

## CONJUNTO ALANTO-CORIAL NO ESTUDO DE AGENTES INFECCIOSOS.

I — Obtenção experimental da Granulomatose paracoccidióidica (Blastomicose sul-americana) em ovos embrionados.\*

ELIAS LEMOS MONTEIRO,

*Da Fundação Andréa e Virginia Matarazzo e da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo*

FLORIANO DE ALMEIDA

*Da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo e do Instituto "Adolfo Lutz"*

e

ROBERTO DE ALMEIDA MOURA

*Da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo*

A blastomicose sul-americana, também chamada granulomatose paracoccidióidica, moléstia cujos recursos terapêuticos ainda hoje são escassos, foi por nós com a maior facilidade reproduzida experimentalmente em conjunto alanto-corial de embriões de galinha.

Esta técnica, que introduzimos no estudo da blastomicose sul-americana, mostrou-se sumamente vantajosa sob vários aspectos.

Obtivemos em poucos dias lesões típicas e constantes, o que, em outros animais, teria exigido, por vêzes, mais de um mês. É, pois, um campo aberto a novas observações, principalmente sobre a ação de certas drogas, quimioterápicos e antibióticos, sobre o *Paracoccidioides brasiliensis*.

Estudos sobre a formação de um granuloma pelo *Paracoccidioides* tornam-se perfeitamente viáveis, assim como também da morfologia apresentada pelo fungo neste tipo de inflamação.

Outro ponto que achamos de interesse aqui assinalar é sobre as retroculturas obtidas. Como sabemos, as culturas iniciais do *Paracoccidioides brasiliensis* são de crescimento visível muito demorado, sendo, em média, de 20 a 30, e chegando por vêzes a 90 dias.

As culturas por nós obtidas, partindo de lesões quer na cório-alantóide, quer no folheto alantoideano visceral, portaram-se morfológicamente semelhantes às isoladas de casos humanos, variando apenas o fator tempo, pois foram de crescimento visível após 6 dias a 37°C, e 7 dias, quando mantidas à temperatura ambiente.

Recebido para publicação em 12 de setembro de 1950.

\* O trabalho completo está em publicação na *Folia Clinica et Biologica*.

## CONCLUSÕES

- 1.º Com culturas do *Paracoccidioides brasiliensis* em sua variante cerebriforme consegue-se infectar ovos embrionados.
- 2.º Em poucos dias obtêm-se lesões típicas e constantes.
- 3.º Seja em membrana cório-alantóide ou em folheto alantoideano visceral, as lesões são de caráter francamente granulomatoso.
- 4.º As retroculturas obtidas a partir de lesões na cório-alantóide ou no folheto alantoideano visceral cresceram em 6 dias, quando mantidas a 37°C, e em 7 dias à temperatura ambiente.
- 5.º Ao exame direto de material destas lesões evidencia-se enorme quantidade de *Paracoccidioides*.
- 6.º Devido ao tipo de lesão obtida em folheto alantoideano visceral e por ser esta membrana muito fina, pode-se observar o fungo tal qual se apresenta nos tubérculos, sem ficar sua morfologia prejudicada por cortes ou artifícios de técnica.
- 7.º O líquido alantóico de ovos inoculados na vesícula alantoideana, injetado em camundongos, por via peritoneal, mostrou ser infectante. Êstes camundongos sacrificados após 2 meses, apresentaram enfartamento dos gânglios mesentéricos, onde foram encontradas inúmeras formas típicas do fungo.
- 8.º Nossos estudos abrem campo a novas observações sôbre a morfologia apresentada pelo *Paracoccidioides brasiliensis* nas lesões granulomatosas, permitindo ainda verificação do poder de certas drogas, principalmente quimioterápicos e antibióticos, sôbre o agente da blastomicose sul-americana.

## CONCLUSIONS

- 1.º Chick embryos can be infected by cultures of *Paracoccidioides brasiliensis*, variant strain cerebriform.
- 2.º Typical and constant lesions are produced within a few days.
- 3.º In both chorio-allantois or visceral allantois, lesions show a typically granulomatous character.
- 4.º Re-isolation cultures of fungi obtained from the lesions in chorio-allantois or in visceral allantois grow in 6 days when kept at 37°, and in 7 days at room temperature.
- 5.º Direct examination of the material from those lesions discloses an enormous amount of *Paracoccidioides*.
- 6.º The type of the lesion produced in the visceral allantois, and the fact that this membrane is a very thin one, makes it possible to study the fungus just as it presents itself in the tubercules, without damaging its morphology by sectioning or like procedures.

- 7.° The allantoic fluid from eggs inoculated into this fluid reveals to be infectious to mice, when injected intraperitoneally. The mice when killed after two months show increase of the mesenteric ganglions where many typical forms of fungi can be found.
- 8.° It appears from our studies that further observations on the morphology of the *Paracoccidioides brasiliensis* in granulomatous lesions are possible. At the same time the effect of various substances, such as chemotherapies and antibiotics, upon the etiological agent of the South-american blastomycosis can be studied by means of this new technique.

#### SCHLUSSFOLGERUNGEN

- 1.° Es ist möglich, embrionierte Eier mit Kulturen der gehirnförmigen Variante des *Paracoccidioides brasiliensis* zu infizieren.
- 2.° In wenigen Tagen erhält man typische und konstante Läsionen.
- 3.° Die Läsionen haben einen ausgesprochenen granulomatösen Charakter, sei es, wenn sie auf Chorion-Allantoid-Membran wachsen, oder auf dem viszeralem Allantoid-Blatt.
- 4.° Die Kulturen, welche man von den Läsionen der Chorion-Allantoid-Membran oder von dem viszeralem Allantoid-Blatt wiedererhält, wachsen in 5 Tagen, wenn sie bei 37° gehalten werden und in 7 Tagen, wenn sie bei Zimmertemperatur verweilen.
- 5.° Die direkte Untersuchung des Materials dieser Läsionen zeigt eine ungeheure Anzahl von *Paracoccidioiden*.
- 6.° Der Typ der Läsion, welchen man mit dem viszeralem Allantoid-Blatt erhält, ermöglicht es, da dieses sehr dünn ist, den Pilz genau so zu beobachten wie in den Tuberkeln, ohne seine Morphologie durch Schnitte und Zerrungen zu schädigen.
- 7.° Die Allantoid-Flüssigkeit der Eier, die in den Allantoid-Sack geimpft wurde, erwies sich infektiös, wenn sie Mäusen in die Bauchhöhle gespritzt wurde. Die Mäuse, welche 2 Monate nach der Impfung getötet wurden, zeigten Vergrößerung der Ganglien des Mesenteriums, in welchen eine grosse Anzahl typischer Pilzformen gefunden wurden.
- 8.° Unsere Studien ermöglichen in den granulomatösen Läsionen eine neue Beobachtungsweise für die Morphologie des *Paracoccidioides brasiliensis*. Sie erlauben zu gleicher Zeit, verschiedene Substanzen, hauptsächlich antibiotischer und chemotherapeutischer Natur, auf ihre Wirkung gegen den Erreger der südamerikanischen Blastomycose zu prüfen.

ESTAMPA I

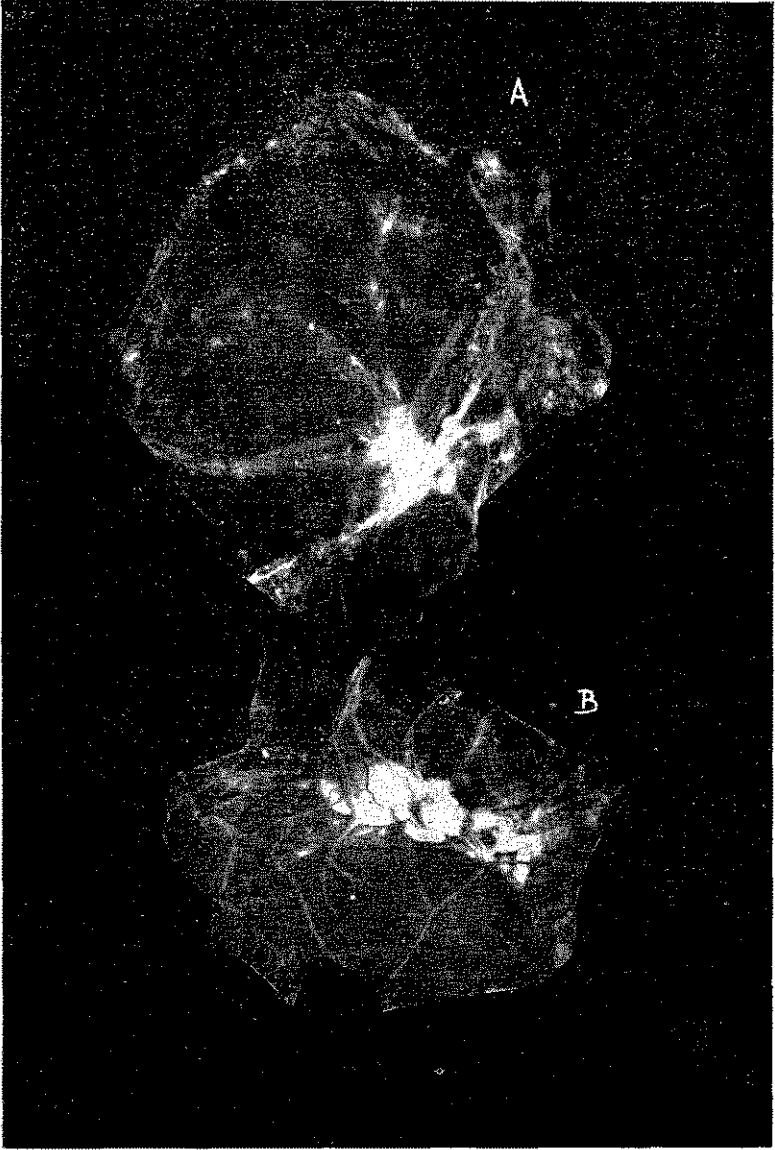


Fig. 1

ESTAMPA II

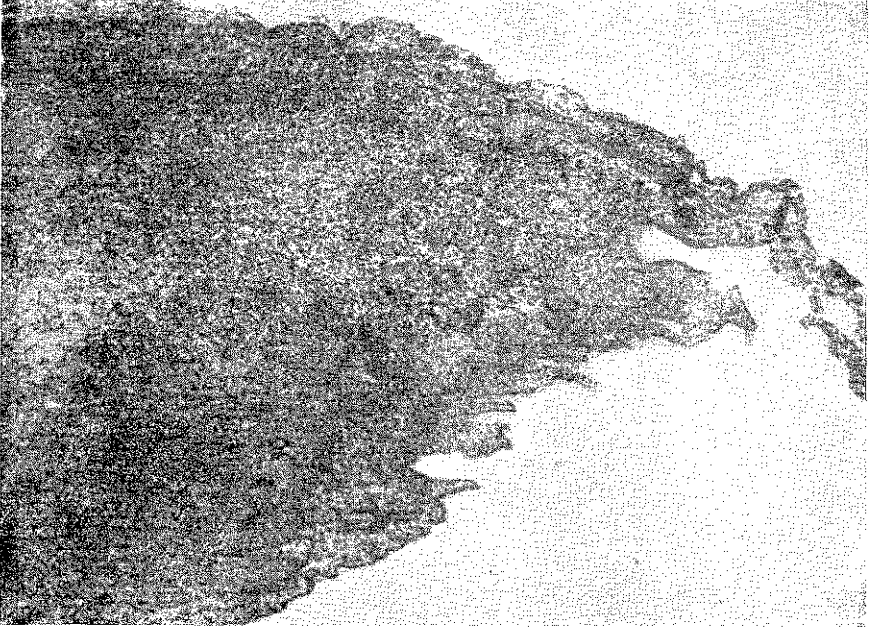


Fig. 2

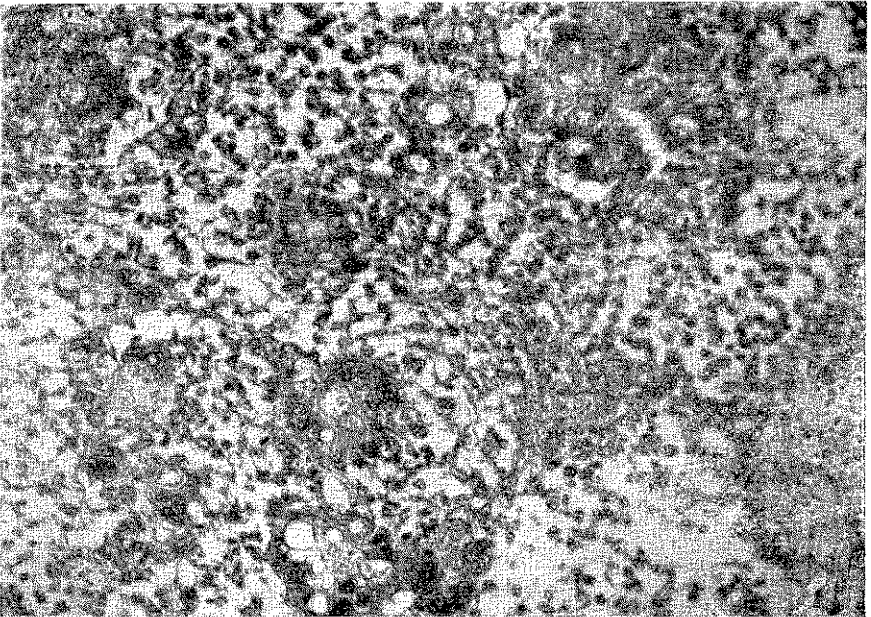


Fig. 3

ESTAMPA III

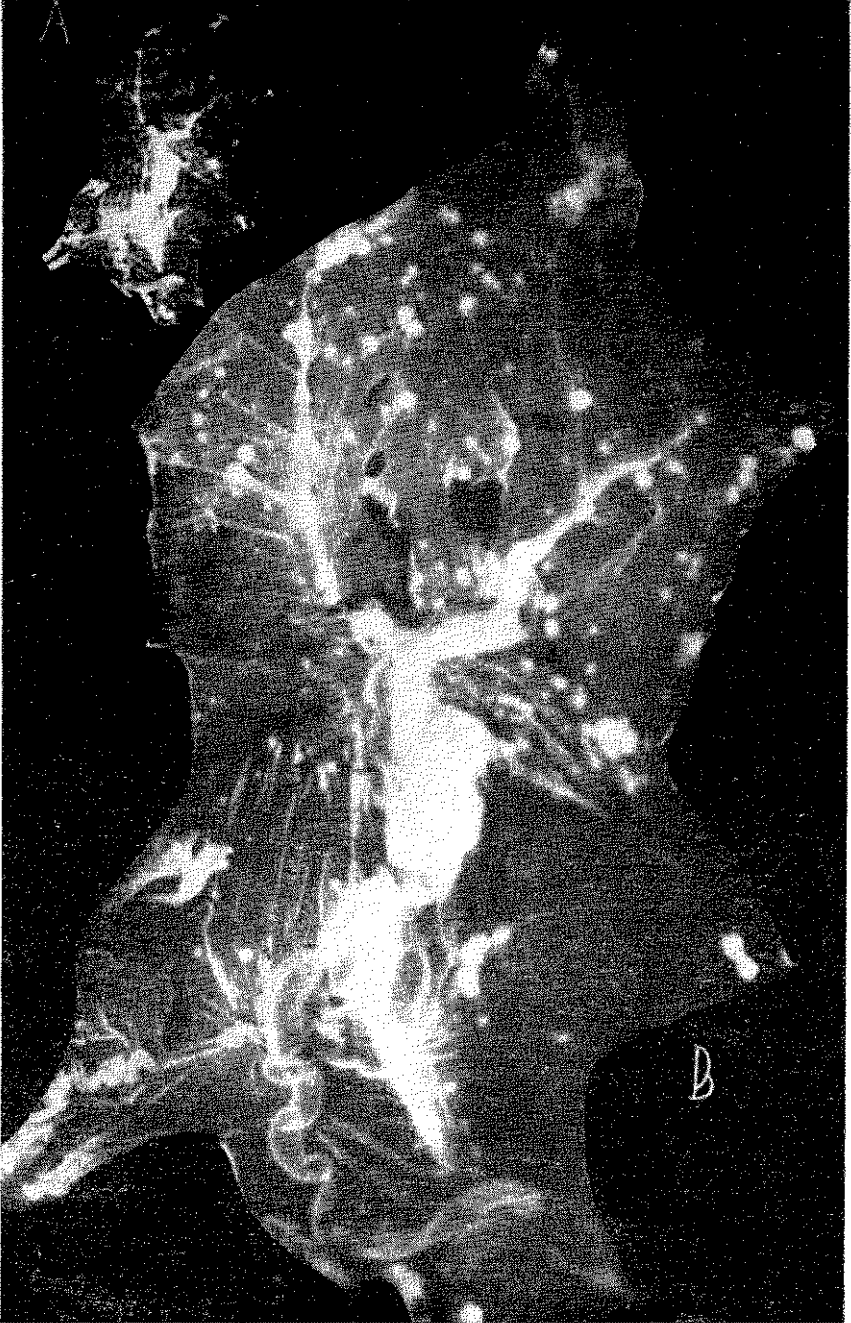


Fig. 4

ESTAMPA IV

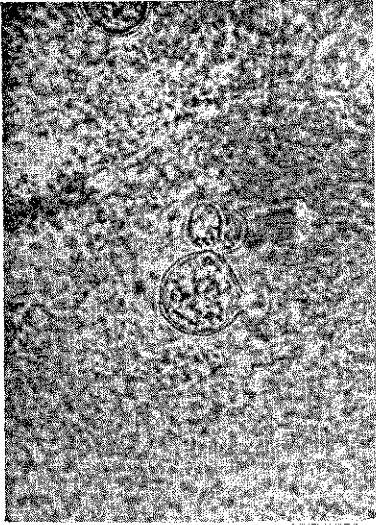


Fig. 5

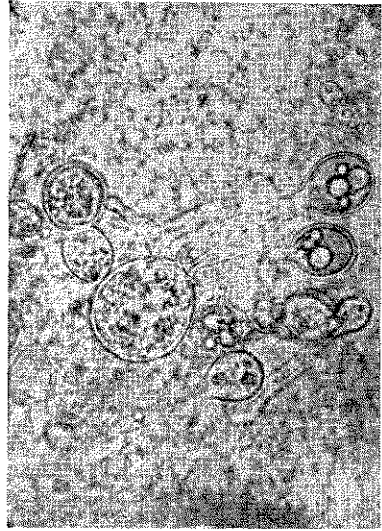


Fig. 6

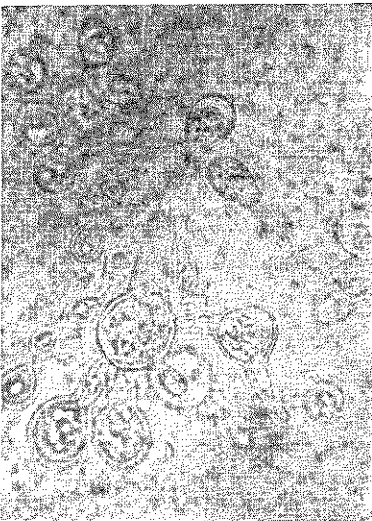


Fig. 7

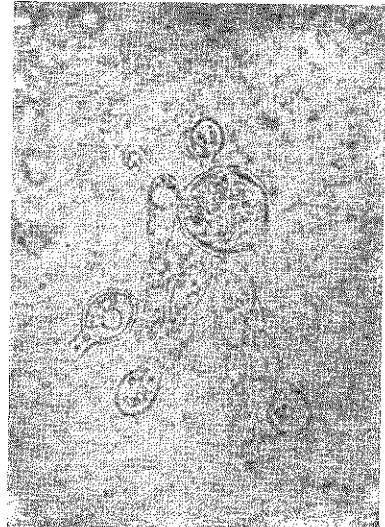


Fig. 8

## ESTAMPA V

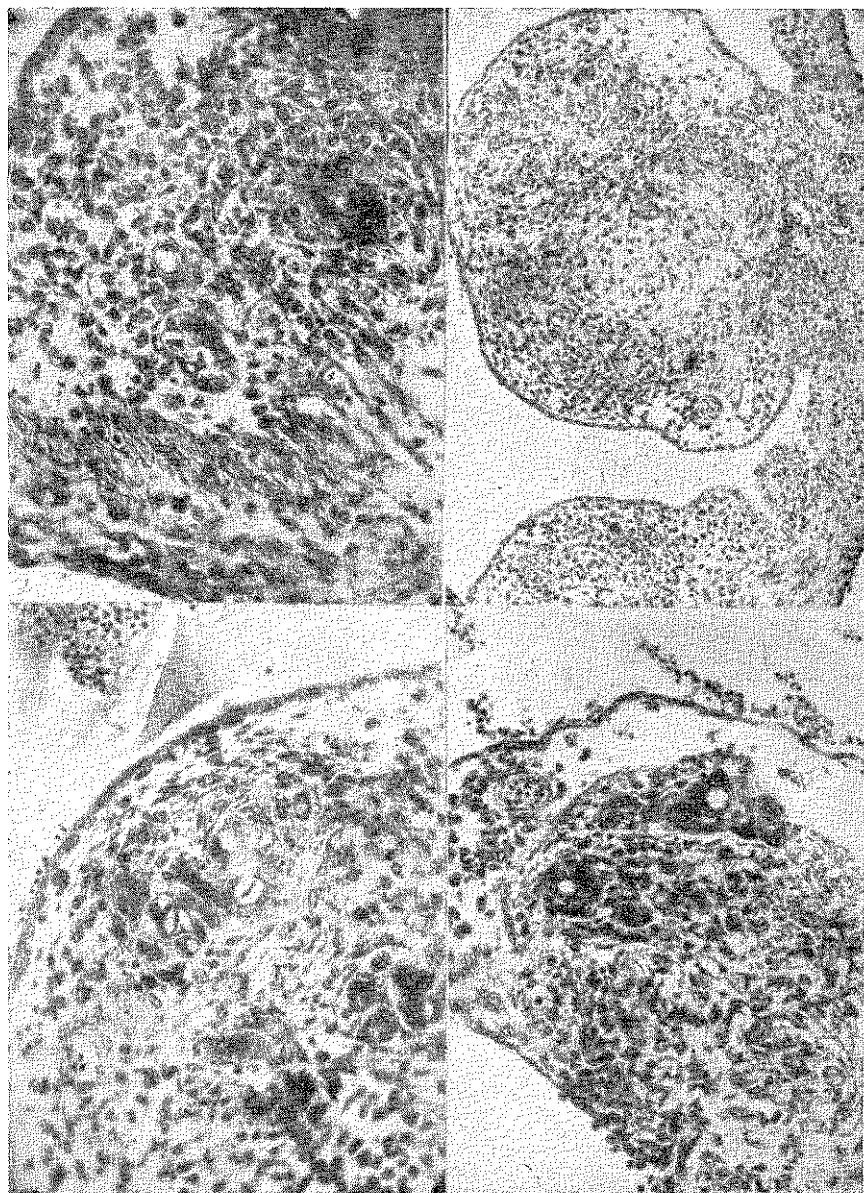


Fig. 9



LEGENDA DAS GRAVURAS

- Estampa I
- Fig. 1 Lesão do *Paracoccidioides brasiliensis* em membrana cório-alantóide.  
A — Vista pelo lado corial da membrana  
B — Vista pelo lado alantoideano (Tamanho natural)
- Estampa II
- Figs. 2,3 Cortes histológicas da lesão apresentada na estampa I.
- Estampa III
- Fig. 4 Lesões do *Paracoccidioides brasiliensis* em folheto alantoideano visceral.  
A — Tamanho natural  
B — Ampliado
- Estampa IV
- Figs. 5 a 8 Algumas formas do *Paracoccidioides brasiliensis* observadas em exame a fresco de lesões produzidas no folheto alantoideano visceral.
- Estampa V
- Fig. 9 Cortes histológicas de lesões produzidas pelo fungo em folheto alantoideano visceral (Ver estampa III).

LEGEND OF THE PLATES

- Table I
- Fig. 1 Lesion of the chorio allantoic membrane by *Paracoccidioides brasiliensis*.  
A — View from the chorial side of the membrane  
B — View from the allantoic side (natural size)
- Table II
- Fig. 2 and 3 Histological sections of the lesion reproduced on Table I.
- Table III
- Fig. 4 Lesions of the visceral allantois by *Paracoccidioides brasiliensis*.  
A — Natural size  
B — Enlarged
- Table IV
- Figs. 5 to 8 Some forms of *Paracoccidioides brasiliensis*, freshly observed in lesions produced in the visceral allantois.
- Table V
- Fig. 9 Histological sections of lesions produced by the fungi in the visceral allantois (See table III).

TAFELVERZEICHNIS

- Tafel I
- Fig. 1 Läsion der Choriumallantoid Membran, verursacht durch *Paracoccidioides brasiliensis*.  
A — Gesehen von der chorialen Seite der Membran  
B — Gesehen von der allantoiden Seite (natürliche Grösse)
- Tafel II
- Figs. 2,3 Histologische Schnitte, der auf der Tafel I, dargestellten Läsion.
- Tafel III
- Fig. 4 Läsionen des visceralen allantoiden Blattes, verursacht durch *Paracoccidioides brasiliensis*  
A — natürliche Grösse  
B — vergrößert
- Tafel IV
- Figs. 5-8 Einige Formen des *Paracoccidioides brasiliensis* in frisch beobachteten Läsionen, hervorgerufen im visceralen Allantoid Blatt.
- Tafel V
- Fig. 9 Histologische Schnitte von Läsionen verursacht durch den Pilz, am visceralen Allantoid-Blatt (siehe Tafel III).