

Formas Gram-positivas do *M. Leprae* de lesões leproticas bacteriologicamente negativas para organismos acido-resistentes.

(Nota previa)

J. Rodriguez. E. labalay e J. C. Tolentino.

Bureau of Health.

Traduzido de Philippine Journal of Science.

Vol. 51, n.9 4 — August 1933.

Imaginou MUCH (I) em 1907 varios metodos de coloração afim de determinar se se pode demonstrar a presença do bacilo da tuberculose em lesões tuberculosas, como o "perlsucht" no gado e nos abscesso frios do homem, nos quais é muitas vezes, impossivel encontrar bacilos acido-resistentes em esfregaços quando pela cultura e experimentações patogenicas demonstra-se a presença de bacilos. Apresenta argumentos convincentes de que, sob certas condições, o bacilo da tuberculose pode estar presente nos tecidos sob a forma de granulações anacidas.

Seu metodo de maior sucesso foi corar o esfregaço com anilina-violeta de genciana, ou metil.violeta B. N. a 37.° C. durante 24 a 48 horas, tratar, então, pela solução de Lugol, e descorar por uma mistura de alcool absoluto e olio de cravo. Obtinha-se tambem o descoramento usando sucessivamente acido azotico a 3% (I minuto), acido clorhidrico a 3% (to segundos) e finalmente partes iguais de acetona e alcool absoluto. Em preparações de tuberculos miliares de um bezerro que fora inoculado com bacilos bovinos virulentos, não conseguiu encontrar bacilos quando os cortes eram corados pelo processo Ziehl-Neelgen, mas nas preparações coradas pelo seu metodo proprio encontrou muitos bastonetes finos, aos pares ou em cadeias curtas assemelhando-se a bandos em rosario.

Examinando os tuberculos diariamente, encontrou bastonetes finos e granulações em esfregaços 3 dias após a inoculação, ao passo que pelo metodo de Ziehl-Neelsen, nenhum organismo se encontrou senão depois do 6.° dia.

C6rtes de tecido pulmonar positivos pelo metodo de Much e não apresentando organismos acido-resistentes deram origem a uma tuberculose generalizada, fatal em 8 semanas quando injetados subcutâneamente em porcos da Guine. Encontraram-se bacilos acido-re-

sistentes nos tecidos dos animais mortos. Resultados semelhantes obtiveram-se com material tuberculoso de varias proveniencias. Much concluiu que:

1 — Ha uma forma granulosa anacida-resistente do bacilo da tuberculose que pode ser evidenciada pelo seu metodo.

2 — Esta forma granulosa pode ser a unica forma coravel do bacilo da tuberculose presente nos orgãos tuberculosos.

3 — A forma granular pode acompanhar-se de finos bastonetes que, igualmente, são acido-resistentes.

4 — As formas granulares são virulenteas.

5 — Ha formas de transição entre as granulações gram-positivos e os finos bastonetes gram-positivos e os bastonetes e granulações acido-resistentes.

Na Revista que contem a nota do trabalho de Much ha um outro artigo de MICHAÉLIDES (2) que, utilizando as modificações do Gram-Nicolla, bem como as de Loeffler-Giemsa, encontrou tambem formas anacido-resistentes do bacilo da tuberculose.

Usando as modificações de MUCH ou as de MICHAELIDES do Gram veem-se as granulações tuberculosas como corpos ovais ou arredondados, definidos, bem limitados, com cerca de 0,5 micron de diametro. Ordinariamente estão corados em purpura-escuro, quasi negro, se bem que possa haver um matiz azul ou amarelo. Pode-se os encontrar isolados ou mais frequentemente, em fileiras de 2 a 5 ou em cacho. Pode-se usualmente ver uma tenue faixa azulada, amarelada ou pardacenta ligando as granulações, o que sugere tratar-se do corpo de um bacilo no interior do qual ou sobre o qual, estão as granulações. Se não existir esta faixa não devem ser aceitas como verdadeiras granulações de MUCH.

Metodos

Não conhecendo trabalho algum anterior sobre o assunto, tenta-mos demonstrar a presença de formas anacido-resistentes do *M. Leprae* em lesões leproticas da pele, persistentemente negativas para organismos acido-resistentes.

Depois de preparados os esfregaços de lesões cutaneas pelo metodo usual e fixados pelo calor, seguem-se passo a passo a modificação de Much do Gram. As preparações coradas não foram satisfatorias a principio, e a percepção de quaisquer organismos Gram-positivos que correspondessem aos bastonetes e ás granulações de Much quasi impossivel em virtude da presença de corantes precipitados, micrococos e impurezas da superficie da pele, porém, particularmente em virtude de numerosas granulações de queratina da camada granulosa da epiderme.

Afim de reduzir ao minimo esta dificuldade estudaram-se primeiro numerosos esfreganos de lesões ricas em bacilos acido-resistentes.

Depois da fixação pelo calor, tratavam-se os esfregaços por soluções de bicarbonato de sodio e antiformina em diluições idênticas às empregadas no preparo do esputo para a pesquisa de bacilos acidoresistentes, depois do que eram coradas segundo o método de Mucti. Se bem que este processo seja complicado e muitos, senão todos os organismos acarretados, a preparação tornou-se mais clara e as possibilidades de erro ficaram consideravelmente reduzidas.

Depois de numerosas experimentações, adotou-se por certo tempo, como rotina, o seguinte método

1. Fixar o esfregaço pelo calor. E' preferível deixar a lamina em repouso, por 4 a 6 horas antes de corar. Quando corada muito cedo, grande parte do tecido pode ser acarretada nos tempos 2 e 3.

2. Cobrir o esfregaço com uma solução de carbonato de sodio a 2 % A duração depende da espessura do esfregaço e é habitualmente de 5 a 30 minutos. Retirar o excesso.

3. Cobrir com antiformina e deixar em repouso por 5 a 10 minutos. A antiformina deve ser recente. Retirar a antiformina e lavar. Fixar de novo, docemente pelo calor.

4. Cobrir com um dos seguintes corantes : a) solução alcoólica saturada de Metil-violeta B. N., 1 parte; fenol a 2%, 10 partes. b) solução alcoólica saturada de violeta-genciana, 1 parte ; fenol a 1%, 9 partes. c) solução alcoólica saturada de violeta-genciana, 1 parte; agua saturada de anilina, 3 partes.

5. Retirar o excesso e adicionar solução de Lugol; deixar ficar durante 1 minuto. Lavar rapidamente. Não usar papel de filtro, visto que adiciona impurezas e precipita corantes na preparação.

6. Tratar com acido a 5% durante 1 minuto. Retirar o excesso; não lavar.

7. Aplicar acido clorídrico (HCl) a 3% durante 20 segundos. Retirar o excesso.

8. Descorar pingando acetona e alcool absoluto (partes iguais) até que não mais seja removido corante.

9. Lavar em agua destilada.

10. Sem secar, contra-corar durante 3 a 5 minutos pelo pardo de Bismark.

Ainda que este método tenha vantagem de ser rápido, barato e aceitável como rotina, obtem-se preparações muito melhores usando recipientes de corar nos quais as laminas são colocadas de bordo. Alguns recomendam, que se core no tempo 4, a preparação seja com a violeta-genciana ou metil-violeta B. N., durante 24 a 48 horas a 37.º C. , mas pela nossa experiencia, a temperatura da sala é suficiente. Isto dá resultados muito mais satisfatórios que o aquecimento da lamina. Necessita-se um pouco de pratica para evitar que o material seja completamente retirado da lamina.

Por qualquer dos metodos citados, o *M. Leprae* cora-se como um bastonete solido ou, mais frequentemente, como um bando granular. As granulações são definidas, bem limitadas, arredondadas ou ovais, com um diametro de 0,3 a 0,6 micron e são purpuras ou quasi negras. Ha habitualmente de 2 a 5 granulações para cada organismo. Ligando as granulações ha uma faixa pardacenta ou amarelada sugerindo o corpo de um bacilo no qual estão incrustadas as granulações. Quando se comparam os esfregaços de lepromas reconhecidamente ricos em bacilos acido-resistentes, pelo metodo de Ziehl-Neelsen, e os tratados por este metodo, nota-se que é consideravelmente menor o numero de organismos com o Gram modificado. As globias tambem são menos numerosas. Atribue-se isto A perda de muitos bacilos no tratamento preliminar pelas soluções de carbonato do sodio e de antiformina.

Por esta importante razão, na ultima parte do trabalho, quando já mais familiarizados com a aparencia das formas Gram-positivas, omitimos os tempos 2 e 3 e a lamina com o corte fixado era corada diretamente.

Suspeitando que tanto as formas acido e anacido-resistentes possam estar presentes na mesma lesão, experimentámos varias combinações para acido-resistentes e pelo Gram na mesma preparação. Usando o processo de FONTES, a preparação foi corada, primeiro com carbol-fucsi-na descorada com acido-alcool, acompanhada pelo metodo comum de Gram, contra-corando, contudo, pelo pardo Bismark. Os bacilos acido-resistentes apareciam como bastonetes vermelhos ou amarelados com granulações violeta, ao passo que os que não possuíam propriedades acido-resistentes totais apresentam-se como linhas violetas em zigzag. Pela nossa experiência, contudo, tantos bacilos acido-resistentes são assim corados com violeta que é muito dificil distingui-los dos supostos bacilos parcial ou totalmente acido-resistentes.

Experimentamos tambem corar a preparação primeiro com o carbolfucsina e depois descorala pelo acido, segundo o metodo de MUCH. Todos os bacilos tomaram somente o Gram.

Quando se usou primeiro o metodo de Mum, e imediatamente seguido pelo Ziehl-Neelsen, usando o pardo Bismark como contracoloração observou-se que uma grande porcentagem retinha o Gram. Em alguns bacilos vimos 1 ou 2 granulações que retiveram o Gram e o resto das granulações no mesmo organismo apresentava acido-resistencia. Consideramo-los como formas de transição.

Demonstraram-se tambem bacilo parcialmente acido-resistentes e anacido-resistentes nas preparações ordinarias coradas de acordo com o metodo de Ziehl-Neelsen. Quando se faz a coloração cuidadosamente, ver-se-ão em algumas preparações, particularmente aquelas que apresentam muitos organismos fragmentados ou granulações acido-resistentes, que alguns dos bacilos, ou granulações

no interior dos bacilos, estão descoradas e receberam o contra-corante.

Afim de evitar erros possíveis, consideramos na presente nota só as formas Gram-positivas anacido-resistentes, em que as granulações estavam dispostas em fileiras — em outras palavras as formas bacilares. Afim de serem aceitas como verdadeiras granulações de Much tinham elas que estar ligadas pela tenue faixa pardacenta ou amarelada. Se incluíssemos granulações isoladas ou em cacho poderíamos apresentar um numero maior de positivos, especialmente entre os casos iniciais de lepra com lesões "fechadas". No final das investigações de que trata esta comunicação, estávamos seguros de sermos capazes de distinguir muitas destas granulações isoladas ou em cacho de outras granulações em numerosas de nossas preparações. Contudo, como já se afirmou, a menos que estivessem também presentes as formas bacilares, tais casos eram registados como negativos.

Deve-se admitir que mesmo com a melhor tecnica os bacilos sic) sempre mais difíceis de diferenciar pelo Metodo de MUCH que pelo Ziehl-Neelsen.

Por isso necessita-se mais cuidado, que habitualmente, na coloração por aquele metodo para assegurar resultados satisfatorios. Em primeiro lugar, a lamina deve estar cuidadosamente limpa, isenta de gordura. O esfregaço deve conter a menor quantidade possível de soro e sangue. Muitas vezes o sucesso do metodo depende do descoramento : se escasso, aparecerão numerosas granulações estranhas, se demasiado as granulações não apresentarão a côr purpura escura ou azul escura típica.

Resultados

O quadro I dá a classificação dos pacientes examinados e a percentagem encontrada positiva pelo Ziehl-Neelsen e pelo MUCH.

QUADRO I

Afim de que se compreenda a significação destes resultados é necessario descrever aqui rapidamente o regulamento do "BUREAU OF HEALTH" sobre os exames a que devem se sujeitar todos os candidatos ao "paroled".

Logo que um caso previamente "aberto" é declarado clinicamente inativo e bacteriologicamente negativo pelo seu medico, é apresentado a uma comissão local que o examina pelo menos 10 vezes durante o penado de 1 ano, que deve ser passado em segregação. Os 4 primeiros exames, devem ser passados com exito durante os 3 primeiros mezes, periodo que é conhecido como "periodo pré-quiesscente" (abreviado QT?). Durante os 9 mezes seguintes, conhecidos como "periodo de prova da quiesscencia" (abreviado QT ?), pelo menos 4 exames devem ser feitos pela comissão examinadora local. Em adição, o candidato deve ser examinado pelo menos 2 vezes pelo "National Disposal Committee", enviado de Manila pelo escritorio do Bureau Of Health.

Qualquer candidato que, em um destes exames, seja bacteriologicamente positivo ou apresente sinais de atividade é retirado da lista para recommençar desde o inicio, quando se torne de novo bacteriologica ou clinicamente negativo, tiram se 8 esfregaços, em media, em cada exame, de modo que de 70 a 50 esfregaços de cada paciente devem ser negativos consecutivamente antes que possa tomar-se candidato a "paroled"; estes exames eram feitos por 4 bacteriologistas diferentes nos varios periodos de pre-quiesscente e periodo de prova. Apesar destas precauções encontram-se positivos no 10.º ou ultimo dos exames antes do parole.

Exige-se dos "quiesscentes em parole" um exame de cada 3 mezes durante um periodo de 2 anos, e depois 1 cada 6 mezes num periodo de 4 anos. Na verdade, contudo, só uma pequena proporção de casos é axaminada regularmente depois do parole.

A ultima visita do "Committee" á Estação para Tratamento de Crianças de Eversley foi feita nas segunda e terceira semanas de Janeiro de 1933. Retiraram-se esfregaços para a coloração de Much de alguns pacientes examinados pelo Committee em um periodo de mês antes e 1 mês depois da visita do mesmo.

II dos 33 casos pre-quiesscentes foram positivos e 10 negativos tanto pelo Ziehl-Neelsen como pelo Much. 8 foram negativos para acido-resistentes, mas positivos para bacilos anacido-resistentes. Em 4 outros casos encontraram-se as formas acido-resistentes mas faltaram pelo metodo de Much.

Entre os 42 em periodo de prova de quiesscencia, II foram positivos pelo Committee dos quais 7 foram tambem positivos pelo Much e 3 foram negativos. Em 1 caso o Committee encontrou bacilos acido-resistentes de 1 local não examinado pelo Much. Dos 20 positivos pelo Much, 7 tambem eram positivos para acido-resis-

tentes, como já se afirmou, e 13 ou 30,95% não Apresentavam quaisquer organismos pelo Ziehl-Nielsen. Chama-se atenção ao fato que só em alguns casos foram demonstrados bacilos acido-resistentes em que estavam ausentes pelo Much, as formas acido-resistentes em tais esfregaços eram muito poucas.

8 ou 17,77% dos 45 candidatos a parole foram positivos pelo Committee e retirados da lista. 23 dos mesmos 45 pacientes, ou 51,11%, foram positivos com o Gram. Dos 8 casos positivos achados pelo Committee para bacilos acido-resistentes, 4 foram positivos em lugares não examinados pelo Much, e em 2 casos este processo não demonstrou a presença de organismo demonstrada pelo metodo de Ziehl-Neelsen. 2 outros pacientes foram positivos com os dois processos. Dos 23 casos positivos cam Much, 2 foram positivos para bacilos acido-resistentes pelo Committee, como já se mencionou, 5 foram positivos em lugares não examinados pelo Committee mas examinados por nós pelo Ziehl-Neelsen, 15 foram negativos para acido-resistentes nos mesmo lugares para o Committee e para nós. Por isso, em 15 dos 45 candidatos a parole, ou 33,3%, foi possível mostrar a presença de bacilos anacido-resistentes em esfregaços de lugares dados como negativos para bacilos acido-resistentes, pelo Committee e por nós.

Só 48 quiescentes em parole puderam ser examinados, 14 dentre eles foram negativos, e 6 foram positivos tanto pelo Ziehl-Neelsen como pelo Much. 26 foram positivos só pelo Much e negativos para acido-resistentes ao passo que só 2 mostraram esta forma de *M. Lefrae*, que não pode ser demonstrada pelo Much.

Deve-se notar no Quadro I que enquanto a proporção dos positivos para acido-resistentes diminue gradativamente do pre- quiescente para os quiescente sob parole, a proporção de positivos pelo Much não apresenta tal relação.

Casos fechados de lepra são pacientes que apresentam lesões clinicas definidas de lepra, mas que nunca foram positivos bacteriologicamente nos exames de rotina para bacilos acido-resistentes. 52 destes casos foram negativos e 26 positivos com o Mum, De fato em nenhum deles encontraram-se bacilos acido-resistentes, se isso acontecesse seriam declarados casos "abertos". Não conseguimos demonstrar bacilos anacido-resistentes nas maculas acromicas com apparencia de atrofia da pele, ou que mostrassem evidencia de retorno A pigmentação normal. Todas as maculas em que se encontraram formas anacido-resistentes apresentavam evidencia clinica de atividade, com bordos elevados ou coloração arroxeadas, tanto nos bordos como no centro, ou em toda a lesão. Em não poucos destes casos fechados de lepra, as formas anacidos-resistentes existiam em grande numero.

Muitos esfregaços de suspeitos de lepra e de pessoas com molestias da pele, agudas e cronicas, foram tambem examinados pelo me-

todo de coloração das granulações de MUCH. Dois foram positivos. Em um diagnosticou-se sarcoide (?) e o outro tinha o que parecia ser um eczema crônico da parte anterior das pernas, no qual se suspeitava também de lepra.

Deve-se afirmar que, como regra, só alguns bacilos anácidos-resistentes podem ser demonstrados pelo nosso método atual de coloração. Ocasionalmente porém, tais formas foram numerosas em alguns dos casos incipientes ou fechados de lepra que examinamos.

Todos os pacientes examinados pelo processo de coloração de MUCH serão acompanhados cuidadosamente no futuro de modo a determinar se maior número deles tornar-se-á positivo para as formas ácido-resistentes, entre os que abrigavam bacilos anácido-resistentes do que entre os que não apresentavam tais formas de *M. leprae*.

Notas

Enquanto prosseguíamos nesta investigação chegou-nos um artigo de HOFFMANN (3), mas não pôde ser traduzido senão depois de terminado o trabalho discutido nesta nota previa. Tratando das formas granulares do bacilo da lepra que ele pode evidenciar tanto pelo Glum como pelo ZIERL este pesquisador chega á, conclusão que ha 2 tipos destas granulações

1 — formas de degeneração apresentando variabilidade em tamanho e de propriedades corantes. Estas são vistas principalmente em casos que melhoravam com o tratamento

2 — granulações jovens que representam especialmente formas resistentes necessárias no ciclo vital do bacilo da lepra. Estes encontram-se nas lesões recentemente desenvolvidas e no soro sanguíneo de casos que nunca foram tratados.

KLINGMILLER (4) mostrou que as granulações correspondendo aos corpusculos de Much na tuberculose podem ser demonstrados na lepra pelo uso cuidadoso da coloração pelo Ziehl-Neelsen e que estas granulações eram capazes de produzir reação tissular. Por isso, ele concluiu que não podiam ser consideradas como meras partículas mortas do bacilo.

Segundo o mesmo autor, MARCHOUX é de opinião que estas formas granulares sejam virulentas e provavelmente sejam formas mais resistentes do que o bacilo típico. PALDROCK também é citado, afirmando que as granulações representam elementos reprodutores.

Deve-se notar que nenhum dos pesquisadores citados mencionou as formas Gram positivas não demonstráveis pelo Ziehl-Neelsen. Tanto quanto sabemos tais formas descritas primeiro por ARNING e LWEANDOWSKY (5) em importante artigo que lemos depois da conclusão de nossos estudos.

Tornando a corar pelo Much velhos cortes que tinham sido corados anteriormente seja pelo Lusgarten ou pelo Ziehl, ARNING e LWEANDOWSEY obtiveram os seguintes resultados em 4 casos :

1.º caso — Onde primitivamente não se podia demonstrar bacilos, encontraram-se pelo metodo de Much bacilos isolados Gram-positivos com a forma e dimensões do bacilo da lepra.

2.º caso — Este caso apresentava excepcionalmente numerosos bacilos, muitas vezes o numero achado primitivamente por KUHNE e DOETRELEPONT.

3.º caso — Em um caso precoce de lepra anestésica, encontraram-se formas Gram-positivas nas secções de nervos que não apresentavam bacilos pelo Ziehl.

4.º caso — Em um corte do segundo caso de lepra tuberculoide relatado por JADASSOHN, a coloração pelo Much evidenciou bacilos isolados, caracteristicamente formados, dentro da infiltração tuberculoide. JADASSOHN pode demonstrar a presença de bacilos acido-resistentes com dificuldade neste caso particular. Pesquisas repetidas e cuidadosas de bacilos acido-resistentes neste corte por ARNING e LWEANDOWSKY deram resultados negativos.

Discussão

A descoberta de bacilos e granulações anacido-resistentes nas lesões de lepra negativos para acido-resistentes sugere a possibilidade de poder ter o *M. Leprae* uma forma ou fase anacido-resistente, como pretendem algumas autoridades ser o caso do B. Tuberculoso. Que tais formas não são meramente bacilos da lepra degenerados esta provado pelo fato de se encontrarem em algumas das maculas bacteriológicamente negativas dos casos precoces ou de casos fechados de lepra.

Viram-se as formas Gram-positivas anacido-resistentes em esfregaços da pele de cerca de 1/3 dos pacientes com lesões leproticas que eram negativas para organismos acido-resistentes, independentemente de terem tais pacientes recebido ou não tratamento e serem formas "fechadas" ou "quiescentes" ou negativas sob parole. Por isso nossas pesquisas sugerem que as formas anacido-resistentes não sejam influenciadas pelo tratamento chalmogrico.

Além disso, estas formas não foram vistas na pele dos casos de maculas acromicas anestésicas iniciais e raramente na lepra nervosa pura. A' parte essas exceções, os bacilos anacidos-resistentes encontrados na pele não parecem limitados a qualquer estadio particular da doença.

Nossos estudos com a colaboração de Much na lepra, cumulativa a exames simultaneos com o Ziehl-Neelsen usual, conduz-nos a adiantar a teoria que o progresso da lepra no corpo humano seja provavelmente como segue :

Nas maculas acromicas muito iniciais, bem como no tipo maculo-anestesico inicial de lepra, pode o *M. Leprae* estar presente numa forma ainda não demonstravel que causa uma reação distinta nos tecidos manifestada pela infiltração por celulas redondas ao redor dos capilares e arteriolas. Esta forma irreconhecida tem predilação nitida pelos nervos cutâneos sensitivos. E possivel que os organismos neste estadio sejam tão pequenos a ponto de ser ultrr-microscopicos, ou que nenhum metodo de coloração esteja ainda aperfeiçoado para sua demonstração.

Presume-se que quando o organismo cresce gradativamente a natureza da resposta tissular transforma-se gradativamente até que quando são demonstraveis pelo Much, o quadro patologico da lesão terá tomado o arranjo "tuberculoide" tipico. Da natureza da resposta tissular, caracterizada pela proliferação celular de aspecto endotelial, pode se presumir que a principal defeza do corpo nesta fase está na atividade fagocitaria destas e de celulas semelhantes do sistema reticulo- endotelia I.

Mais tarde, devido talvez á evolução de um tempo necessario no ciclo vital do organismo invasor, ou a alguma alteração nos tecidos do hospedeiro, os bacilos tornam-se acido-resistentes e os fagocitos não são mais capazes de dispor deles. Consequentemente os bacilos proliferam dentro das novas celulas, fagocitos impotentes, para constituir as bem conhecidas celulas leproticas. Usando os metodos de coloração supravitais, KOIKE (6) demonstrou serem estas celulas verdadeiros histiocitos, segundo a classificação de SABIN. Os bacilos acido resistentes podem ser tambem fagocitados pelos monocitos e leucocitos polinucleares do sangue e são assim distribuidor a outras partes do corpo.

Quando os bacilos acido-resistentes começam a aparecer as lesões tornam-se tambem avermelhadas devido a não-formação de pequenos vasos sanguineos. Lesões novas aparecem nos lugares de predileção, tais como o lobo da orelha, etc, devido a disseminação dos bacillos pelos monocitos e leucocitos polinucleares. Neste periodo uma proporção variavel de bacilos permanece anacido-resistente.

WALKER AND SWEENEY (9) e SCHOEBE (8) mostraram que o chalmogra e olios correlatas e seus derivados possuem um indubitavel efeito especifico inibitorio *in vitro* contra as bacterias acido-resistentes como o bacilo da tuberculose. Esta propriedade não se manifesta em relação aos micro-organismos anacido-resistentes.

E' possivel que o olio de chalmogra possa tambem exercer um efeito semelhante *in vivo* em relação ao periodo acido-resistente do *M. leprae* mas não em relação ás formas anacido-resistentes. Por isso, a administração deste olio, particularmente pelo metodo intra-cutâneo ou "plancha" no qual o medicamento é posto em contacto mais ou menos direto com os organismos acido-resistentes, pode produ-

zir-lhes a destruição e eliminação, juntamente com melhoria ou desaparecimento da infiltração, nodulos e outras manifestações de atividade da doença. O paciente pode tornar-se, então, um caso quiescente ou negativo sem quaisquer manifestações de atividade e ser negativo para acido-resistentes, mas ainda abrigar bacilos anacido-resistentes.

Quando tais negativos sofrem uma recidiva, significa simplesmente que alguns dos bacilos anacido-resistentes gram-positivos tornaram-se novamente acido-resistentes.

Percebemos que esta hipótese explicativa do desenvolvimento das lesões leproticas basea-se em provas incompletas presentemente; de fato, talvez este difícil problema não seja resolvido definitivamente enquanto a doença não for transmitida com exito e animais de laboratorio.

A presença de um possível periodo anacido-resistente gram-positivo no ciclo vital de *M. leprae* é também sugerido pelos trabalhos de VANDREMER SÉZARY e BRUNN (9) que, usando um filtrado de baço leprotico que atravessou uma vela L. 3 e que permaneceu aparentemente esteril em diversos meios durante nove mezes, conseguiram subsequentemente obter pseudo-meningococos corados pelo Gram que mais tarde desenvolveram-se em bacilos acido resistentes.

CONCLUSÕES

1.º) pelo emprego do metodo de Much é possível demonstrar á presença de formas gram-positivas de *M. leprae* numa percentagem consideravel de lesões leproticas que não contem bacilos acido-resistentes;

2.º) Que muitos destes bacilos anacido-resistentes não são puramente formas degeneradas pode-se julgar do fato que são numerosas em muitos casos dos chamados fechados, incipientes que não sofreram tratamento.

REFERENCIAS

- 1 — MUCH, H. Beitr. zur Klinik. de Tuber. 8 (1907) 85.
- 2 — MICHAÉLIDES, N. A. Belt. zur Klini. d. Tuberc. 8 (1907) 79.
- 3 — HOFFMANN, W. H. Krankheitsforschung 8 (1929) 59-69.
- 4 — KLINGMUELLER, Handbuch der Haut and Gesahl. Krank. Berlim 1930.
- 5 — ARNING, E. D. a F. LWEANDOWSKY. Deutsch. Med. Woehens. 35 (1909) 1225.
- 6 — KOIKE, T. Jap. Journl of Dermat. and Urol. 29 (1929).
- Z — WALKER AND SWEENEY — Journl. Inf. Die. 1 (1920) 1.
- 8 — SCHOESL. O. Philip. Journl. Solen. 23 (1923) 533-541.
- 8 — VANDREMER, SÉZARY a C. BRUN — Review in Leprosy 26 (1932) 550.