as culturas lancem mão de argumentos tão pouco convincentes. Com a lepra murina seria fácil provar que as culturas são ou não verdadeiras por inoculação em ratos e estudo das lesões. Até agora os únicos que afirmaram ter fechado o ciclo foram Ota e Asami,

mas assim mesmo a percentagem baixa de animais doentes e a localização apenas ganglionar dos bacilos, difere muito da elevadíssima percentagem de infectados e a frequente generalização do processo, quando se inocula em ratos emulsão de material de lepra murina. Se as lesões observadas não são típicas e as passagens em série não são possíveis, também se tornam dúbias as afirmativas de que os microorganismos existentes nos meios são de fato da doença de Stefansky. O grande pleomorfismo observado em várias das chamadas culturas de lepra murina e até mesmo a descrição de formas anácido-resistentes, levou alguns pesquisadores a apoiar a teoria de um vírus filtrável não cultivável, sendo as formas bacilares nas culturas dadas como variantes avirulentas. Por isso, estamos com Lampe e Moor (57) quando dizem que não lhes apetece colaborar com uma tal maneira de torcer os fatos.

O que parece até hoje ter sido cultivado na maioria das vezes, são simples saprofitos ácido-alcool-resistentes, que crescem exuberantemente nos meios de cultura, dando belas colônias coloridas, repicáveis nos meios mais simples e cuja semelhança com Actinomicetos é às vezes muito grande. Na lepra do rato o melhor será sempre usar material proveniente de processos fechados, onde a contaminação é muito mais difícil. Até o momento não foi descrito um método de cultura capaz de dar uma percentagem elevada de resultados positivos com diversos pesquisadores e com o qual seja possível cfehar o ciclo de Koch. Por enquanto, os resultados das culturas de bacilos da lepra murina são ainda muito dúbios e nós ainda somos de opinião que o verdadeiro microorganismo produtor da doença de Stefansky não foi cultivado.

BIOQUIMICA E SEROLOGIA

As propriedades serológicas e bioquímicas do sangue e dos tetidos de ratos com lepra murina foram poucas vezes estudadas. Em alguns casos os tecidos de animais doentes ou mesmo emulsão de bacilos serviram de antígeno em reações utilizadas para o diagnóstico da lepra humana.

Mezincescu (85), Ogasawara e Amawashi (91) obtiveram bons resultados em reações de fixação do complemento, tendo como antígeno, bacilos da lepra murina. Ota e Ishibasi (98) prepararam um antígeno com bacilos da lepra e obtiveram reação de fixação do complemento, positiva em 87% de soros de leprosos e em 76,5% com soros de ratos doentes. Schmitt (119) empregou no mesmo caso, uma maceração alcoólica de tecido conjuntivo de animal leproso, com resultados semelhantes. Sato e Sato (116) utilizaram lepromas de ratos para a reação de Mitsuda. Ikei (48), Huzimoto (46), Mi-

nami, Kawasaki e Huzimoto (86) obtiveram resultados positivos na lepra humana e murina, usando a modificação seroquímica de Fuchs, provisoriamente chamada reação M. H. H.

Emerson e Anderson (27) e Emerson (26) observaram leve hipoglicemia em ratos leprosos e curvas anormais de tolerância à glicose mais altas e prolongadas, em casos de infecção avançada, o que significa mais extenso comprometimento do fígado no rato doente do que no homem. Chorine e Crougue (17) dizem que na lepra murina há ligeira hipocolesterinemia não sendo porém, nem constante, nem acentuada com a gravidade da infecção. Em outro trabalho, Chorine (14) verificou o valor comparativo dos lipóides fosfatados no sangue e observou que a relação *lecitina* (colesterina) é geralmente superior a 1 (media 1,30) nos animais infectados e inferior a 1 (media 0,89) nos normais.

Para Prudhomme (103) a taxa de glutathion reduzido não varia no baço e fígado dos ratos infectados quando estes órgãos não estão seriamente atingidos. A diminuição no sangue está em relação com a encontrada no fígado e baço. Quando estes órgãos estavam muito alterados pelo processo lepromatoso, verificou uma diminuição de cerca de um terço do glutathion reduzido. O teor nos lepromas oscilou entre 30' a 80 mgrs. por 100 gramas de tecido fresco, segundo o local onde estavam situados. Prudhomme (104) procurou então saber se o glutathion reduzido, que é deficiente nos ratos leprosos, não se transformaria em glutathion oxidado, isto é, se a relação *glutathion oxidado* (glutathion reduzido) ficava constante. Concluiu que o glutathion preexistente não se transforma em glutathion oxidado e sim desaparece. Ainda em relação às pesquisas feitas no Banque há um trabalho de Uchida (137), sobre algumas reações serológicas, o qual não conseguimos obter.

Emerson, Anderson e Laeke (28) fizeram um estudo comparativo entre a atividade lipolítica dos tecidos de ratos normais e leprosos e verificaram que estes apresentam sempre atividade menor; quando extensas lesões leprosas existem, há uma baixa significativa de atividade lipolítica da maior parte dos tecidos, com provável exceção do baço. Prudhomme (105) dosou por processo fotométrico o ácido ascórbico nos órgãos de ratos normais e leprosos, assim como nos lepromas e verificou que as lesões leprosas são muito ricas desta vitamina, existindo uma relação mais ou menos constante entre o valor em ácido ascórbico no baço e no leproma; as células mais infectadas têm teor mais elevado que as células normais.

Em colaboração com Villela (143) dosamos colesterol na pele de ratos normais e em tumores subcutâneos e os valores foram quasi iguais após a correção do teor em água dos tecidos; os lipídeos totais apresentavam valores pouco maiores para o tumor do

que para a pele normal, mas esta diferença não pareceu ser significativa. Foram feitos também exames micropolariscópicos de cortes de tumores de ratos com lepra murina, mas não foram encontrados lipóides birrefringentes.

Em colaboração com Dr. Nin Ferreira estamos começando agora a fazer uma série de exames bioquímicos em ratos com lepra murina. A dosagem de glicose no sangue total, em um lote de animais infectados deu 0.94 mgrs.%, isto é, percentagem normal.

RELAÇÃO ENTRE A LEPRA HUMANA E MURINA

O estudo comparativo entre a lepra humana e a murina e a identidade das duas infecções tem motivado várias pesquisas mas os resultados ainda são inconcludentes.

Se bem que, em 1912, Marchoux e Sorel (74) declarassem que as duas infecções eram diferentes, principalmente no que diz respeito a certos aspectos morfológicos e fisiológicos dos bacilos, eles também observaram alguns pontos de contacto entre as duas entidades mórbidas, como a semelhança dos caracteres morfológicos, a cronicidade e lentidão dos processos, as lesões viscerais tardias e a multiplicação intracelular dos bacilos. Consideraram as relações entre os dois microorganismos semelhantes às observadas entre o *M. tuberculosis hominis* e *M. tuberculosis avis*. Em 1923 Marchoux (68) fez um estudo geral sobre a lepra murina e disse que a infecção, tanto no homem como no rato, começa pelos gânglios e que a lepra murina é transmissível ao homem, o que Seidl (120) diz ser uma conclusão sem prova. Baseou-se Marchoux (66, 67 e 69) na observação de um pseudo-leproso, morto de doença intercorrente, no qual foi encontrado um microorganismo ácido-resistente, que denominou *Mycobacterium pulviforme*; inoculou em ratos material colhido deste doente, tendo conseguido infecção. Numa segunda passagem houve evolução mais rápida do processo e em vez da forma pulverulenta foram encontrados bacilos semelhantes aos da lepra murina. Muitos anos mais tarde Marchoux (71) tornou a acentuar as relações existentes entre as duas doenças, dizendo que ambas apresentam caracteres comuns, como a morfologia idêntica do bacilo, nenhum dos quais foi ainda cultivado com certeza, a transmissão de ambas por contacto e u periodo de incubação, geralmente longo.

Ohtawara e Kawamura (95 e 96) inocularam por via intra-cutânea emulsão de leproma humano e murino em 20 doentes, dos quais 10 eram lepromatosos e os outros de forma nervosa. Verificaram que com material humano raramente o resultado era positivo na primeira forma, mas dava mais de 50% de positividade na forma

nervosa. Com emulsão de leproma murino ou de camundongo, em ambas formas, houve sempre reação positiva. A reação com emulsão de material de camundongo é sempre mais forte do que com material humano. Concluem que os dois bacilos devem ser diferentes.

Laigret (56) diz que uma suspensão de bacilos da lepra murina foi inoculada num dos lóbulos da orelha de um leproso. No dia seguinte encontrou um empastamento doloroso; dias depois, tendo feito esfregaço de material colhido ai, encontrou grande número de bacilos de Stefansky, sem aspecto degenerado e pelo contrario, com certas formas particulares, às vezes em poeira, lembrando o *M. pulviforme* e outras vezes formando glóbias típicas. No transcurso do terceiro mês, as lesões tomaram um aspecto nitidamente invasor, mas o tratamento intensivo com chaulmoogra não permitiu a progressão. Ele tentou em vão infectar rato com este material. Soule (121), em um estudo feito sobre as relações entre as duas infecções, diz que as possibilidades de infecção natural de rato, com lepra humana, foram examinadas em condições muito favoráveis em Culion, com resultados negativos; em 212 ratos capturados todos os exames foram negativos, assim como a inoculação de lepra humana nêstes animais foi sem efeito. Também Blanc (8) examinou na Tunísia 107 ratos e apesar de estudos minuciosos, todos os exames foram negativos.

Até o momento presente não há um resultado significativo mostrando que os dois bacilos são idênticos.

Muir (87) fez test de leprolina com leproma humano e de ratos, em individuos doentes e em controles normais. Nas pessoas sãs, assim como nos casos de lepra nervosa, ambas substâncias causaram reação positiva, mas na lepra lepromatosa apenas a leprolina com bacilos de Stefansky deu resultados positivos, o que é contrario à identidade dos dois bacilos. Grange (41) em 1934 publicou uma tese sobre a lepra humana e murina, mas não nos foi possível obtê-la.

Em suma, até agora não há um resultado significativo mostrando que os dois bacilos são idênticos, produzindo no rato a doença de Stefansky e no homem o mal de Hansen. No ponto de vista epidemiológico, parece não haver conexão entre as duas infecções; também não há uma prova cabal de que os bacilos sejam saprofitas do solo, os quais, penetrando através de lesões cutâneas, venham a produzir as duas doenças.

TRATAMENTO

Muitos anos após a tentativa infrutífera de Wherry (151), de tratar a lepra murina inoculando bacilos mortos em autoclave, Mar-

kianos (80, 81 e 82) usou como terapêutica uma emulsão de bacilos desengordurados. Ele triturava os órgãos infectados de ratos com quantidade igual de estômago de porco, adicionava ácido clorídrico e colocava em banho maria a 50°C. durante 48 horas afim de permitir a digestão, filtrando depois em gase estéril. O líquido continha grande número de bacilos. Por neutralização pela soda, formava-se um precipitado que continha a maior parte dos microorganismos; lavava em seguida duas a três vezes em água destilada, centrifugando e depois lavando três a quatro vezes com alcool, sendo o desengorduramento feito pelo tolueno. O solvente foi evaporado no vácuo e os bacilos suspensos em água fisiológica em que cada cc. continha 300 milhões. Ratos com lepra murina foram tratados com injeções deste material e houve retardamento do processo evolutivo. Empregou mesmo injeções dos bacilos de Stefansky desengordurados, no tratamento da lepra humana, observando grande melhora dos processos locais. Chegou a dar 181 cc. do antígeno em 40 injeções, havendo formação de abcessos estéreis, mas as infiltrações cutâneas desapareceram e foi observado retorno da sensibilidade. Conclue que o antígeno preparado com bacilos de Stefansky age favoravelmente na lepra humana e murina.

Valtis e Markianos (142) experimentaram injeções subcutâneas de B.C.G. em 5 ratos infectados, permanecendo 6 de controle. O tratamento teve uma influência favorável na evolução da lepra murina, observada pela cura das ulcerações cutâneas e um retardamento da generalização da infecção. Urabe (141) estudou a influência de bacilos anácido-resistentes da lepra murina sobre o desenvolvimento da infecção. Preparou com eles uma vacina, a qual teve, não só certo efeito protetor contra a infecção, mas, também restringiu mais ou menos sua progressão. Prudhomme (100) observou que a irradiação pelos raios X, no local da inoculação não curava o animal mas retardava a evolução da doença. As células parasitadas eram mais rapidamente destruídas que as normais, porem os bacilos livres após esta destruição mantinham sua vitalidade, pelo menos durante 10 dias.

São inúmeras as preparações usadas nas tentativas terapêuticas feitas na lepra dos ratos.

Markiano (83) usou, por inoculação subcutânea, nove preparados diversos: "fleolato" de sódio a 1% em injeções de 0,5 a)1,0 cc.; tribromometaxilenol a 1 ‰, metoxifenilhidnocarpato de sódio; fenilhidnocarpato de sódio ou 541 de Fournau e Baranger; 580 e 581 de Fournau e Sivadjan, que são sais sódicos de um ácido do óleo da tartaruga; 579A, B e C de Fournau e Sivadjan, que são esterres provenientes do óleo da tartaruga. Os seis primeiros foram bem tolerados, mas os três últimos deram grande reação local. O

“fleolato” de sódio exerceu ação fraca; o 579B pareceu ter ação destrutiva sobre os lepromas nas circunvizinhanças do local de inoculação; o 579A merece atenção devido aos excelentes resultados que a princípio obteve. Koch (51) experimentou tratar ratos brancos infectados inoculando por via subcutânea ésteres de hidnocarpo. Houve destruição dos nódulos após 8 dias de tratamento, mas interrompida a terapêutica, a infecção se generalizava o mesmo tendo sucedido depois da administração de Solganal B oleoso.

Tisseuil (133 e 134) usou: ester etílico de chaulmoogra o qual retardou a evolução dos lepromas mas pareceu nocivo nos períodos mais adiantados da doença; iodeto de potássio que inoculado no peritônio foi útil no início, mas nos períodos avançados ativou a marcha da infecção; o molibdato de amônio por via intramuscular, teve apenas leve efeito retardador; o lipiodol nunca teve ação favorável; extrato acetônico de lepromas produziu uma ativação grande das lesões durante as primeiras semanas, seguida de uma moderação de sua evolução; extrato metílico de lepromas acelerou muito a evolução das lesões; com ester etílico creostado de chaulmoogra observou ação nitidamente desfavorável sobre o estado geral; chaulmoograto de ouro gaiacolado retardou o processo durante os primeiros meses, mas não evitou a evolução; molibdato de amônio teve ação nitidamente favorável e os lepromas cresceram mais devagar e se ulceraram muito mais lentamente.

Emerson, Anderson e Leake (29) trataram ratos doentes com etilchaulmoograto, Alepol, étil di-n-heptilacetato, p-fenetidina dihidrochaulmoogril sulfonato de sódio e p-fenetidina chaulmoogril sulfonato de sódio, mas não observou correlação entre a lipase do leproma e o tipo de medicamento. Lowe (61) concluiu que o hidnocarpo de sódio não tem nenhuma ação bactericida *in vitro* e, *in vivo* tem ação indireta sobre o bacilo de Stefansky. Thiroux (132) usou as seguintes substâncias preparadas por Fournau e Trefouel: 975 ou 3-aminodifenoxiasina-sulfonato de sódio; sal disódico do ácido 3-nitrodifeno-oxiasina-7-arsênico-1-sulmônico ou 976; niqueltiomalato de sódio ou 1.003; cobaltotiomalato de sódio ou 1.004 e sal sódico do ácido nitro-resorcil-arsenico ou 1.005. Estas substâncias em doses subtóxicas, apenas retardam o aparecimento das lesões leprosas, especialmente o composto de níquel, porém não pode ser considerado um remédio para a lepra.

Gillier e Tisseuil (34) usaram também uma série de produtos como: sulfato de cobalto e amônio, oxalato de titâneo e potássio, cloreto de níquel, cloreto de cádmio, óleo de castor com guaicol e álcool, óleo de tartaruga, molibdato de amônio com eosina, tungstato de sódio, extrato acetônico e extrato metílico do bacilo da tubercu-

lose. Todos apenas retardaram a evolução da lepra murina, sendo os melhores o cloreto de níquel e de cádmio. Ogawa e Harada (92) estudaram a ação *in vitro* sobre o bacilo, de vários preparados obtendo efeitos, em ordem decrescente, com ester etílico de chaulmoogra com 5% de colessterina, ester etílico de chaulmoogra e chaulmoogrol. Chorine (13) não obteve resultado com aminofenilsulfonamida, timol e mentol, antiomalina que agravou a infecção e com selênio. Juntamente com Marchoux (73) estudou a ação de suspensão de telúrio em óleo ou soro glicosado e do telurito de sódio. Houve retardamento da infecção e as lesões ficaram mais localizadas que nos controles, mas os bacilos não foram mortos. Em trabalho de colaboração com Berny (16) diz não ter observado resultado algum com a administração de selênio, cério, tungstênio, alumínio e sulfato de vanádio. Chorine (15) obteve resultados negativos com óxidos de glúcinio, (trio, zircônio, tálio e mercuriocromo, iodeto de rubídio e bismutato de quinina. Foi muito interessante a ação do urânio, usado como óxido insolúvel suspenso em óleo de oliva; em doses fortes os ratos morrem, pois é muito tóxico, porém há um amolecimento dos lepromas e eliminação de seu conteúdo. Tanguy (129) estudou a ação do oleato e do laurato de etila sobre a evolução da lepra murina e os resultados mostraram que estas substâncias não tinham valor. Sato (117 e 118) fez estudo afim de averiguar a influência terapêutica de vários medicamentos e obteve bons efeitos, porém) temporários, sobre a evolução da doença, com o óleo de chaulmoogra, uma suspensão de leproma murino e salvarsan; os lepromas se desenvolveram mais lentamente do que o usual ou regrediram, mas nunca a cura foi completa. Não mostraram qualquer ação o éster etílico de chaulmoogra, trifal, feniltioretano, fesal e prontosil.

Berny e Chabaud (7) e Chabaud (11) usaram vários produtos de origem vegetal na terapêutica da lepra murina. Solução de terebentina aumentou a mortalidade no começo da infecção e não retardou a evolução da doença; óleo de pinho da Letônia, que é tóxico para os ratos, não teve efeito, assim como soluções aquosas de essências de cipreste e coloncoba; Borneol em solução aquosa parece retardar a evolução da doença durante um certo período, após o qual ocorre rápida generalização. Entre oito compostos de selênio preparados no laboratório de Forneau, o no. 1424 (fenil-seleniato) e o no. 1443 (seleniato de para-acetilaminobenzeno), tiveram um efeito favorável no início da doença, mas os demais foram sem ação ou mesmo prejudiciais.

Kudicke (54) registra uma série de experiências terapêuticas que fez. As substâncias usadas foram divididas em 3 grupos. No primeiro grupo estavam vários ésteres de chaulmoogra, ácidos hid-

nocárpicos e alguns outros compostos. Foi obtido certo retardamento no aparecimento de lesões lepróticas com os seguintes: éster isopropilbenzóico, ester glicocólico do ácido cinâmico, éster glicocólico do ácido chaulmoogrico e sal sódico do ácido monochaulmoogrico-glicerofosfórico. No segundo grupo, composto de várias preparações, os melhores efeitos foram com: éster oléico do ácido cinâmico, éster cinamil-glicol-chaulmoogrico, éster cinamil-alilauriletílico e éster ricinólico do ácido chaulmoogrico. Por fim, no terceiro grupo combinou ésteres chaulmoogricos com o radical tiociânico. Os melhores resultados foram obtidos com alguns preparados desta série, como tiocianochaulmoogrico, tiociano-colino-chaulmoogrico e com oleiltiociânico. Estas pesquisas foram criticadas por Büngeler (9). Ribeiro (111) experimentou três frações de certos carotenóides vegetais, sendo duas sem efeito e uma delas alterou a distribuição dos bacilos vivos injetados no rato, dando o mesmo aspecto que aparece quando são inoculados bacilos mortos. Cowdry e Ruangsiri (22) observaram que injeções subcutâneas repetidas de promin em ratos leprosos, modificam o curso do desenvolvimento dos pequenos nódulos e o tempo de sobrevivência dos animais assim tratados foi maior do que nos controles, tendo os ratos permanecido em melhores condições. Alguns nódulos melhoraram após a inoculação intranodular de goma ou de heptaldeído.

Resultados terapêuticos interessantes foram obtidos por Krakower, Otero e Axtmeyer (53). Verificaram que sulfanilamida a 1% dada a ratos e camundongos infectados, durante todo o período experimental inibiu completamente o crescimento de leproma no local de inoculação e evitou a ocorrência de metastasis. Sulfanilamida a 1% e sulfatiazol a 1% parou o desenvolvimento do leproma e das metastasis quando dado em período de tratamento.

Uchida (138) deu uma vez por semana a ratos infectados, uma solução contendo 10% de hasterina (vitamina A), 10% de orizanina (vitamina B) e 10% de vigantol (vitamina D). Os animais foram mortos após 4 a 5 meses e os processos mórbidos gerais foram comparados com os dos animais controles. A vitamina A evitou alterações mórbidas da lepra murina; a vitamina B quase não teve ação, mas a D foi muita eficaz. E' preciso notar que Badger, Masunaga e Wolf (3) observaram que em ratos com carência de vitamina B₁, o período de incubação da doença é menor que nos controles; naqueles a suscetibilidade é maior, o que se observa pela grande generalização da infecção, que é retardada pela administração de vitamina B₁.

Tentamos o tratamento da lepra murina fazendo inoculações de Penicilina em ratos infectados, mas Estes primeiros resultados não foram animadores. Também fizemos emulsão de leproma em

solução fisiológica e misturamos com volume igual de Penicilina bruta, deixamos hora e meia em contacto na geladeira e inoculamos 4 ratos, dois deles ficando doentes; todos os ratos de controle em número de 5 tiveram a infecção. Esta experiência é muito pequena para qualquer conclusão.

SUMÁRIO

O A. fez uma revisão sobre a morfologia do bacilo de Stefansky, sua virulência, viabilidade, filtrabilidade, culturas, bioquímica, serologia e relações entre a lepra humana e murina. Não observou variações significativas quanto à virulência das várias amostras obtidas. Tumores de ratos guardados na geladeira em solução fisiológica com 40% de glicerina permaneceram infectantes pelo menos por 24 meses. Todas as tentativas de cultura em diversos meios aeróbios e anaeróbios foram negativas. A taxa de glicose no sangue permaneceu normal nos animais infectados. As primeiras tentativas terapêuticas com penicilina foram pouco animadores.

SUMMARY

The A. has made a review of the literature about the morphology, virulence, viability, filtrability and cultivation of rat leprosy bacilli. He has reported the serological and biochemical studies and the relation of the infection to human leprosy. He did not observe significant variations among several strains of acid-fast organisms from rat leprosy material. Rat leprosy tissue will keep well at frigo at least during 24 months in glycerine at 40%. The A. completely failed to obtain cultures with bacilli from rats in several aerobic and anaerobic media. Normal values for blood glucose was obtained in leprosy rats. The firsts therapeutic tentatives with Penicillin in experimentally infected rats showed no apparent effect upon the course of the disease.

BIBLIOGRAFIA

1. ANDERSON, H. H. — 1935-36. **Effects of heat on viability of *Mycobacteria leprae muris***. Proc. Soc. Exp. Biol. & Med., 33: 204.
2. BADGER, L. F., e FITE, G. L. — 1940. **Leprosy; variations in the virulence of strains of rat leprosy**. Nat. Inst. of Health Bull.. 173: 77.

3. BADGER, L. F., MASUNAGA, E. e WOLF, D. — 1940. **Leprosy: vitamin B1 deficiency and rat leprosy.** Pub. Health Rep., 55: 1027.
4. BAYON, H. — 1912. **The culture and identification of the germ of leprosy and the relationship of the human disease to rat leprosy.** Trans. Soc. Trop. Med. & Hyg., 5: 158.
5. BERNY, P. — 1933. **Effect comparative de Piode sur le rat sain at sur le rat lépreux.** Bull. Soc. Pat. Exot., 26: 1237.
6. BERNY, P. — 1935. **Un séjour de 24 h. in vitro dans le bleu de méthylène a 0,5% n'attenué pas la virulence du bacille de Stefansky.** Bull. Soc. Pat. Exot., 28: 58.
7. BERNY, P. e CHABAUD, A. — 1939. **Éssais de traitement de la lèpre murine.** Bull. Soc. Pat. Exot., 32: 316.
8. BLANC, G. — 1919. **Nouvelle enquête sue l'es rats de Tunis. Recherche de spirochete de pitere infectieux at da bacille de Stefansky.** Compt. rend. Soc. biol., 82: 1310.
9. BUNGELER, W. — 1941. **How far can experimental chemotherapeutic results with rats be applied to human leprosy?** Med. Welt, 15: 142.
10. BURNET, E. e CABASSO, V. — 1941. **Action of oils on the bacillus of Stefansky.** Arch. Inst. Pasteur de Tunis, 30: 203.
11. CHABAUD, A. — 1939. **Essais de traitement de la lepre murine.** Bull. Soc. Path. Exot., 32: 591.
12. CHORINE, V. — 1934. **Conservation du bacille de Stefansky.** Bull. Soc. Path. Exot., 27: 222.
13. CHORINE, V. — 1936. **Essais du traitement de la lèpre murine.** Bull. Soc. Path. Exot., 29: 949.
14. CHORINE, V. — 1937. **Lécithine et cholestérine sanguines dans la lèpre murine.** Compt. rend. Soc. biol., 124: 1276.
15. CHORINE, V. — 1939. **Essais de traitement de la lèpre murine.** Bull. Soc. Path. Exot., 32: 587.
16. CHORINE, V. e BERNY, P. — 1938. **Note sur quelques essais infructueux de traitement de la lepre murine.** Bull. Soc. Path. Exot., 31: 588.
17. CHORINE, V. e GROUGUE, O. — 1936. **La cholestérine sanguine dans la lepre murine.** Compt. rend. Soc. biol., 122: 621.
18. CHOUCROUN, N. e PELTIER, M. — 1935. **Sue l'ultravirus de la lèpre murine.** Compt. rend. Acad. Sc., 200: 785.
19. COWDRY, E. V. e HEIMBURGER, L. F. — 1935. **Morphology of bacillus of rat leprosy.** Proc. Soc. Exp. Biol. & Med., 32: 1422.
20. COWDRY, E. V. e RAVOLD, A. — 1938. **Rosettes in rat-leprosy.** Puerto Rico J. Pub. Health & Trop. Med., 14: 3.1
21. COWDRY, E. V., RAVOLD, A. e PACKER, D. M. — 1939. **Physical and chemical properties of rat leprosy bacilli.** Proc. Soc. Exp. Biol. 6 Med., 41: 341.
22. COWDRY, E. V. e RUANGSIRI, C. — 1941. **Influence of promin, starch and heptalsiehyde on experimental leprosy in rats.** Arch. Path., 32: 632.
23. DENNEY, O. E. e EDDY, B. E. — 1933. **Comments on in vitro behavire of lepra and certain other acid-fast microorganisms in presence bf leucocytes.** Arch. Derm. Syphil., 27: 794.
24. DHARMENDRA e LOWE, J. — 1938. **Attempts to cultivate M. lepra muris.** Ind. J. Med. Res., 25: 835.
25. DHARMENDRA e MUKHERJI, N. N. — 1940. **Action of methylene blue on Mycobacterium lepra muris.** Ind. J. Med. Res., 27: 627.
26. EMERSON, G. A. — 1936. **Glucose tolerance in rat leprosy.** Am. J. Trop. Med., 16: 699.

27. EMERSON, G. A. e ANDERSON, H. H. — 1933. **Blood sugar changes in experimental rat leprosy.** J. Pharmacol. & Exp. Therap., 48: 272.
28. EMERSON, G. A., ANDERSON, H. H. e LEAKE, C. D. — 1932. **Lipolytic activity of rat tissues in experimental leprosy.** Proc. Soc. Exp. Biol. 6 Med., 30: 150.
29. EMERSON, G. A., ANDERSON, H. H. e LEAKE, C. D. — 1933. **Lipolytic activity of rat lepromata during treatment with various anti-leprotics.** Proc. Soc. Exp. Biol. & Med., 31: 18.
30. GAVRILOV, W. e DUBOIS, A. — 1936. **Culture du bacille de Stefansky.** Compt. rend. Soc. biol., 121: 1384.
31. GAVRILOV, W. e FESTER, A. — 1939. **Le bacille de Stefansky et la culture de tissus des divers animaux de laboratoire.** Ann. Soc. Belge Med. Trop., 19: 367.
32. GAVRILOV, W. e FESTER, A. — 1940. **Longue survie du bacille de Stefansky dans les cultures sue Agar glyceriné et sur milieu de Denys prepares avec du bouillon de peau de rat..** Arch. Inst. Pasteur de Tunis, 29s 102.
33. GERBINIS, P. — 1933. **Essais de culture du bacille de Stefansky.** Bull. Soc. Path. Exot., 26: 1135.
34. GILLIER, R. e TISSEUIL, J. — 1934. **Essais de traitement de la lepre murine.** Bull. Soc. Path. Exot., 27: 189.
35. GOMES, J. M. — 1936. **Pesquisas sobre a lepra murina (Filtrabilidade do bacilo de Stefansky).** Rev. bras. leprolog., 4: 423.
36. GOMES, J. M. — 1938. **Estudos sobre a lepra murina — instilação ocular infectante.** Rev. bras. leprolog., 6: 21.
37. GOMES, J. M. — 1938. **Pesquisas sobre a lepra murina. Eliminação do "virus".** Rev. bras. leprolog., 6: 273.
38. GOMES, J. M. — 1939. **Mycobacterium de Stefansky. Pesquisas com caroteno.** Brasil. Med., 53: 209.
39. GOMES, J. M. — 1940. **Lepra murina. Pesquisas com os pigmentos carotenóides.** Brasil. Med., 54: 140.
40. GOMES, J. M. — 1941. **Ativação dos elementos filtráveis do Mycobacterium de Stefansky pelos raios ultravioletas.** Brasil. Med. 55: 451.
41. GRANGE, P. — 1934. **Rapports da la lèpre de murine at de la lèpre du rat.** Tese. Paris.
42. HASHIMOTO, T. e HONDA, Y. — 1934. **Weitere studien über säurefeste Wasserbacillen insbesondere über die Berzeihungen zwischen der Rattenlepra.** Jap. J. Dermat. & Urol., 35: 89.
43. HASHIMOTO, T. e KINEBUCHI, Z. — 1939. **Über die experimentelle Rattenlepra durch den Trinkerversuch der si säurefesten Wasser bazillen.** Jap. J. Dermat. & Urol., 45: 114.
44. HEMMERT-HALSWICK, A. — 1934. **Über eine lepraähnliche Erkrankung bei Mäusen.** Arch. Tierheilk. 67: 534.
45. HOLLMAN, H. T. — 1912. **The cultivation of an acid-fast bacillus from a rat suffering with rat leprosy.** Pub. Health Rep., 27: 69.
46. HUZIMOTO, S. — **Über die serochemische Reaktion (MHH Reaktion) bei Rattenlepra insbesondere über die Reaktion mit dem Gewebssubstrat des rattenlepraknotens.** La Lepro, 8: 431
47. ICHIARA, T. e ICHIOARA, T. — 1938. **On the pathogenicity of the rat leprosy bacillus for mouse.** La Lepro, 9: 56.
48. IKEI, S. — 1938. **Beiträge zur serochemischen Reaktion de Rattenlepra. (MHH-Reaktion) La Lepro, 7: 1.**
49. KAHN, M. C. e SCHWARZKOPF, H. — 1932. **Single cell dissociation to the Mycobacterium of "rat leprosy".** Proc. Soc. Exp. Biol. & Med., 29: 571.

50. KAHN, M. C. e SCHWARZKOPF, H. — 1933. **Single cell dissociation of acid fast bacteria.** J. Bact. 25: 157.
51. KOCH, F. — 932. **Die Rattenlepra und ihre Bedeutung für Klinik, Pathogenese und Therapie der menschlichen Lepra.** Zentralb. f. Haut. u. Gesch., 40: 433.
52. KRAKOWER, C. e GONZALEZ, L. — 1940: **Mouse leprosy.** Arch. Path., 30: 308.
53. KDAKOWER, C., MORALES-OTERO, P. e AXTMEYER, J. H. — 1943. **The effect of sulfanilamide on experimental leprosy.** J. Inf. pis., 72: 1.
54. KUDICKE, R. — 1940. **Experimentelle Untersuchungen zur Behandlung der Lepra.** Med. Welt., 14: 30.
55. KUDICKE, R. e VOLLMAR, H.— 1937. **Gewebekulturversuche mit den Bazillen der Rattenlepra.** Zentralb. f. Bact., Orig., 140: 293.1
56. LAIGRET, J. — 1932. **Sensibilité de l'homme lèpreux aux bacilles de La lèpre murine.** Arch. Inst. Pasteur de Tunis, 21: 290.
57. LAMPE, P. H. J. e MOOR, C. E. — 1936. **Ratten-Lepra. IV. Zuurvaaste saprophytes aantekenlngen by het kweekonderzoek van ratten lepra.** **Geneesk. Tydschr. v. Nederl-Indië.** 76: 2147.
- 57.a. LINHARES, H. — 1942. **A lepra murina no Rio de Janeiro (Nota prévia).** An. bras. dermat. sifilogr., 17: 306.
58. LINHARES, H. — 1942. **Verificação da lepra murina na cidade do Rio de Janeiro.** Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 37: 353.
59. LINHARES, H. — 1942. **Contribuição ao estudo da patologia da lepra murina.** Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 37: 543.
- 59.a. LINHARES, H. — 1943. **Exame do tegumento cutâneo e órgãos hemolinfopoiéticos em ratos com lepra murina (nota prévia).** An. bras. dermat. sitlogr., 18: 49.
60. LINHARES, H.— 1943. **Possibilidades de transmissão e vias de inoculação da lepra marina em ratos e outros animais.** Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 38: 321.
- 60.a. LINHARES, H. — 1944. **Estudo sobre a célula leprosa do rato.** Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 40: 183.
61. LOWE, J. — 1934. **A note on the action of chamlmoogra (Hydnocarpus) preparations on M. leprae muris.** Lep. in India, 6: 79.
62. LOWE, J. — 1934. **Studies on rat leprosy.** Indian J. Med. Res., 22: 187.
63. LOWE, J. — 1937. **Rat leprosy.** Intern. J. Lep., 5: 113.
64. LOWE, J. e DHARMENDRA — 1937. **A study of M. leprae muris in tissue cultures and chick-embrios medium.** Indian J. Med. Res., 25: 329
65. MARCHOUX, E. — 1912. **Rôle des infections secondaires dans le développement de la lèpre du rat.** Bull. Soc. Path. Exot., 5: 466.
66. MARCHOUX, E. — 1921. **Une nouvelle maladie à bacille acido-résistant qui n'est ni la tuberculose, ni la lèpre.** Bull. Acad. Med., 85: 317.
67. MARCHOUX, E. —1922. **La lepre du rat est peut-être transmissible à l'homme.** Bull. Acad. Med., 87: 545.
68. MARCHOUX, E. — 1923. **La lèpre durat at sa transmission probable à l'homme.** Paris Med., 49: 313.
69. MARCHOUX, E. — 1923. **La lèpre de l'homme at la lepra du rat.** Ann. Inst. Pasteur, Paris, 37: 342.
70. MARCHOUX, E. — 1933. **La lèpre des rats.** Rev. franç. dermat et vénéréol., 9: 323.
71. MARCHOUX, E. — 1939. **La lepra à la lumière de la pathologic comparée.** Rev. Immun., 5: 523.
72. MARCHOUX, E. e CHORINE, V. — 1932. **Resistance da bacille de la lèpre du rat aux acides et aux alcalis.** Bull. Soc. Path. Exot., 25: 1025.

73. MARCHOUX, E. e CHORINE, V. — 1937. **Traitement de la lépre par le tellure.** Bull. Acad. Med., 118: 86.
74. MARCHOUX, E. e SOREL, F. — 1912. **Lépre des rats-comparaison avec la lépre humaine.** Compt rend. Soc. Biol., 72: 214.
75. MARCHOUX, E. e SOREL, F. — 1913. **La lépre des rats.** Lepra Bibliot. Internat., 13: 171.
76. MARKIANOS, J. — 1928. **Filtration du virus de la lépre des rats.** Bull. Soc. Path. Exot, 22: 410.
77. MARKIANOS, J. — 1929. **Le développement du virus filtrant avant sa transformation en bacilli de la lépre des rats.** Bull. Soc. Path. Exot, 22: 537.
78. MARKIANOS, J. — 1929. **Developpement rapid du virus filtrant de la lépre des rats après inoculation aux jeunes rats.** Bull. Soc. Path. Exot, 22: 758.
79. MARKIANOS, J. — 1929. **L'ultravirus de la lépre des rats.** Bull. Soc. Path. Exot., 22: 896.
80. MARKIANOS, J. — 1930. **Essai de traitement de la lépre des rats par lépre bacilles dégraissés.** Bull. Soc. Path. Exot, 23: 145.
81. MARKIANOS, J. — 1930. **Recherches sur l'accion préventive, sur La lépre des rats, de l'antigène de bacillus dégraissés.** Bull. Soc. Path. Exot., 23: 149.
82. MARKIANOS, J. — 1930. **Application de l'antigène dégraissé de bacilles de la lépre murine dans Le traitement de la lépre humaine.** Bull. Soc. Path. Exot., 23: 150.
83. MARKIANOS, J. — 1930. **Essai de traitement de la lépre murine.** Bull. Soc. Path. Exot, 23: 268.
84. MARKIANOS, J. — 1931. **Lepra et virus filtrable.** Ann. Inst. Pasteur, 46: 292.
85. MEZINOOSCU, D. — 1909. **Maladie lépreuse des rats et lépre humaine.** Compt rend. Soc. biol., 66: 56.
86. MINAMI, S., KAWASAKI, S. e HUZIMOTO, S. — 1937. **Über die serochemische Reaktion bei Lepra.** Jap. J. Dermat & UroL, 42: 37.
87. MUIR, E. — 1933. **The leprolin test.** Lep. in India, 5: 204.
88. NISHIMURA, S. — 1938. **Beiträge zur studie der Rattenlepra.** La Lepro, 9: 77.
89. NISIMURA, S. — 1938. **Kultivierung von Tuberkelbazillen aus scheinbar leprös aussehenden Hous- und - Waaderratten.** La Lepro, 9: 105.
90. OGASAWARA, N. — 1939. **Die säurefesten Bazillen in ihrer Abhängigkeit von äusseren Bedingungen. III. Über die Kultur von Rattenleprabazillen auf eiweissfreien Glycerin-Agar-Nährboden.** La Lepro, 10: 71.
91. OGASAWARA, N. e AMAWAKI, M — 1933. **Komplementbinchmgsreaktion bei Lepra und Syphiliskranken bei gerauch des Rattenlepra bazilfeaextrakts a Is Antigen.** Lues (Kyoto) 10: 9.
92. OGAWA, N. e HARADA, A. — 1936. **Die bakterizide Wirkng von einigen Antileptoticae in vitro.** Jap. J. Dermat. and Urol., 29: 96.
93. OHTAWARA, T. e ICHIHARA, T. — 1932. **A stem of acid proof bacilli cultured from leprous mice.** Zentralb. f. Haut.u. Gesch., 41: 687.
94. OHTAWARA, T., ICHIARA, S. e SHIMIZU, K. — 1939. **Über die Lebensdauer von Rattenleprabazillen auf verschiedenen Nährboden.** La Lepro, 10: 72.
95. OHTAWARA, T. e KAWAMURA, M. — 1932. **Differences between lepra bacillus of the human being and those of mice.** Zentralb. f. Haut. u. Gesch., 41: 687.
96. OHTAWARA, T. e KAWAMURA, M. — 1935. **Studium der Lepra. II. Wie reagiert des Leprakranken auf die intrakutane Injektion von Rattenleprabazillen?** Zentralb. f. Bact. orig., 134: 312.

97. OTA, M. e ASAMI, S. — 1932. **Culture du *Mycobacterium leprae muris***. Compt. rend. Soc. biol., 111: 287.
98. OTA, M. e ISHIBASI, T. — 1934. **Complement fixation reaction of lepers' sera with bacillary antigens**. Intern. J. Lepr., 2: 413.
99. PELTIER, M. — 1936. **Resultats experlmentaux obtenns chez le rat blanc par injections de filtrats de bacilles de Stefansky**. Bull. Soc. Path. Exot., 29: 108.
100. PRUDHOMME, J. — 1934. **Action dra rayons-X suer les lepromes des rats**. Bull. Soc. Path. Exot, 27: 917.
101. PRUDHOMME, J. — 1935. **Influence du pH sur la conservation du bacille de Stefansky en bouillon glyceriné**. Bull. Soc. Path. Exot., 28: 11.
102. PRUDHOMME, J. — 1935. **Resistance des bacilles de Stefansky aux rayons ultra-violets**. Compt. rend. Soc. biol., 119: 1328.
103. PRUDHOMME, R. O. — 1936. **Le glutathion reduit dans la lepre murine**. Compt. rend. Soc. biol., 121: 1167.
104. PRUDHOMME, R. O. — 1936. **Le glutathion total dans le lepre murine**. Compt. rend. Soc. biol., 122: 739.
105. PRUDHOMME, R. O. — 1937. **L'acide ascorbique dans la lèpre murine**. Compt. rend. Soc. biol., 126: 1004.
106. PRUDHOMME, R. O. — 1938. **Conservation du bacille de la lepre du rat dans un milieu ou pousse la bacille de la fiéole**. Bull. Soc. Path. Exot., 31: 815.
107. PRUDHOMME, R. O. — 1938. **Moyen de recoanaitre in vitro si le bacille de Stefansky est mort ou vivant**. Ann. Inst. Pasteur, 61: 512.
108. PRUDHOMME, R. O. — 1939. **Preparation d'une emulsion de bacilles de Sfefansky à partir d'un leprome et evaluation de sa richese**. Bull. Soc. Path. Exot., 32: 136.
109. PRUDHOMME, R. O. — 1939. **Action du bacille de Stefansky sur certains acides aminés, in vitro**. Bull. Soc. Path. Exot., 32: 138.
110. PRUDHOMME, R. O. — 1939. **Affaiblissement de la virulence du bacille de Stefansky par lès rayons ultraviolets**. Intern. J. Lepr., 7: 67.
111. RIBEIRO, F. — 1940. **Murine leprosy and carotinoids**. Intern. J. Lepr., 8: 179.
112. ROW, R. — 1939. **Some experimental observations on human and rat leprosy and their significance in the pathogenesis and treatment of the disease**. Tr. Roy. Soc. Trop. Med. & Hyg., 32: 497.
113. SALLE, A. J. — 1934. **Acid fast organism from leprous lesions, cultivation in tissue cultures and other mediums**. J. Inf. Dis., 54: 347.
114. SATO, M. — 1938. **Rattenlepra: IV. Bakteriologische-serologische untersuchungen**. Jap. J. Dermat. & Urol., 43: 16.
115. SATO, M. e SATO, Y. — 1934. **Rattenlepra: auf Kulturen**. Jap. J. of Dermat., 35: 90.
116. SATO, M. e SATO, Y. — 1935. **Intrakutanreaktion nach Mitsuda auf Lepröse und leprösen Ratten**. Jap. J. Dermat & Urol., 38: 69.
117. SATO, Y. — 1938. **Therapentischen Einfluss verschiedener Medikamente auf die Rattenlepra**. Jap. J. Dermat. & Urol., 42: 71.
118. SATO, Y. — 1938. **Medical treatment of rat leprosy**. La Lepro., 9: 56.
119. SCHMITT, L. S. — 1911. **On the relation between rat and human leprosy**. Univ. of California Public. in Pathol, 2: 29.
120. SEIDL, C. — 1925. **Questões relatives à lepra**. Diario de Medicina, 2: 44.
121. SOULE, M. H. — 1935. **The relationship of human leprosy and rat leprosy**. Intern. J. Lepr., 3: 291.
122. SOUZA-ARAÚJO, H. C. — 1938. **The morphology of Stefansky bacillus (*Mycobacterium leprae murinum*) according to experimental resear-**

- ches carried out with material, from England, France and Germany.** Cong. Int. de la lèpre, Cairo, 2: 38.
123. SOUZA-ARAUJO, H. C. — 1942. **Os bacilos de Hansen e de Stefansky.** Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 37: 11.
124. SOUZA-LIMA, M. — 1938. **Estudo critico do "test" lepromina (Reação de Mitsuda).** Rev. Bras. Lepro. 6: 443.
125. SUWO, M. e KIN, S. — 1939. **Über die Züchtung von Leprabazillen auf Gewebeskulturen. II. Mitteilung. Versuche mit Rattenlepra bazillen.** La Lepro., 10: 69.
126. TAKAGI, Y. — 1921. **Pathologisch-anatomische sowie bakterologische Untersuchungen über Rattenlepra.** Chugai Iji Shimpo, 41: 343.
127. TAKAGI, Y. — 1931. **On the pathological and bacteriological study of rat leprosy.** Chugwai Iji Shimpo, no. 934.
128. TANGUY, Y. — 1937. **Reaction à la tuberculin chez le cobaye et le lapin inoculés de bacilles de Stefansky.** Bull. Soc. Path. Exot., 30: 836.
129. TANGUY, Y. — 1937. **Action de l'oléate et du laurate d'éthyle sur l'évolution de la lepre murine experimentale.** Bull. Soc. Path. Exot., 30: 848.
130. TERADA, M. e NOZAKI, M. — 1937. **Studies concerning human and rat lepra bacilli and the other acid fast organisms. II., Biological studies on the so-called nonpathogenic acid fast bacteria.** Kitasato Arch. Exp. Med., 14: 142.
131. TERADA, M., TERADA Y. e NOZAKI, M. — 1936. **Studies concerning human and rat lepra bacilli and the other acid fast organisms. I. Biological studies on human and rat lepra bacilli.** Kitasato Arch. Exp. Med., 13: 333.
132. THIROUX, A. — 1935. **Essais de chimiothérapie de la lepra du rat.** Bull. Soc. Path. Exot., 28: 18.
133. TISSEUIL, J. — 1932. **Première serie d'essais de traitement de la lepre chez le rat.** Bull. Soc. Path., Exot., 25: 969.
134. TISSEUIL, J. — 1933. **Nouvelle serie de traitement de la lepre du rat.** Bull. Soc. Path. Exot, 26: 579.
135. TISSEUIL J. e CHORINE, V. — 1934. **La coloration par la fuchsine ne tue pas le bacille de Stefansky.** Bull. Soc. Path. Exot., 27: 224.
136. UCHIDA, M. — 1923. **Sur les microbes acido-resistants isoles des rats lépreux.** Saikingaku Zasshi, no. 328; sumario: Jap. Med. World, 3: 190.
137. UCHIDA, M. — 1923. **On some serum reaction in rat leprosy and tuberculin reaction, with special reference to these reactions in human leprosy.** Saikingaku Zasshi, no. 329.
138. UCHIDA, M. — 1935. **An experimental study on the relation between various nutriments and leprous affection.** La Lepro., 6: 7.
139. URABE, K. — 1936. **Experimental studies of "ultravirus" of tubercle, rat leprosy and saprophytic acid-fast-bacilli.** J. Orient. Med. (2 Abstr. sect), 25: 38.
140. URABE, K. — 1938. **On the virulence of B. leprae mums and on the influence of sexual hormon against the development of rat leprosy.** La Lepro, 9: 92.
141. URABE, K. — 1939. **Influence of non-acid-fast Mycobacterium leprae mums against the development of rat leprosy.** La Lepro, 10: 68.
142. VALTIS, J. e MARKIANOS, J. — 1930. **Influence de BCG sur la lepre murine.** Compt. rend. Soc. biol., 103: 483.
143. VILLELA, G. G., e LINHARES, H. — 1943. **Lipideos na pele de ratos com lepra murina.** Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 38: 61.
144. WALKER, E. L. — 1929. **Some new aspects of the etiology and endemiology of leprosy.** J. Prey. Med., 3: 167.

145. WALKER, E. L. e SWEENEY, M. A. — 1929. **The identity of human leprosy and rat leprosy.** J. Prey. Med., 3: 235.
146. WALKER, E. L. e SWEENEY, M. A. — 1935. **Cultivation of facultative acid-fast bacteria from filtrates of rat leprosy and of human leprosy.** J. Inf. Dis., 56: 97.
147. WALKER, E. L. e SWEENEY, M. A. — 1935. **Embryonic and tumor tissues as culture media for the microorganism of rat leprosy.** Am. J. Trop. Med., 15: 507.
148. WATANABE, Y. — 1936. **Experimental studies on animals concerning leprosy. VII Filtration tests of virus of rat leprosy.** Kitasato Arch. Exp. Med., 13: 348.
149. WATANABE, Y. e NONAKA, N. — 1939. **On the placental infection of the fetus of white rat by rat lepra bacillus.** Kitasato Arch. Exp. Med., 16: 9.
150. WELLMAN, C. e HAND, A. — 1912. **Experiments with culture media suitable for use in the tropics.** J. Trop. Med. & Hyg., 15: 306.
151. WHERRY, W. B. — 1909. **Experiments on the vaccination against rat leprosy.** J. Inf. Dis. 6: 630.
152. WOLBACH S. B. e HONEIJ, J. A. — 1914. **A critical review of the bacteriology of human and rat leprosy.** J. Med. Res., 29: 367.
153. YATSUSHIRO, G. — 1939. **Über die Wirkungen von Desinfektionsmitteln auf die sogenannte saprophytischen säurefesten Bazillen.** La Lepro, 10: 71.
154. ZINSSER, H. e CAREY, E. — 1912. **A contribution to the study of rat leprosy.** J. Am. Med. Assoc., 58: 692.

CARTONAGEM PROGRESSO LTDA.

Rua Antonio Afonso, 237

JACAREI

ESTADO DE SÃO PAULO

**ESPECIALIDADE EM CAIXAS PARA FAR-
MACIAS E LABORATORIOS**

NAS CONVALESCENÇAS:

SERUM NEURO-TRÓFICO



**TÔNICO GERAL — REMINERALI-
ZADOR — RECONSTITUINTE — ESTIMULANTE —**

Medicação seriada

INSTITUTO TERAPÊUTICO ORLANDO RANGEL
Rua Ferreira Pontes, 148 — Rio de Janeiro.

LABORATORIO KALMO

Secção Industrial de VICENTE AMATO SOBRINHO & Cia.
SÃO PAULO

HEPACRITAN COFA

**Princípio antitoxico do Fígado, segundo o metodo de
Forbes.**

Cada ampola de 1 cc. contem:

Fração antitoxica do Fígado: 1 Un. Rato
(Correspondente a 50 grs. do órgão)

INDICAÇÕES

**Molestias hepaticas — Intoxicações exogenas e endoge-
nas — Toxiemias infecciosas — Pre e post-operatorio —
Prevenção dos accidentes toxicos no emprego dos arseno-
benzois e da sulfanilamida — Estados alergicos — Ure-
mia e Toxiemias gravidicas, etc..**

USO INTRAMUSCULAR

ESTRONCIANYL

METILGLOXILATO DE ESTRÔNCIO DIETILENDIAMINA

Ampolas de 2 e 5 cc.
para uso endovenoso ou intramuscular



**DESSENSIBILIZANTE. INDICADO NAS
DOENÇAS ALÉRGICAS, ECZEMAS, PRU-
RIGOS, URTICÁRIA, DIÁTESE
EXUDATIVA.**



LABORATORIOS BIOSINTETICA S. A.
PRAÇA OLAVO BILAC, 105 — SÃO PAULO
Consultores científicos:
Drs. Profs. Mario Artom e Alexandre Seppilli

EUCLORINA

(Toluenparasulfonchloramido de sodio)

Antiséptico - Desodorante - Detersivo - Cicatrizante

Substitúe perfeitamente o comum Líquido de Dakin, com a vantagem de uma eficácia antisséptica maior, melhor tolerabilidade local, mais longa conservação.

Para aplicações Cirúrgicas e Ginecológicas



Em caixas com 1 tubo de 5 grs. de pó

Em caixas com 8 tubos de 2,50 grs. de pó

Extremamente praticos para a preparação extemporanea da solução, na titulação desejada.

Em frascos de 100 e de 500 grs., para Ambulatórios e Hospitais.

LAB.º ZAMBELETTI LTDA.
Caixa Postal, 2069 — SÃO PAULO