

ESTUDO MORFOLÓGICO E QUANTITATIVO DO MÉTODO DE HALBERG NA COLORAÇÃO DO BACILO DA LEPROSA.

GUILHERME V. CURBAN
Biologista do Instituto Adolfo Lutz.

I. INTRODUÇÃO

Halberg¹, em 1939, apresentou um novo método de coloração do bacilo de Koch.

Reenstierna² empregou o método de Halberg na coloração do bacilo da lepra, e apresentou o resultado de suas pesquisas iniciais em nota anexa ao trabalho de Halberg, prometendo uma nota futura mais detalhada à propósito do assunto. No presente trabalho, vimos comunicar os resultados de nossas observações pessoais sobre o método de Halberg na coloração do bacilo da lepra.

II. MÉTODO DE HALBERG

Consta de três operações: a) coloração do bacilo; b) descoloração, ou prova de ácido resistência; c) contra coloração, ou coloração de fundo.

a) *Coloração*. — A coloração dos bacilos no método de Halberg, é realizada com uma solução de Nachtblau, cuja fórmula é a seguinte:

N.º 1 — Nachtblau (Grübler & Cia.)

| | | |
|--|-----|-----------------|
| 1) Solução alcoólica saturada de Nachtblau | 10 | cm ³ |
| (5 grs. de Nachtblau em 100 cm ³ de álcool a 95%) | | |
| 2) Fenol liquefeito | 2,5 | cm ³ |
| 3) Hidrato de potássio a 10% | 0,2 | cm ³ |
| 4) Água destilada | 100 | cm ³ |

Modo de preparar a solução de Nachtblau: dissolve-se o hidrato de potássio na água destilada e depois adiciona-se o fenol, e quando este estiver dissolvido, junta-se a solução saturada de Nachtblau.

As lâminas contendo esfregaços do material a pesquisar previamente secos o ar e fixados à chama, são inteiramente recobertas com a referida solução. A seguir, procede-se ao aquecimento das mesmas até o desprendimento de vapores, evitando a fervura. Esta operação é repetida várias vezes durante 5 minutos. Deixa-se a preparação esfriar, permanecendo a solução corante em contacto com o esfregaço durante mais 5 minutos. Isto feito, lança-se fora o corante.

b) *Prova de ácido resistência.* — A descoloração do esfregaço é feita com a seguinte solução:

- | | |
|---------------------------------|---------------------|
| 1) Ácido clorídrico à 25% | 3 cm ³ |
| 2) Álcool à 70% | 100 cm ³ |

Este líquido é colocado sobre a lâmina, retirado e substituído o número de vezes necessário a que não mais contenha traços de cor azul própria do corante. A seguir, a lâmina é lavada em água corrente.

c) *Coloração de fundo.* — Quatro contra corantes podem ser usados nesta operação:

- | | |
|---|---------------------|
| a) Vermelho neutro (Kahlbaum extra) | |
| 1) Vermelho neutro | 0,1 gr. |
| 2) Ácido acético a 1% | 0,2 gr. |
| 3) Água destilada | 100 cm ³ |
| b) Pironina | |
| 1) Pironina | 0,25 gr. |
| 2) Fenol cristalizado | 0,50 gr. |
| 3) Água destilada | 100 cm ³ |
| c) Fucsina fenicada | |
| 1) Solução concentrada de fucsina concentrada | 5 cm ³ |
| 2) Água destilada | 100 cm ³ |
| d) Vesuvina (Bismarckbraun) | |
| 1) Vesuvina | 2 gr. |
| 2) Água destilada | 100 cm ³ |

A solução escolhida é colocada sobre a lâmina, devendo permanecer um espaço de tempo que varia segundo a solução escolhida; 5 a 10 segundos para o vermelho neutro, fucsina e vesuvina, 30 a 60 segundos para a pironina.

O bacilo da tuberculose, e também o da lepra como o verificou Reenstierna, tomam uma côr azul escura, ao passo que os outros elementos e germes não ácido resistentes tomam a côr do contra corante. Halberg refere as seguintes vantagens apresentadas por êste método na preparação de materiais tuberculosos. Os bacilos aparecem maiores e mais distintos, são mais fáceis de encontrar, e parecem ocorrer em maiores números do que nos esfregaços correspondentes, corados pelo método de Ziehl.

Refere também o encontro de um fungo de tipo oídio, sob a forma de ramos micelianos ou formas celulares ovóides, redondas ou piriformes. O encontro destas formas vem sendo, desde 1912, verificado por Reenstierna em preparações de material leproso, preparadas por outros métodos, sendo também encontradas por êle nas preparações feitas com o método de Halberg.

III. OBSERVAÇÕES PESSOAIS

Em nossas observações, procuramos estudar o emprêgo do método de Halberg na coloração do bacilo da lepra, e analisar, o quanto possível, se as vantagens por êle obtidas nas preparações de materiais tuberculosos ocorriam também pelo emprêgo do seu método em material leproso.

Trabalhamos com esfregaços de material, colhido segundo a técnica habitual de escarificação, de lesões cutâneas de vários tipos morfológicos de 32 doentes de lepra lepromatosa internados no "Sanatório Padre Bento".

a) *Observações morfológicas com o método de Halberg na coloração do bacilo da lepra.* — Nos esfregaços preparados com o método de Halberg (usamos como contra corante o vermelho neutro, Grüber & Co.), os bacilos da lepra apresentaram-se como bastonetes de dimensões variáveis e de coloração azul escura, isolados e dispersos e também aglomerados em formações de glóbias ou em paliçada (fig. 1). Os elementos não ácido-resistentes, germes, células epiteliais e leucocitos, tomaram a côr do contra corante (fig. 2). Em algumas preparações foram observadas bem nítidas formas vacuolares, difteroides e aspectos granuloses, assim como bacilos de aspecto recurvado (fig. 3).

Quanto às formas de fungo descritas por Reenstierna, nossa nenhuma experiência sôbre elas nada nos permite afirmar, embora

possamos dizer que poucas vezes encontramos formações que se assemelhavam aos elementos descritos por Reenstierna, mas sôbre cuja natureza nada pudemos decidir (fig. 4).

b) *Tentativa de estudo comparativo quantitativo entre o método de Halberg e o método de Gabbet.* — Estudamos a questão relativa à eficiência do método de Halberg na coloração do bacilo da lepra, confrontando-o com um método de reconhecida eficiência, clàssicamente usado e adotado neste Instituto: o método de Gabbet.

Para tanto, procedemos a uma tentativa de comparação quantitativa entre êstes dois métodos. Preliminarmente, devmos dizer que desta tentativa não se pode esperar um êxito absoluto, por não ser possível atenuar causas de êrro insuperáveis, capazes de influenciar de maneira decisiva os resultados.

Em primeiro lugar, o material com que foi feita esta tentativa não apresenta um requisito primordial para comparação quantitativa, que é a homogeneidade de conteúdo bacilar e nem era possível conseguí-lo por meio de homogeinização.

Não sendo cultivável o bacilo da lepra, não se podem obter suspensões de cultura, que é um recurso empregado para obtenção de material com certa homogeinidade de conteúdo bacilar.

Nem são aplicáveis processos de homogeinização a material colhido de lesão cutânea, com cujos esfregaços tínhamos de trabalhar.

Tudo o que foi possível fazer, consistiu unicamente em observar o maior rigor na seleção da procedência do material a ser estudado. Assim, na tentativa de confronto, tôdas as comparações foram procedidas entre uma preparação feita pelo método de Halberg e outra feita pelo método de Gabbet, com material colhido por uma mesma escarificação de uma mesma lesão de um doente.

Procuramos evitar, dessa forma, as diferenças de teor bacilar que podem existir entre as várias lesões de um doente, ou ainda variações do teor bacilar que podem ocorrer em uma mesma lesão em consequência de alterações próprias da moléstia: involução, surtos reacionais.

Erros em que se incorreria, se o material fosse colhido de lesões diferentes de um doente, ou da mesma lesão de um doente, porém em épocas diferentes.

Além do que, deve ser levada em conta a tendência própria e natural do bacilo da lepra a se aglomerar, o que concorre para maior diversidade de distribuição do conteúdo bacilar do material, nos vários campos de um esfregaço.

Quanto às causas de erro decorrentes da preparação dos esfregaços, tomamos unicamente as precauções usuais no sentido de evitar insuficiente fixação ou queima de material.

Sucedee também que, apesar de todos os cuidados tomados, a coloração não é uniforme em toda a extensão do esfregaço, havendo no mesmo, campos insuficientemente corados.

Tôdas estas causas de erro, deviam, por fim, ser atenuadas pelo recurso de contagem de germes no maior número de campos microscópicos do esfregaço. Uma dificuldade especial de contagem, surgiu na consideração das glóbias, cujo número real de germes não pode ser contado. Contâmo-las em separado, e também em conjunto com os germes e atribuímos a uma glóbia o valor correspondente ao de um germe, por analogia às recomendações de Neisser e Klein³ em casos de acúmulos de germes.

1) Material pesquisado: trabalhamos com material colhido, segundo a técnica habitual de escarificação, de lesões cutâneas de vários tipos morfológicos de 32 doentes de lepra lepromatosa, internados no "Sanatório Padre Bento". Do material colhido por uma mesma escarificação de uma mesma lesão de um doente, eram feitos dois esfregaços, dos quais um era corado pelo método de Halberg e outro pelo método de Gabbet.

2) Coloração dos esfregaços: método de Halberg foi realizado segundo a técnica descrita na primeira parte deste trabalho. O método de Gabbet foi realizado conforme a técnica usada no Instituto, e que passamos a descrever.

Método de Gabbet. — Na coloração do bacilo é usada uma solução corante de fucsina cuja fórmula é a seguinte:

| | |
|------------------------------------|----------------------|
| Fucsina básica | 1,0 gr. |
| Álcool absoluto | 10,0 cm ³ |
| Solução de ácido fênico a 5% | 90,0 cm ³ |

Modo de preparar: triturar a fucsina e ajuntar o álcool. Quando a fucsina estiver dissolvida, acrescentar a solução de ácido

fênico. Agitar. Deixar em repouso algumas horas. Filtrar em papel.

As lâminas que contém esfregaços de material a ser pesquisado, previamente secos ao ar e fixados à chama são recobertas com a referida solução. À seguir, procede-se ao aquecimento da solução corante, por sucessivas passagens sob a lâmina, da chama do bico de Bunsen, até o desprendimento de vapores.

Este aquecimento é repetido várias vezes, durante cinco minutos. Deixa-se então a solução corante resfriar, sendo depois lançada fora e a lâmina lavada em água corrente.

Descoloração do bacilo e coloração de fundo: nestas duas operações realizadas a um só tempo, é utilizada a seguinte solução:

| | |
|-----------------------------------|----------------------|
| Azul de metileno | 1,0 gr. |
| Ácido sulfúrico concentrado | 25,0 cm ³ |
| Água destilada | 75,0 cm ³ |

Modo de preparar: Diluir o ácido sulfúrico em água. Resfriar e dissolver o azul de metileno. Filtrar em papel.

As lâminas, previamente coradas pela solução de fucsina e lavadas em água corrente, são recobertas pela solução ácida de azul de metileno, que é lançado fora, quando é verificado no esfregaço a coloração própria da fucsina. Lava-se então em água corrente e seca-se.

3) Técnica de contagem: Os esfregaços eram examinados com objetiva de imersão em óleo de cedro e ocular Spencer 10x. Eram contados os germes e as glóbulas contidos em um campo, num total de 100 campos, em cada preparação. Nas preparações em que em 100 campos 1 ou nenhum germe era contado, a contagem foi realizada em toda a extensão do esfregaço.

4) Comparação quantitativa: Para comparação quantitativa entre os métodos de Halberg e Gabbet, levamos em conta o número de germes e de glóbulas contados e o número de campos em que foram contados em cada esfregaço. Além do que, traduzimo-los no valor correspondente na escala de Gaffky. De um mesmo material eram postos em confronto os valores numéricos absolutos e relativos acima referidos, obtidos no esfregaço corado pelo método de Halberg e em seu correspondente corado pelo método de Gabbet.

O confronto geral vem expresso na tabela seguinte:

TABELA GERAL DA COMPARAÇÃO QUANTITATIVA DOS MÉTODOS DE HALBERG E GABBET

| Material | | | N.º de campos | N.º de germes | | N.º de glóbulos | | Escala de Gaffky | |
|----------|-------|----------|---------------|---------------|---------|-----------------|---------|------------------|--------|
| N.º | Pron. | Iniciais | | Halberg | Gabbet | Halberg | Gabbet | Halberg | Gabbet |
| 1 | 10 | G. I. M. | 100 | 24 | 99 | 5 | 5 | 2 | 3 |
| 2 | 645 | J. R. | 100 | 827 | 634 | 21 | 40 | 6 | 6 |
| 3 | 646 | E. M. | T | 2 | 4 | 0 | 0 | 1 | 1 |
| 4 | 224 | A. M. | 100 | 3 | 235 | 0 | 9 | 1 | 4 |
| 5 | 471 | J. T. S. | 100 | 16 | 18 | 3 | 0 | 4 | 4 |
| 6 | 131 | J. R. | T | 1 | 3 | 0 | 0 | 1 | 1 |
| 7 | 570 | J. Z. | 100 | 159 | 746 | 23 | 92 | 4 | 6 |
| 8 | 596 | L. B. L. | 100 | 345 | 457 | 78 | 60 | 5 | 5 |
| 9 | 692 | H. R. | 100 | 122 | 174 | 9 | 10 | 3 | 4 |
| 10 | 173 | O. F. G. | 100 | 159 | 157 | 35 | 16 | 4 | 4 |
| 11 | 724 | C. M. | 100 | 63 | 17 | 9 | 1 | 2 | 2 |
| 12 | 36 | I. O. | T | 6 | 2 | 0 | 0 | 1 | 1 |
| 13 | 359 | J. C. | T | 1 | 2 | 0 | 0 | 1 | 1 |
| 14 | 166 | M. E. | 100 | 610 | Incont. | 29 | Incont. | 5 | 10 |
| 15 | 361 | M. S. | 100 | 9 | 6 | 0 | 0 | 2 | 2 |
| 16 | 604 | A. P. | T | 2 | 4 | 0 | 0 | 1 | 1 |
| 17 | 577 | L. F. | 100 | 219 | 13 | 35 | 1 | 4 | 2 |
| 18 | 142 | V. F. B. | 100 | 7 | 5 | 0 | 0 | 2 | 2 |
| 19 | 3 | Z. V. | 100 | 298 | 156 | 15 | 21 | 4 | 4 |
| 20 | 353 | M. T. | 100 | 156 | 34 | 0 | 5 | 4 | 2 |
| 21 | 598 | A. G. M. | 100 | 42 | 64 | 3 | 2 | 2 | 2 |
| 22 | 28 | M. R. P. | 100 | 9 | 4 | 0 | 0 | 2 | 2 |
| 23 | 259 | V. F. | 100 | 17 | 135 | 0 | 0 | 2 | 3 |
| 24 | 168 | V. G. | 100 | 180 | 472 | 35 | 25 | 4 | 5 |
| 25 | 210 | B. B. | 100 | 156 | 91 | 3 | 5 | 4 | 3 |
| 26 | 352 | J. F. | T | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 27 | 253 | C. A. | 100 | 379 | 3168 | 40 | 121 | 5 | 8 |
| 28 | 398 | P. P. R. | 100 | 37 | 101 | 1 | 6 | 2 | 3 |
| 29 | 183 | J. O. | 100 | 18 | 22 | 0 | 0 | 2 | 2 |
| 30 | 562 | J. C. | 100 | 2904 | 2019 | 272 | 94 | 8 | 7 |
| 31 | 101 | J. X. B. | 100 | 25 | 68 | 1 | 8 | 2 | 2 |
| 32 | 735 | B. G. | 100 | 28 | 22 | 0 | 2 | 2 | 2 |

Total 6214 8872 588 523

T — Tõda a extensão dos esfregaços corados.

Incont.-incontaveis.

Nestes totais não estão incluídos os valores obtidos nas preparações do material n.º 14.

COMENTARIOS

Consideramos os resultados do confronto realizado, sob quatro aspectos diferentes:

a) contagem de germes; b) contagem de glóbias; c) contagem dos elementos bacilares; germes e glóbias em conjunto; d) valor obtido na escala de Gaffky.

a) *Confronto entre o número de germes.* — Dos 32 materiais examinados, as preparações do material n.º 14 não puderam ser postas em confronto do ponto de vista quantitativo, por não ter sido possível proceder à contagem de germes contidos na preparação feita pelo método de Gabbet, tão numerosos eram os germes e tão emaranhada a sua distribuição. No material n.º 26, nas preparações feitas pelos dois métodos, não foram encontrados germes, razão pela qual o referido material foi considerado negativo.

Por conseguinte, a comparação quantitativa direta foi realizada entre as preparações correspondentes de 30 materiais. Nestes, a preparação feita com o método de Gabbet apresentou em 17 materiais número de germes mais elevado do que a preparação feita pelo método de Halberg, cabendo ao método de Halberg apresentar maior número de germes em preparação com êle feita em 13 materiais.

A soma total de germes contados em tôdas as preparações feitas pelo método de Gabbet, superou em 2658 a soma total de germes contados em tôdas as preparações correspondentes, feita pelo método de Halberg.

Nos materiais n.º 4 e 17 a diferença verificada no confronto entre as preparações realizadas pelos dois métodos, foi de intensidade tal, que permite admitir-se erro accidental de preparação, não obstante o exame das lâminas não ter fornecido indícios seguros disto.

b) *Confronto entre o número de glóbias.* — No material n.º 14, por razões já expostas, não foi possível fazer a comparação numérica entre as glóbias existentes nas respectivas preparações. Em 11 materiais, em ambas as preparações feitas não foram encontradas glóbias. Nos demais 20 materiais, 1 material apresentou igual número de glóbias nas respectivas preparações, e em 11 materiais, nas preparações feitas pelo método de Gabbet foi contado maior número de glóbias do que na preparação correspondente feita pelo método de Halberg, verificando-se o contrário em 8 materiais.

c) *Confronto da contagem conjunta dos elementos bacilares: germes e glóbias.* — Excetuados o material n.º 14, em que não pudemos contar, e o material n.º 26, de pesquisa negativa, o confronto foi realizado em 30 materiais.

Em 16 materiais, a preparação feita pelo método de Gabbet apresentou resultado numericamente superior ao verificado na preparação correspondente feita pelo método de Halberg. Em 14 materiais, na preparação feita pelo método de Halberg, foi contado maior número de elementos bacilares do que na sua correspondente feita pelo método de Gabbet.

A soma total de germes e glóbias contados em todas as preparações feitas com o método de Gabbet, foi maior do que a soma total de germes e glóbias contados em todas as preparações correspondentes feitas pelo método de Halberg.

d) *Confronto entre os valores obtidos pelas preparações na escala de Gaffky.* — A atribuição de valores da escala de Gaffky às preparações, foi feita considerando o número total de germes e glóbias contado na preparação e a extensão do esfregaço em que foi contado. À cada glóbia foi atribuído valor equivalente ao valor de um bacilo.

Em 19 materiais, a preparação feita pelo método de Gabbet e a preparação correspondente feita pelo método de Halberg, obtiveram valores iguais. Em 8 materiais, neles incluindo-se o n.º 14 ao qual foi atribuído valor 10, a preparação feita pelo método de Gabbet obteve valor superior ao obtido pela preparação correspondente feita pelo método de Halberg. Em 4 materiais, a preparação feita pelo método de Halberg obteve valor superior ao da preparação correspondente feita pelo método de Gabbet.

CONCLUSÕES

Tendo sempre presente as limitações com que devem ser tiradas quaisquer conclusões da parte comparativa deste trabalho, dadas as múltiplas causas de erro capazes de influenciar-lhe os resultados, julgamos todavia possível adiantar um juízo que, longe de ser absoluto, é entretanto aquele a que somos levados pelos fatos verificados.

O método de Halberg pode ser considerado um método eficiente na coloração do bacilo da lepra, como o demonstraram os resultados do confronto realizado, dentre os quais achamos que devem ser ressaltados como de maior expressão, os resultados obtidos em preparações de material de conteúdo bacilar escasso, o que de um certo modo, atesta a eficiência e segurança oferecidas por um método de coloração.

Por tudo o que foi exposto, não apresentando o método de Halberg maiores vantagens sobre o de Gabbet, não achamos justi-

ficado o emprêgo preferencial do método de Halberg para fins diagnósticos, pois, apesar de sua eficiência, êle não se revelou superior ao método de Gabbet. Entretanto, acreditamos que êle representa um recurso, cujas possibilidades não pudemos avaliar com rigor, no estudo da morfologia do bacilo da lepra e particularmente de alguns de seus aspectos morfológicos menos conhecidos.

SUMÁRIO

No presente trabalho, o A. estuda na coloração do báculo da lepra, o emprego do método de Halberg, para coloração do báculo da tuberculose.

O A. relata, primeiramente, o resultado de suas observações sobre o báculo da lepra corado pelo método de Halberg, referindo os vários aspectos morfológicos encontrados. A seguir, o A. estuda a eficiência do método de Halberg na coloração do bacilo da lepra, procedendo a um estudo de comparação quantitativa entre êste método e o método de Gabbet. Preliminarmente, analisa as múltiplas causas de êrro capazes de influenciar decisivamente os resultados dêste estudo comparativo e descreve a orientação e os recursos utilizados para atenuá-las.

Neste estudo comparativo quantitativo, que constou de um confronto numérico entre preparações correspondentes de material de lesões cutâneas de 32 doentes de lepra lepromatosa, o método de Gabbet apresentou resultados superiores aos apresentados pelo método de Halberg.

Admitindo as restrições com que devem ser tiradas conclusões desta parte do trabalho, o A. baseado nos resultados por êle obtidos, não acha justificado o emprêgo preferencial do método de Halberg para fins de diagnóstico de lepra.

Não obstante considera o método de Halberg, um método eficiente, como o demonstram os resultados obtidos, dentre os quais merecem especial destaque os verificados em preparações de material leproso de escasso conteúdo bacilar.

Além do que, o A. considera o método de Halberg um novo recurso, cujo real valor necessita ser avaliado, no estudo da morfologia do báculo da lepra e especialmente das formas menos conhecidas do germe.

SUMMARY

Halberg's staining method for tuberculous bacillus was applied to the staining of leprosy bacillus.

The Author describes several morphological aspects observed on leprosy bacilli stained by such method, and discusses its value on the basis of a quantitative comparison with Gabbet's method. This comparative study was made by using both methods to stain duplicate smears of material from cutaneous lesions of 32 patients with lepromatous leprosy. The Author analyses a number of causes apt to decidedly affect conclusions drawn from such study, and discusses the means to minimize them.

As far as it is reasonable to conclude from the results presented, the method of Halberg proved less helpful than Gabbet's, there being no justification for the use of the first as the method of choice in the diagnosis of leprosy.

Notwithstanding, the results of the quantitative comparison demonstrated the method of Halberg a very efficient method for staining leprosy bacilli, being of special value for this concept the results obtained with it in the research of leprosy bacilli in lepromatous material of low bacilli content.

Moreover, is the Author's impression that Halberg's method should be considered as a new resource in the morphological studies of the leprosy bacillus, particularly worthy of being tried in the investigation on the less well known forms of the germ.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos cordialmente aos srs.: Dr. Nelson de Souza Campos, DD. Diretor do Departamento de Profilaxia da Leprosia do Estado de São Paulo; Dr. Lauro de Souza Lima, DD. Diretor do Sanatório Padre Bento e Dr. Gil de Castro Cerqueira, DD. Vice Diretor do Sanatório Padre Bento, nos ter tornado possível a execução do presente trabalho.

BIBLIOGRAFIA

- 1 — HALBERG, V. — 1941 — A new method for staining tubercule bacilli. *Acta medica scandinavica*, 108, fasc. I e II: 12.
- 2 — REENSTIERN, J. — 1941 — The use of the Halberg method for staining leprosy bacilli. Note in Halberg, Vide: (1), 15.
- 3 — NEISSER, M., KLEIN, W. — 1923 — Keimzählung, in Kraus, R. Uhlenhuth, P. Handbuch der mikrobiologischen Technik. 2: 1081, Urban u. Schwarzenberg, Wienn. Berlin.

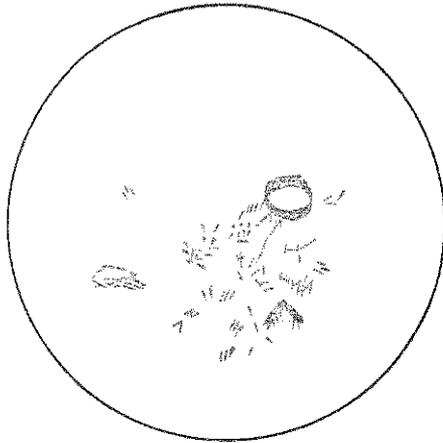


FIG. 1

Bacilos da lepra. Coloração: método de Halberg. Obj. Imersão. Oc. Zeiss 4 x. Material 14. Doente M. B. Pront. 166. Sanatório Padre Bento. Lesão: tubérculo. Notar bacilos dispersos e isolados e também aglomerados bacilares em glóbulos e paliçadas.

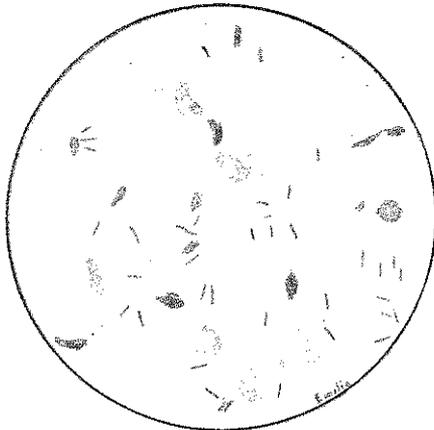


FIG. 2

Bacilos da lepra. Coloração: método de Halberg. Contra corante: vermelho neutro Grübler & Cia. Obj. imersão. Oc. Zeiss 4 x. Material n.º 8. Doente L. B. L. Pront. 596. Sanatório Padre Bento. Lesão: tubérculo. Notar germes isolados e aglomerados em glóbulos e paliçadas, e células degeneradas tomando a cor do contra corante.

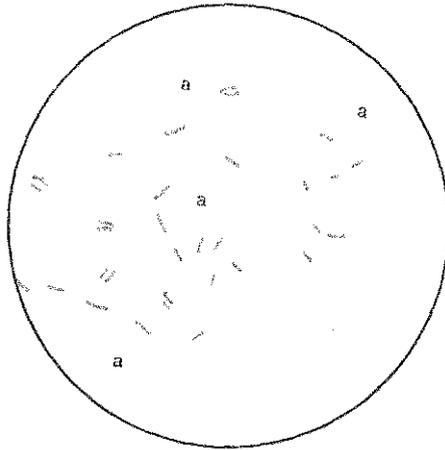


FIG. 3

Bacilos da lepra. Coloração: método de Halberg. Obj. de imersão. Oc. Zeiss 4 x. Material n.º 30. Doente S. C. Front. 562. Sanatório Padre Bento. Lesão: tubérculo. Notar bacilos com formações vacuolares, outros com coloração bipolar e aspectos granulosos em alguns corpos bacilares.

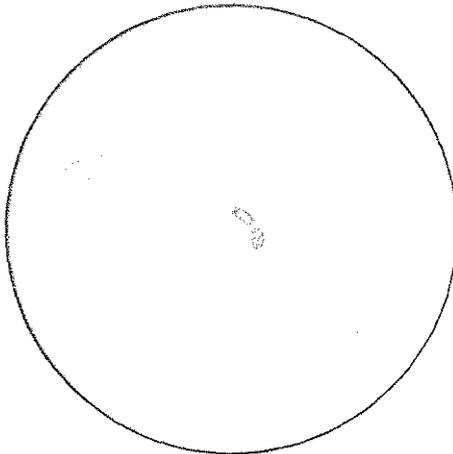


FIG. 4

Material leproso. Coloração: método de Halberg. Contra corante: vermelho neutro Grübler & Cia. Obj. de imersão. Oc. Zeiss 4 x. Material n.º 31. Doente J. X. B. Front. 101. Sanatório Padre Bento. Lesão pápulo-tuberosa. Notar formações leveduroides.