

REVISTA
DO
INSTITUTO ADOLFO LUTZ

VOL. I • JULHO DE 1941 • NUM. 1



AV. DR. ARNALDO, 3
SÃO PAULO - BRASIL

A Revista do Instituto Adolfo Lutz é publicada sob a forma de fascículos, que serão reunidos em volume, e não tem data certa de aparecimento.

Será enviada, mediante solicitação, às instituições científicas interessadas, ou por permuta com publicações congêneres.

Toda a correspondência referente à Revista deve ser dirigida para o seguinte endereço:

DR. J. P. CARVALHO LIMA.

Diretor do Instituto Adolfo Lutz

Avenida Dr. Arnaldo, 3

São Paulo — Brasil

DEPARTAMENTO DE SAUDE DO ESTADO DE
SÃO PAULO

REVISTA
DO
INSTITUTO ADOLFO LUTZ

LABORATÓRIO CENTRAL DE SAUDE PÚBLICA

VOL. I

JULHO, 1941

N.º 1



AVENIDA DR. ARNALDO, 3
SÃO PAULO — BRASIL

SUMÁRIO

	PÁGINA
J. P. CARVALHO LIMA — Instituto Adolfo Lutz	5
LUÍS DE SALES GOMES — Sobre a presença do Tifo exantemático do tipo murino ou endêmico, em São Paulo	21
BRUNO RANGEL PESTANA — Da Meningite tuberculosa	40
A. FRÂNCIA MARTINS — Do diagnóstico sorológico da Leishmaniose	55
JOÃO MONTENEGRO — Tumores gigantocelulares das bainhas ten- dinosas	70
JOÃO MONTENEGRO — Gravidez e Febre amarela	76
NICOLAU ROSSETTI — Tricoficia difusa da pele glabra com persis- tência de lesões do couro cabeludo em adulto, por <i>Trichophyton</i> <i>violaceum</i>	85
AUGUSTO E. TAUNAY e LYDIA CALAZANS DE CARVALHO — Meningite aguda enterocócica	115
AUGUSTO E. TAUNAY, LUIZ AYRES e DARIO PEDROSO — Mielo- cultura e mielograma na Febre tifóide	118
LÚCIA DE QUEIROZ TELES — Brucelas	142
ETTORE RUGAI — Cultura de Leishmânias	153
MANOEL DE BRITO E SILVA — Diagnóstico sorológico da Mononu- cleose infectuosa (Febre ganglionar de Pfeiffer)	160
A. BÜLLER SOUTO — "Primera Reunión Argentina de Agronomía" ..	181
RENATO FONSECA RIBEIRO e LÚCIA ACHÉ — Sobre o teor da Vitamina "C" no leite de São Paulo	192
LÚCIA ACHÉ — Farinha de cebola	199



ADOLFO LUTZ

Nascido em 18 de Dezembro de 1855 no Rio de Janeiro.
Falecido em 6 de Outubro de 1940.

“Quando os métodos antigos se mostram deficientes e inadequados, uma metodologia nova se impõe. — ADOLFO LUTZ”

INSTITUTO ADOLFO LUTZ

J. P. CARVALHO LIMA

Diretor

O Instituto Adolfo Lutz é o Laboratório Central de Saúde Pública, do Departamento de Saúde de São Paulo. Criado pelo Decreto-lei n.º 11.522, de 26 de Outubro de 1940, substituiu na organização sanitária do Estado o antigo e tradicional Instituto Bacteriológico, que desde a sua fundação, em 1892, vinha desempenhando, integralmente, as funções de laboratório de Saúde Pública. Além das suas antigas atribuições, teve novos encargos, com a incorporação do Laboratório Bromatológico do Estado.

Esses dois Laboratórios: o Bacteriológico e o Bromatológico, nasceram no mesmo dia. Durante 48 anos prestaram, isoladamente, inestimáveis serviços a São Paulo, ao Brasil e à humanidade. Agora, reunidos, completam-se, constituindo o Laboratório Central de Saúde Pública que, em memória do grande sábio, seu fundador, falecido no Rio de Janeiro a 6 de Outubro de 1940, recebeu o nome de Instituto Adolfo Lutz.

Foi em 1892. A lei n.º 43, de 18 de Julho, assinada por Cerqueira Cesar, então vice-presidente do Estado, e Vicente de Carvalho, Secretário do Interior, autorizou a despesa para a montagem dos Laboratórios Bacteriológico, Vacinogênico, o de Análises Químicas e o Laboratório Farmacêutico. A lei n.º 87 consolidou o ato. No ano seguinte, pelo decreto n.º 159, de 28 de Fevereiro, sendo presidente do Estado o benemérito Bernardino de Campos e secretário do Interior, Cesário Mota Júnior, foi regulamentado o Instituto Bacteriológico que iniciou, desde logo, as suas funções de laboratório de Saúde Pública. Instalado, a princípio, à Rua Direita n.º 25, passou depois para o n.º 35. A direção foi confiada a Felix Le Dantec, biólogo francês, discípulo de Pasteur, e por ele indicado, quando Gabriel Piza, embaixador brasileiro em França, solicitado pelo Governo Brasileiro, pedira ao grande sábio indicar um nome para dirigir o novo Instituto. E Piza assim se expressa em carta a Cesário Mota Júnior: “o ilustre sábio Pasteur recomendou-me,

para dirigir o Instituto Bacteriológico, como pessoa muito digna, sob todos os pontos de vista, o seu discípulo Felix Le Dantec, antigo aluno da Escola Normal Superior, Doutor em Ciências Naturais, preparador do Instituto Pasteur”.

Biologista, Le Dantec iniciou a sua atividade não só no terreno das realizações práticas, como no campo das investigações científicas. Foram seus assistentes Adolfo Lutz, Artur de Mendonça e Bonilha de Toledo. Promissores corriam os trabalhos, quando Le Dantec teve que regressar à França assumindo a direção Adolfo Lutz que, desde 1885, investigava diferentes ramos da Biologia. Havia mesmo publicado sua notavel memória sobre o Ancilóstomo duodenal e outra sobre a morfologia do bacilo da lepra. Tinha ocupado, atendendo a especial convite, o cargo de diretor do Leprosário de Molukai, nas Ilhas Hawaii. “É um brasileiro capaz de dirigir o Instituto”, dizia Le Dantec ao se afastar do cargo.

A nomeação de Lutz para o Instituto Bacteriológico, em 18 de Março de 1893, marcou o início da Microbiologia no Brasil.

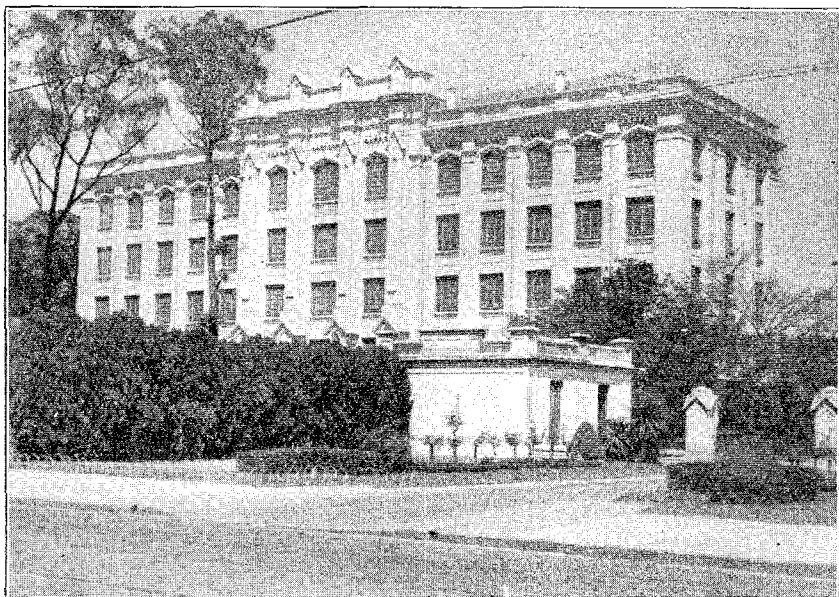
Lutz encarou todos os problemas da Microbiologia aplicada.

Demonstrou que os casos denominados de “Febres Paulistas” não passavam de casos verdadeiros de febre tifóide. Sofreu, por isso, tremenda campanha. Mas, a sua convicção baseava-se em fatos concretos. Havia autopsiado numerosos casos. Havia isolado do sangue de doentes e das vísceras de cadáveres o verdadeiro bacilo de Eberth, a quem enviara suas culturas, e de quem obtivera confirmação ampla.

No terreno do impaludismo, da peste, da varíola, cólera, disenterias, febres exantemáticas, são valiosíssimas as contribuições do Instituto Bacteriológico, ao tempo de Lutz.

É sabido que a história dos bacilos disentéricos começa no Japão, em 1898, com os estudos de Shiga. Adolfo Lutz, entretanto, já em 1891, tinha afirmado que, além da ameba, outro microorganismo deveria causar disenterias.

No dia 13 de Agosto de 1893 recebe Lutz material de doentes da Hospedaria de Imigrantes, suspeitos de cólera asiática. Estabelece o diagnóstico pelos exames bacteriológicos. O vibrião colérico foi isolado e comparado com culturas originais, obtidas de Roberto Koch. Em 1896 Lutz surpreende o mormo em São Paulo, em animais da Companhia Viação Paulista.



INSTITUTO ADOLFO LUTZ

Prédio autorizado e iniciado no Governo Cardozo de Melo Neto e
inaugurado no Governo Ademar de Barros.



INSTITUTO BACTERIOLÓGICO

Prédio antigo

Em 1899 apareceram, em Santos, os primeiros casos de peste bubônica. O diagnóstico é feito pelo Instituto Bacteriológico. Lutz isola o bacilo da peste e remete as culturas a Patrick Manson, Metchnikoff, Dumber e Nocht. Todos confirmam. Mas, a imprensa nega. Do Rio de Janeiro vem primeiro Chapot-Prevost para contestar o diagnóstico. Vem, depois, o próprio Osvaldo Cruz. Ambos, porém, à vista dos fatos, só puderam concordar e se ufanar do grande brasileiro.

Em 1900, Lutz assinala, entre nós, o tifo exantemático. Observações de autópsias. Em 1902 encontra o primeiro caso de Esporotricose. Em 1905 chega a vez da Blastomicose. Lutz descreve os primeiros casos. Nessas observações chegou a suspeitar ser o parasita responsável diferente do estudado por Posadas, na Argentina. Floriano de Almeida o confirma muitos anos depois.

A par de afirmativas de vulto, Lutz fazia, às vezes, observações interessantes, sem lhes dar maior importância. Aponto uma. Sabemos, desde 1931, depois dos estudos de Jordan, que alguns estafilococos, principalmente do tipo *aureus*, produzem no caldo de cultura, uma substância que, deglutida, causa gastro-enterite. Mc Burney verificou, mesmo, um surto de intoxicação alimentar, por estafilococos. Pois bem, nos relatórios de Lutz, antes de 1906, há referência a fato semelhante, quando, descrevendo casos de disenterias e distúrbios intestinais, assinala que muitas vezes não se encontram amebas nas fezes, nem bacilos disentéricos, mas que, por outro lado, se isola com frequência o estafilococo.

Difícilmente se penetra num assunto de microbiologia ou de protozoologia, sem que por aí tenha passado Lutz.

Em 18 de Outubro de 1896, há 45 anos, portanto, o Instituto passou a funcionar em prédio especialmente construído nos terrenos do Hospital de Isolamento. Feliz escolha. Do intercâmbio entre o Instituto que diagnostica as moléstias infecciosas e o Hospital que abriga os doentes, resultaram grandes ensinamentos em benefício da humanidade. Tornou-se clássica a repetição aí feita das experiências sobre a transmissão da febre amarela, realizadas em Cuba. Por essa época Lutz já estava em correspondência com as autoridades sanitárias dos Estados Unidos. Teve, assim, conhecimento das observações da Comissão Americana, as quais estavam de acordo com as observações que ele próprio fizera em Campinas. Já tinha iniciado seus estudos sobre os Culicídeos.

Emílio Ribas, então Diretor do Serviço Sanitário, reconhecendo a importância do caso, principiou a orientar os trabalhos do Serviço Sanitário de acordo com os resultados obtidos em Havana. Nessa ocasião, estabelecia-se a relação entre os casos de febre amarela e o mosquito transmissor. E São Paulo foi, provavelmente, o primeiro que auferiu resultados práticos das experiências de Cuba.

Em 1898, tendo Vital Brasil como assistente no Instituto Bacteriológico, Lutz enceta os seus trabalhos sobre Ofidismo. Em 1899, funda o Instituto Butantã, cuja finalidade primeira foi preparar soro anti-pésteoso, até então só preparado no Instituto Pasteur de Paris. Em 23 de Fevereiro de 1901, é reorganizado o Instituto Butantã e a direção confiada a Vital Brasil que o fez universalmente conhecido.

Em Novembro de 1908 deixa Lutz o Instituto Bacteriológico de São Paulo e, a convite de Osvaldo Cruz, inicia nova e proveitosa fase de investigações científicas em Manguinhos.

O criador de Manguinhos, então muito joven e possuido de ardentes sonhos de ciência e de trabalho, vinha de longe acompanhando a vida de Lutz e nele reconhecia o grande dianteiro nas investigações experimentais em nosso país.

Não falharam as previsões: Lutz tornou-se o maior fator da organização de Manguinhos e da formação científica dos seus pesquisadores. Os trabalhos de Zoologia médica depressa progrediram no Instituto. Entomologistas, parasitologistas de nomeada, cientistas de valor formaram-se ao lado de Lutz.

O Instituto Bacteriológico perdeu Lutz, mas, a figura do mestre jamais se apagou do espírito dos seus discípulos. Seu amor ao trabalho, seu devotamento à ciência ficaram como exemplo.

A direção do Instituto é, então, confiada a Carlos Meyer que já vinha trabalhando ao lado de Lutz. Todavia, Carlos Meyer preferia a administração aos encargos técnicos, por isso, foi transferido, mais tarde, para o Serviço de Demografia Sanitária. Passou a Diretor Teodoro Baima que também já era assistente do Instituto. Ativo, trabalhador, de bondade invulgar, Baima foi incansável no anseio de ver a obra de Lutz ampliada. Introduziu grandes melhoramentos no Instituto. Incentivou as publicações científicas e cuidou com carinho da biblioteca. Foi o introdutor em São Paulo da vacinação anti-tífica. Debela o surto epidêmico de febre tifóide

que em 1914 ameaçava a Capital, vacinando primeiro nos quartéis, depois nos asilos e orfanatos. Com Bruno Rangel Pestana, seu assistente, e Sebastião de Camargo Calazans, então acadêmico de medicina, vai ao Paraná, atendendo ao apelo do Governo daquele Estado, e com eles estanca a grave epidemia que dizimava a população. Vai ao Maranhão, em comissão do Instituto, e combate uma epidemia de peste bubônica. Diagnostica, pela primeira vez, no Estado de São Paulo, a moléstia de Chagas e realiza pesquisas sobre amebas, tentando o seu tratamento pela adrenalina. O estudo sobre *Phlebotomus* prende-lhe a atenção e grande atividade desenvolve com Bruno Rangel Pestana em torno do palpitante problema das águas de abastecimento de São Paulo. Foram seus assistentes, além de Bruno Rangel Pestana, — Antônio Ulhoa Cintra, Alexandrino Pedroso e José Bernardino Arantes.

Conheci Baima, em 1916, quando o procurei para escolher o assunto de minha tese de doutoramento. Empolgava-o, no momento, a vacinoterapia da coqueluche, assunto a que me dedico desde aqueles ensinamentos.

Em 1918 voltei a trabalhar com Baima, mas a nossa convivência foi curta. A epidemia de gripe o vitimou no desempenho das suas funções.

Ulhoa Cintra o sucedeu. Moço de caráter, trabalhador honesto, pouco tempo permaneceu à frente do Instituto. Durante a sua curta mas inteligente gestão, Sebastião de Camargo Calazans e eu entramos para o quadro de assistentes, ao lado de Bruno Rangel Pestana.

Depois de Ulhoa Cintra tivemos, por algum tempo, Jesuino Maciel e, em seguida, Alexandrino Pedroso, que já fora assistente e passara a catedrático de Microbiologia da Faculdade de Medicina. E não foi o único. Adolfo Lindenberg também deixara o Instituto para ocupar a cátedra de Dermatologia e Sifiligrafia da Faculdade. Mas Lindenberg, mesmo professor, continuou no Instituto, investigando. Identificou o parasita da úlcera de Baurú e fez notáveis trabalhos sobre lepra e as micoses em geral.

Alexandrino Pedroso deixa também um magnífico passado científico. Entre as suas realizações de vulto se destacam os primeiros estudos, entre nós, sobre a blasmoticose negra, hoje dita Cromoblastomicose, e sobre a Leishmânia causadora da úlcera de Baurú.

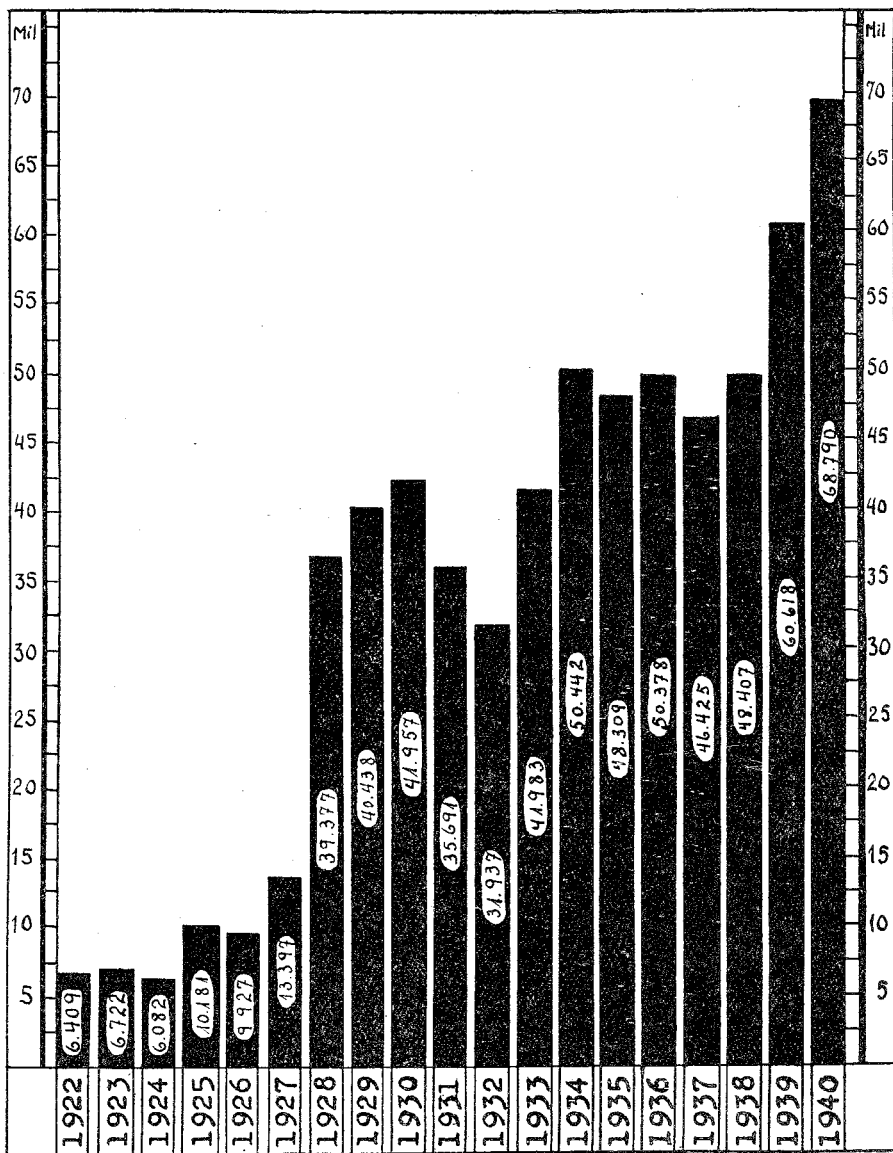
Alexandrino Pedroso falece de meningite cérebro-espinhal contraída no Instituto. Tive que assumir a direção a 19 de Outubro de 1922. Constei, de início, com a colaboração amiga e leal de Bruno Rangel Pestana e Sebastião de Camargo Calazans; mais tarde, de Joaquim Pires Fleury e Luis de Sales Gomes, até que novos elementos vieram ilustrar ainda mais o quadro de assistentes.

Por esse tempo mais estreitas se tornaram as relações entre o Instituto e o Hospital de Isolamento, facilitando inúmeras pesquisas. Por ocasião do surto de tifo exantemático, em 1929, houve não só perfeito entendimento entre esses estabelecimentos vizinhos, como colaboração ampla de outros Institutos científicos de São Paulo. E o resultado foi uma fileira de trabalhos notáveis. José de Toledo Piza, então médico interno do Hospital, traça características epidemiológicas e clínicas próprias do tifo exantemático de São Paulo. Luis de Sales Gomes estuda particularidades do vírus, chegando a conclusões preciosas. No Butantã, Lemos Monteiro se desdobra em torno das pesquisas não só sobre o vírus, sua transmissão, suas relações cruzadas com vírus vizinhos, como sobre o preparo da vacina, usando carrapatos. Vítima do seu devotamento, morre de tifo exantemático. No Instituto Biológico, Juvenal Ricardo Meyer estuda a parte anátomo-patológica. A nós cabe isolar uma raça de *Proteus* aglutinada fortemente pelos soros de doentes de tifo exantemático. Enviado o germe a Felix, esse autor verificou ser o tipo de *Proteus* que corresponde antigenicamente ao tifo reinante em São Paulo e propõe a denominação de *Proteus XL* (raça Lima).

Em muitas outras oportunidades se evidenciou a clarividência com que os dirigentes de São Paulo localizaram o Instituto Bacteriológico ao lado do Hospital de Isolamento. Ainda está no espírito de todos a ameaça que sofreu São Paulo, em 1936, duma epidemia de peste pulmonar, surpreendida graças à ação conjunta dos médicos do Hospital e do Instituto.

Já era patente, quando assumi a direção, a necessidade duma remodelação do Instituto e a conveniência de se reunirem em estabelecimento único, o Instituto Bacteriológico e o Laboratório Bromatológico.

O Bromatológico tem também uma trajetória brilhante. O primeiro passo para a sua formação após a lei n.º 43 que o criou, foi a nomeação do farmacêutico Pedro Rodrigues da Costa Dória para o cargo de Analisador Químico.



INSTITUTO BACTERIOLÓGICO
 Movimento de exames de 1922 a 1940
 (Diretoria Carvalho Lima).

Em 1893 é contratado para organizar o Laboratório, o químico francês Marcel Lachaud. Em 1894 é nomeado para diretor Henrique Schaumann. O seu primeiro gesto foi, em officio ao Secretário do Interior, desistir do ordenado em favor do edifício que se destinara aos Laboratórios de Análises Químicas e Bromatológicas. Succedem-lhe Caramurú Pais Leme, Antônio de Campos Sales. Alí trabalharam Pedro Batista de Andrade, Adelino Leal e muitos outros.

De 1925 em diante, o Laboratório Bromatológico não mais teve diretor. Passou a constituir dependência da Inspeção do Policiamento da Alimentação Pública, proficientemente chefiada por Nicolino Morena. O decreto-lei n.º 11.522, do Snr. Interventor Ademar de Barros fundiu o Instituto Bacteriológico e o Laboratório Bromatológico.

O novo Laboratório Central de Saude Pública de São Paulo passou a funcionar no magestoso prédio construído para o antigo Instituto Bacteriológico. A inauguração se realizou com toda solemnidade a 27 de Outubro de 1940.

A necessidade de novo prédio para o Instituto se fazia sentir há anos. Todos quantos trabalhavam no velho Bacteriológico ansiavam pelo dia em que pudessem ver o tradicional estabelecimento elevado à altura dos crescentes progressos do Estado e funcionando com instalações condignas.

Foi o governador Cardozo de Melo Neto que, por um decreto especial, não só autorizou a construção como abriu o crédito necessário à sua realização. Sua Excia. verificou o local em que seriam marcados os alicerces e o ante-projeto do edifício foi enviado à Secretaria da Viação onde, sob a orientação de Prestes Maia, passou por cuidadoso estudo, não só no tocante ao seu aproveitamento interno como às suas linhas arquitetônicas.

Ao assumir o governo, o Exmo. Snr. Dr. Ademar de Barros encontrou a construção em fase adiantada do concreto armado. As obras prosseguiram normalmente. Houve, todavia, ordem superior para a sua paralização, sob fundamento que deveria passar, alí, uma avenida de acesso ao Hospital das Clínicas. Mas, após melhor estudo da questão, o Snr. Dr. Ademar de Barros não só determinou o seu prosseguimento imediato, como autorizou melhoramentos visando enriquecer, ainda mais, o grandioso projeto.

Coube também ao Dr. Ademar de Barros dar nova organização ao Laboratório Central de Saude Pública de São Paulo, centralizan-

do no Instituto Adolfo Lutz os dois tradicionais laboratórios — o Instituto Bacteriológico e o Laboratório Bromatológico, conferindo-lhe, também, outras importantes atribuições.

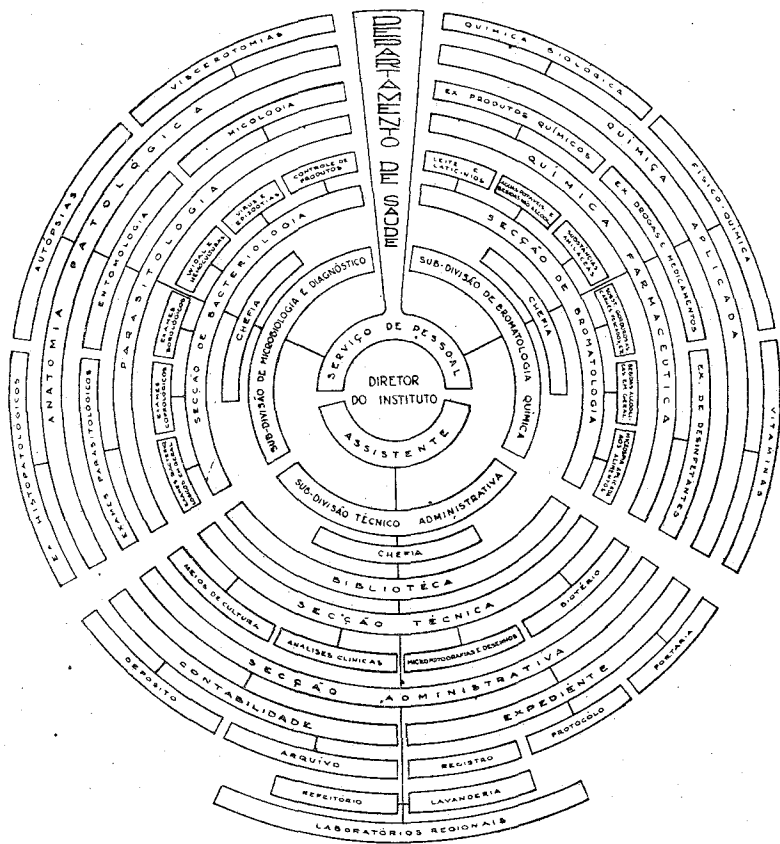
Não é nova a idéia de centralização dos serviços de Laboratório de Saúde Pública de São Paulo.

Já em 1913, quando contratado para o Instituto Bacteriológico, o Prof. Martin Ficker, autoridade respeitável na matéria, solicitado pelo governo do Estado apresentou o primeiro plano de reorganização dos laboratórios e aconselhava a fusão do Bacteriológico e do Bromatológico. Os diretores do Departamento de Saúde — Geraldo de Paula Sousa, Francisco Borges Vieira, Francisco Sales Gomes Jr., Sebastião de Camargo Calazans e Humberto Pascale sustentaram o mesmo ponto de vista. De minha parte, espousei com ardor a idéia desde que assumi a direção do Instituto Bacteriológico. Para estudar a sua execução, fui enviado pelo governo aos Estados Unidos e à Europa, sendo substituído, na direção do Instituto, pelo Dr. Sebastião de Camargo Calazans. E se naquela época a tendência da centralização já se manifestava com oportunidade, tornou-se inadiável nos nossos dias.

A concentração dos laboratórios não constitui, aliás, necessidade exclusiva da organização sanitária de São Paulo. Todos os países adiantados têm resolvido esse problema, unificando as atividades sanitárias dos laboratórios. Podemos citar, como modelo, nos Estados Unidos, o Laboratório de Albany, do Departamento de Saúde do Estado de Nova York. A essa organização muito se assemelha a atualmente adotada no Instituto Adolfo Lutz.

O decreto que criou o Instituto traçou-lhe, também, diretrizes de grande alcance. Instituiu a carreira de biólogo, uma das nossas maiores aspirações. Até então, um assistente que já contasse 30 anos de serviço e um recém-formado que entrasse para o quadro percebiam os mesmos vencimentos. Nenhum direito ou regalia a mais, nenhum aumento ou vantagem para quem empregasse o melhor de sua mocidade na manutenção do prestígio do Instituto. As outras carreiras como a de químico e a de técnico de laboratório, muito concorreram para maior estímulo geral. Foi exigido diploma de curso superior para biólogos e químicos e curso secundário para os técnicos. Sem base de humanidades não se formam técnicos.

O Instituto foi distribuído em três sub-divisões: Técnico-administrativa, de Microbiologia e Diagnóstico, e de Bromatologia e Química. Isso permitiu repartir os serviços e atribuições, promo-



ORGANIZAÇÃO DO INSTITUTO ADOLFO LUTZ

vendo uma colaboração mútua e eficiente entre os quadros técnicos e aliviando a Diretoria de encargos burocráticos que consumiam boa parte do seu tempo. Também a disciplina interna muito se beneficiou com essa divisão do trabalho. Na parte técnico-administrativa, além dos encargos da Secretaria ficaram os serviços de Meios de cultura, Análises clínicas e Biotério, o que redundou num melhor aproveitamento do pessoal, grande eficiência e controle na distribuição de meios de cultura, vasilhame e animais de laboratório.

A sub-seção de meios de cultura vem merecendo grande atenção. Desde a instalação até o seu aparelhamento procuramos prover o serviço de tudo quanto exigem hoje os progressos da ciência para eficiência e perfeição da técnica. Câmaras assépticas para distribuição de meios, fornos e autoclaves modernos, e, sobretudo, técnicos devotados e competentes.

No Biotério, já bem estudado para próxima construção, além dos pavilhões destinados a animais diversos, inoculados ou não, figuram um pavilhão central para serviços especiais de exames de ratos suspeitos de peste e trabalhos sobre virus, salas de autópsias para cadáveres de moléstias infectuosas, e laboratórios anexos para colheita e preparo de material para exames histopatológicos e bacteriológicos. Haverá escritório, pavilhão para lavanderia, depósito para alimentos de animais e forno crematório. A construção do biotério, alma dos laboratórios bem montados, completará definitivamente a instalação do Instituto Adolfo Lutz.

Além dos exames necessários ao esclarecimento de diagnósticos de doenças de imediato interesse para a saúde pública, o Instituto vai proceder a análises de puro interesse clínico. Essas análises serão gratuitas para o Hospital de Isolamento "Emílio Ribas" e quando para complemento de diagnóstico de moléstia infectuosa. Para particulares, o governo estabeleceu preços, sem, entretanto, ferir interesses dos especialistas, uma vez que a tabela adotada foi a mesma dos laboratórios de análises particulares.

O funcionamento do laboratório de análises clínicas após a regulamentação do Instituto e uma propaganda eficiente, não só beneficiará os serviços de Saúde Pública e o público em geral, como poderá constituir apreciável fonte de rendas para o Estado.

A sub-divisão de Microbiologia e Diagnóstico enfeixou três seções: Bacteriologia, Parasitologia e Anatomia Patológica. Em poucos meses tivemos a prova do acerto da medida.

meu caro Cavaleiro Lima

Saúde e paz em companhia
de todos os seus.

Senti muito não estar em
vossa casa no momento em que v. d.,
com tanta gentileza, me veio con-
vidar para assistir à inauguração do
novo prédio do Instituto Zootécnico,
que o meu governo fez questão de im-
plantar e levar adiante, apesar das
aperturas financeiras, daquele momen-
to.

Não podendo, por motivo
de força maior, comparecer, peço
que v. d. e seus dedicados companheiros,
me dêem, em espírito, como presente,
e acompanhando de longe, mas
com os olhos do coração, o indefesso
trabalho que realizam em silêncio
com tanto respeito e competência.

Um grande e
afetuoso abraço do velho amigo e amigo

Cardozo de Melo Neto

S. Paulo, 27 Outubro 1940.

A secção de Bacteriologia se encarrega de quasi todos os exames de maior interesse para a saude pública: exames bacteriológicos, sorológicos e biológicos. E' a secção de maior movimento do Instituto.

A secção de Anatomia Patológica faz as autópsias necessárias ao Hospital de Isolamento ou ao Departamento de Saude e se encarrega dos exames histopatológicos, inclusive os destinados aos serviços de Cancer.

A secção de Parasitologia faz não só os exames parasitológicos e entomológicos em geral, como as pesquisas atinentes às micoses. No momento procede a importantes investigações sobre as tinhas nas escolas e asilos de São Paulo.

A sub-divisão de Bromatologia e Química compreende as secções seguintes: Bromatologia, Química Farmacêutica e Química Aplicada. Nessa sub-divisão pensamos criar nova secção que, por ora, funciona como sub-secção — a de Controles biológicos. Essa secção, a cargo de biologistas e químicos, desempenhará papel proeminente na vida do Instituto. Aí se fará o controle dos produtos biológicos, como soros e vacinas, e dos medicamentos; verificar-se-á a esterilidade dos produtos fabricados pelo Estado ou vendidos no mercado, inclusive do material empregado nas suturas cirúrgicas; far-se-á o controle biológico dos alimentos, inclusive microscopia alimentar, exames para pesquisa de anaeróbios em geral e botulismo em particular, e, tambem, o controle biológico de água e leite.

Exceção, pois, do biotério, todas as secções do Instituto foram ou estão sendo adequadamente instaladas e se acham em pleno funcionamento, graças a créditos que o Governo do Estado promoveu. Mobiliário fino para as salas da Diretoria e Secretaria, magnífica sala de conferências, instalações completas para a biblioteca, perfeito sistema de fichários, telefones internos, moderna aparelhagem de microscopia, física e química.

De tudo foi o Instituto provido e, magnificamente equipado, iniciou, este ano, nova e promissora fase. Atende ao Estado inteiro. Na Capital recebe material de todos os serviços do Departamento de Saude, do Hospital de Isolamento e serve ao público em geral. Para o interior realiza quasi todos os exames dos Centros de Saude e Postos de Higiene. O número de análises e exames para diagnóstico atingiu a estupenda cifra de 20.574, no primeiro trimestre. De 6.298 em Janeiro, passou a 6.561 em Fevereiro e

7.715 em Março, dando uma média de quasi um exame por minuto e representando um valor total de Rs. 937:230\$000, o que faz prever cerca de 100.000 exames para o ano, no valor de, aproximadamente, Rs. 4.000:000\$000.

O pessoal técnico e burocrático tornou-se insuficiente para atender a todas as necessidades dos exames de rotina e dos serviços de secretaria. O Governo do Estado já cogita da ampliação do quadro, pois, o Instituto terá, também, que zelar pelo seu patrimônio científico. Técnicos que ao lado dos serviços de rotina não empreendem investigações com eles relacionados, são candidatos certos à fossilização.

O Instituto manterá as tradições do seu passado brilhante. A escola de Lutz, já sustentada por Bonilha de Toledo, Vital Brasil, Teodoro Baima, Alexandrino Pedroso, Adolfo Lindenberg, e muitos outros, não será diminuída pelos que integram hoje o corpo técnico do Instituto Adolfo Lutz.

Organizaremos, e são dos planos do Departamento de Saúde, os laboratórios regionais, onde os métodos serão os nossos e cujos técnicos conosco virão completar a sua aprendizagem.

Já iniciamos o nosso livro de técnica contendo todos os métodos padrões adotados nos laboratórios. A parte do antigo Instituto Bacteriológico mais ou menos estava feita. Trabalha-se ativamente no ramo da Bromatologia e Química e no que diz respeito aos controles biológicos. Será a difusão por todo o país, das técnicas iniciadas por Felix Le Dantec e Adolfo Lutz, no Instituto Bacteriológico, e por Lachaud, Pedro Batista de Andrade e Adelino Leal, no Laboratório Bromatológico, e aperfeiçoadas segundo a evolução da ciência.

As nossas reuniões científicas que já se realizavam normalmente tornar-se-ão cada vez mais interessantes e proveitosas, graças ao trabalho em conjunto de químicos e biologistas.

Ao lado do papel altamente beneficiador dos interesses do Departamento de Saúde e das necessidades gerais que pela evolução normal do Estado lhe foram impostas, o Instituto Adolfo Lutz levará avante o seu programa científico. A lei que o reorganizou, conservou-lhe, além de outras, a responsabilidade do estudo da etiologia das epidemias e endemias e das epizootias que se transmitem ao homem, característica que fez do antigo Instituto Bacteriológico um estabelecimento de renome universal. E se o diagnóstico das moléstias

infecciosas e os meios de defesa do organismo necessitam de cuidados especiais, não menos importantes são os estudos que se deverão realizar em torno da Bromatologia e da Química. As duas ciências — Bacteriologia e Química — marcham unidas nas investigações modernas. Os fenômenos físico-químicos regem não só as mais delicadas reações imunológicas como o metabolismo microbiano e, para serem estudados à luz dos conhecimentos atuais, não podem prescindir da química pura. Biologistas e Químicos do Instituto Adolfo Lutz tem, portanto, mais um dever a cumprir — Pesquisar.

Para divulgar essas pesquisas, apresentamos hoje a REVISTA DO INSTITUTO ADOLFO LUTZ que, preenchendo uma enorme lacuna, satisfaz, também, a uma das maiores aspirações dos discípulos de Lutz. Será, finalmente, o testemunho de que o espírito do grande biologista ainda dirige a sua escola.

SOBRE A PRESENÇA DO TIFO EXANTEMÁTICO DO TIPO MURINO OU ENDÊMICO EM SÃO PAULO

Estudo de quatro casos prováveis

LUÍS DE SALES GOMES

Chefe da Sub-divisão de Microbiologia e Diagnóstico do Instituto Adolfo Lutz.

As primeiras observações de casos de tifo exantemático murino ou endêmico são devidas a Maxcy¹ e datam de época relativamente recente (1926). Aos trabalhos iniciais deste autor, realizados no sul dos Estados Unidos, seguiram-se os estudos feitos no mesmo sentido, no México, por Mooser², Mooser, Castañeda & Zinsser³, estudos estes que culminaram no isolamento do vírus, de cérebro de ratos. Contemporaneamente com estes autores, Kemp⁴, e Dyer, Rumreich & Badger⁵ conseguiram isolar idêntico vírus no sul dos Estados Unidos.

Em 1931, Marcandier & Pirot⁶ isolam de tripulantes de navios surtos em Toulon (França) um vírus que seria análogo ao verificado na América, e, ao mesmo tempo, P. Lépine⁷ descreve na Grécia uma modalidade benigna de tifo exantemático, demonstrando a presença do vírus no encéfalo de ratos capturados em Atenas e, posteriormente, na Síria.

Desde então inúmeras têm sido as monografias publicadas sobre o estudo clínico, epidemiológico, sorológico, imunológico e experimental da nova infecção e de seu agente etiológico, alargando-se por outro lado, a sua incidência a territórios da Ásia e da África.

A respeito da presença dessa moléstia na América do Sul, devemos citar de início as tentativas realizadas por pesquisadores pátrios, dirigidas no sentido de um possível isolamento de vírus exantemático de ratos da cidade de S. Paulo. Assim, em 1932, Monteiro, Fonseca & Prado⁸, investigando a possibilidade de ratos serem os depositários de vírus da moléstia exantemática de caráter grave, cuja existência nas zonas sub-urbana e rural de

S. Paulo havia sido assinalada em 1931 por Piza, Meyer, S. Gomes, R. Lima & outros⁹, conseguiram isolar um vírus, de ratos capturados na zona urbana da cidade. A esse propósito, concluíram que este roedor seria um possível depositário do vírus do tifo exantemático de S. Paulo. Observações mais detalhadas sobre este vírus de rato foram porem feitas no mesmo ano por Monteiro & Fonseca¹⁰ que o compararam com o vírus isolado do sangue de doentes do tifo exantemático paulista. Dessa comparação verificaram não haver relações imunológicas entre ambos — o que os levou a concluir que o vírus isolado de rato não era igual ao do tifo exantemático de S. Paulo, e nem também se assemelhava ao vírus do tifo exantemático endêmico, pois que não havia reação escrotal nas cobaias e o encontro de rickettsias era muito raro. Por fim, baseados nas suas observações, lançam a hipótese da existência, entre nós, de uma outra modalidade de febre exantemática de origem murina.

Mais tarde (1934), Monteiro¹¹ ainda realizou estudos comparativos entre o tifo exantemático de S. Paulo e a febre exantemática existente endemicamente em Tinogasta (Argentina), efetuando para isso provas de proteção com soro de convalescente que recebera daquele país vizinho. Foram as seguintes as conclusões a que chegaram: que a febre observada em Tinogasta (Argentina) não apresentava relações imunológicas com o tifo exantemático de S. Paulo nem com a febre exantemática dos Montes Rochosos, mas que pertencia provavelmente ao grupo de rickettsioses em que se incluem o tifo histórico (europeu) e o tifo murino, endêmico.

Na Venezuela, em 1938, Riskey, Figarella & Van Praag¹² fazem a primeira comunicação sobre a presença do tifo exantemático no país, apresentando 10 casos ocorridos na cidade de Callau, todos com a sintomatologia clínica do tifo exantemático murino. Logo depois, Figarella & Archila¹³, apoiados na reação sorológica de Weil-Felix, descobrem novo caso em Bolivar, e, posteriormente, 5 casos diagnosticados clínica e sorologicamente na região de Caracas, são relatados por Iraborry¹⁴.

Desde que Piza, Meyer & Gomes¹⁵ publicaram, em 1932, os resultados de três anos de observações sobre o "Tifo exantemático de S. Paulo", não descuidamos da possibilidade do aparecimento, entre nós, de febres exantemáticas filiadas a outros grupos.

Assim é que, com Piza, sempre procuramos esclarecer epidemiológica, clínica e imunologicamente a origem e identidade dos virus isolados dos doentes excepcionalmente vindos de zona mais ou menos central da cidade, e também daqueles que, em sua história clínica nenhuma referência faziam a carrapatos. Por fim as mesmas provas foram aplicadas a outros doentes que, vencendo a grave infecção, curavam-se (cerca de 25%).

Nenhuma indicação epidemiológica ou clínica diferente da comum e nenhum outro virus, experimental e imunologicamente diverso do habitualmente isolado, conseguimos então encontrar.

A moléstia, no centro urbano, tem sido até agora excepcional. Os raros doentes aí assinalados poderiam, talvez, ter-se contaminado fóra, ou mesmo ser oriundos de carrapatos (*Amblyoma*) possivelmente transportados da zona sub-urbana pelo homem ou por animais domésticos (ver trabalhos publicados por S. Gomes¹⁶ e por J. Travassos¹⁷). Por outro lado, a simples deposição de dejetos altamente virulentos na superfície cutânea, explicaria talvez a nenhuma referência a ixodídeo por parte de muitos doentes.

O piolho (*Pediculus capitis*), capaz de manter o virus, segundo a experiência de Meyer & Saborido¹⁸, ou o persevejo (*Cimex lectularius*), capaz de transmiti-lo experimentalmente, como referem Moreira & Magalhães¹⁹, poderiam justificar casos excepcionais. Mas o fato é que, na parte central da cidade, onde não existem capinzais nem outras condições favoráveis à procreação de ixodídeos, a moléstia é, praticamente, nula.

Procurando investigar a possibilidade da existência da rickettsiose paulista no interior do Estado, resolveu, em 1933, o Dr. Carvalho Lima, digno Diretor do antigo Instituto Bacteriológico de S. Paulo (hoje "Instituto Adolfo Lutz"), que todos os sangues para diagnóstico de febre tifóide, enviados pelos numerosos Postos e Centros de Saúde da Capital e do interior, passassem invariavelmente pela prova de Weil-Felix. Esta providência veio revelar em vários municípios a existência de indivíduos cujos soros atingiam títulos altos de aglutinação em face dos vários *Proteus X*, especialmente do OX19 (1/800 até 1/6.400).

E' certo que em alguns municípios (Sorocaba, Limeira e, ultimamente Araras) foram observados casos graves e mortais da in-

fecção; mas, por outro lado, devemos assinalar também que, em municípios muito distanciados dos primeiros citados (Pinhal, S. Carlos, Jaú, S. Manoel), houve doentes com infecção do tipo gripal, sem exantemas perceptíveis, apresentando Widal negativo mas Weil-Felix positivo a 1/1.600. De S. José do Rio Pardo recebemos ultimamente no Instituto, em épocas diferentes, soros de doentes suspeitos de febre tifóide cujas reações de Widal foram negativas, mas que apresentavam, entretanto, títulos altos de aglutinação na prova de Weil-Felix (1/800). Informes solicitados a respeito destes doentes esclareceram, porém, que os mesmos apresentavam uma infecção evoluindo benignamente, do tipo mais ou menos gripal e sem exantemas perceptíveis. Entretanto, os soros obtidos, dias após a primeira colheita, revelaram apreciável aumento do seu teor aglutinante (1/3.200 — 1/6.400).

A presença desses casos no interior do Estado de S. Paulo, sugerem-nos as seguintes perguntas: Não seria possível a existência do tifo exantemático murino ou endêmico no interior? Não poderiam também estes casos estar ligados a uma variante do “Tifo exantemático de S. Paulo”, apresentando-se “mais benigna, mais rural e difusa” como a variante da “Rocky Mountain spotted fever” mais comum nos Estados da região leste dos Estados Unidos, adaptada ao cão, que é o seu reservatório de virus, e ao carrapato do cão (*Dermacentor variabilis*), que é o seu transmissor?

São hipóteses que não poderão por enquanto ser solucionadas, mas que, vencidas certas dificuldades existentes, seriam talvez satisfatoriamente resolvidas, uma vez que as investigações se orientassem para o lado epidemiológico, clínico, imuno-sorológico e experimental da moléstia.

Finalizando estas simples suposições, baseadas exclusivamente na prova de Weil-Felix e no caráter benigno de certos casos da infecção observada no interior do Estado, devemos ainda referir aqui os recentes trabalhos publicados por Magalhães & Moreira²⁰ relativos ao achado de formas ambulatórias, muito benignas (“typhus ambulans”) e o de formas súbitas, muito graves (“typhus siderans”) ao lado das formas graves já observadas no “Tifo exantemático de Minas Gerais”. Estas interessantes observações poderiam igualmente servir de base aos que tivessem o encargo de estudar os casos

benígnos que por vezes têm aparecido no interior do Estado de S. Paulo e aos quais há pouco nos referimos.

* * *

Nos meses de Maio, Junho e Novembro do ano último (1940), tivemos ocasião de verificar o aparecimento, na cidade de S. Paulo, de alguns doentes de febre exantemática apresentando evolução clínica mais ou menos benígna, exantema limitado a determinadas regiões do corpo e cura após um período febril variando de 13 a 16 dias.

Diferindo assim a moléstia, grandemente, dos casos habituais de "Tifo exantemático de S. Paulo" observados desde 1929, resolvemos dedicar-lhe mais de perto nossa atenção.

A circunstância de pertencerem três dos doentes referidos à "Secção de Epidemiologia e Profilaxia Gerais" do Departamento de Saude do Estado, onde se ocupavam do serviço de captura de ratos e pulgas, permitiu que dois colegas daquela "Secção" pudessem examiná-los em casa e providenciar sua remoção (casos ns. 2 e 3) para o Hospital de Isolamento "Emílio Ribas". (1)

O doente não hospitalizado (caso n.º 1) foi visto em consultório, com mais ou menos 3 dias de moléstia, e só mais tarde, quando convalescente, foi colhido seu sangue para exames de laboratório (R. de Vidal, hemocultura e R. de Weil-Felix). Os resultados destes exames vieram então orientar a diagnóse para febre exantemática.

O caso n.º 4 refere-se a um indivíduo que há muito tempo exercia sua atividade diária na venda de sacaria aos armazens de secos e molhados das ruas Paula Souza e Santa Rosa, situadas em zona mais ou menos central da cidade.

Damos abaixo um relato sucinto das observações dos doentes, na ordem do seu aparecimento.

1.º CASO

C. L. M., brasileiro, branco, 42 anos, casado, vacinado contra febre tifóide, residente à rua Piracema n.º 8, bairro do Chora Menino (alto de Sant'Ana).

(1) Agradecemos aos Drs. H. S. Correia e F. O. Lima, dignos chefe e médico-epidemiologista da "Secção de Epidemiologia e Profilaxia Gerais" os informes que gentilmente se dignaram de nos prestar. Nosso agradecimento estende-se também ao distinto colega, Dr. J. A. Arantes, ilustre diretor do Hospital de Isolamento "Emilio Ribas", que nos facultou o estudo e colheitas de materiais dos doentes.

Teve varíola aos 14 anos. E' pegador de ratos da "Secção de Epidemiologia e Profilaxia Gerais" há varios anos, exercendo sua atividade no "Moinho Matarazzo (bairro do Braz), nesta Capital. Às vezes acha pulgas na roupa de trabalho.

Nos últimos dias de Abril de 1940 sentiu-se com certa indisposição para o trabalho até que, a 1.º de Maio, sobrevindo-lhe forte dor de cabeça, arrepios de frio e falta de apetite (anorexia), faltou ao serviço e acamou. Três dias depois, com febre alta, foi levado ao consultório do Dr. S. Correia que o examinou e medicou. Nessa ocasião não apresentava ainda qualquer exantema no corpo e tinha o baço e fígado normais à palpação. Lembra-se de que, no quinto ou sexto dia de moléstia, ao mudar a camisa molhada de suor, sua mãe chamou-lhe a atenção para umas manchas avermelhadas, visíveis no corpo, "da barriga para cima" e um pouco tambem nos braços. Nos pés, nas mãos e na face nada notou. As manchas desapareceram em 3 ou 4 dias. A febre porem continuava e sentia que os olhos estavam inflamados, fazendo-lhe mal a claridade que entrava pela janela (fotofobia), pelo que pediu que a tapassem com um pano. Teve ainda uns 5 dias de febre e ficou muito fraco e sem forças (adinamia).

Voltando ao serviço, quasi 1 mês após o início da moléstia, foi levado pelo Dr. S. Correia ao "Instituto Bacteriológico" (Instituto Adolfo Lutz) para ver se os exames de laboratório esclareceriam o mal que havia tido, pois casos mais ou menos semelhantes vinham ocorrendo entre empregados da "Secção de Epidemiolôgia", dois dos quais achavam-se em estudos no Hospital de Isolamento.

PROVAS DE LABORATÓRIO

		Em 28-5-940	
<i>Reação de Widal:</i>	{	T. O.	+ 1/50
		A.	+ 1/100
		B.	+ 1/100
<i>Reação de Weil-Felix:</i>	{	F.OX19	+ 1/1.600
		P.OXK	+ 1/1.600

2.º CASO

A. P., português, 47 anos, casado, vacinado contra varíola e febre tifóide, residente à rua Cachoeira n.º 56, zona central do bairro do Braz (Capital). Está no Brasil há 14 anos e a única moléstia que se lembra de ter tido, até então, foi a gripe de 1918. Há 3 anos é pegador de ratos da "Secção de Epidemiolôgia", exercendo essa atividade no "Moinho Minette-Gamba", no bairro da Moóca (Capital). Acha frequentemente pulgas na roupa.

A 2 ou 3 de Maio sentiu dores de cabeça e arrepios de frio. Julgando tratar-se de um resfriado continuou no trabalho até o dia 5, quando teve tonturas e sensação de febre, que o fizeram reter-se em casa. A 7 foi visto

pelo Dr. S. Correia que, notando ligeira erupção no seu tronco, removeu-o para o H. de Isolamento. A 8 foi examinado pelo Dr. J. A. Arantes e por nós. Queixava-se de forte dor de cabeça, fraqueza e dores nas pernas. Apresentava língua saburrósa, olhos injetados, baço e fígado normais à palpação e, para o lado da pele, um leve exantema constituído por elementos maculosos, esparsos, distribuídos pelas faces anterior e laterais do torax. Estes elementos permaneceram ainda dois dias, não dando origem a pápulas. Pele da face, dos ante-braços, das mãos, das pernas e dos pés, completamente íntegra.

Teve febre durante 9 dias, quando hospitalizado (ver quadro térmico da fig. 1), variando a temperatura de 38,5 C. a 40°C. na primeira semana. Remissões via de regra matinais. Pulso de acordo com a temperatura. Defervescência em lise rápida. Terapêutica: sintomática e filtrado T. A. B. injetável. Alta.

PROVAS DE LABORATÓRIO

	Em 8-5-940	Em 16-5-940	
<i>Reação de Vidal:</i>	T.O.	+ 1/100	+ 1/100
	A.	+ 1/50	+ 1/50
	B.	+ 1/50	+ 1/50
<i>Reação de Weil-Felix:</i> ...	P. OX19	+ 1/400	+ 1/1.600
	P. OXK	+ 1/400	+ 1/1.600
<i>Hemocultura:</i> (em bile e em liquoid)	Negativa	Negativa	

3.º CASO

A. H., português, 40 anos, vacinado contra varíola e febre tifóide, residente à rua Anhaia, bairro do Bom Retiro (Capital). Está em S. Paulo há 13 anos. A única moléstia que se lembra de ter tido foi congestão pulmonar. E' empregado da "Secção de Epidemiologia", ocupando-se na captura das pulgas dos ratos pegados pelo pessoal do serviço de vigilância contra a Peste bubônica. Às vezes acha pulgas na roupa.

A 7 de Julho de 1940, sentiu mal-estar, forte dor de cabeça, dores nas pernas, recolhendo-se à casa. Continuou com dores de cabeça e febre, sendo visto pelo Dr. F. O. Lima, dia 10 ou 11. Apresentava baço levemente palpavel, conjuntivas congestas, febre vespertina variando entre 39 e 39,5°C., forte dor de cabeça e sudorese intensa. Nada foi notado para o lado da pele. Removido para o H. de Isolamento a 12.

Durante a moléstia no Hospital, os sintomas iniciais, atraz referidos, estiveram sempre presentes, especialmente forte cefalalgia frontal, prostração e dores nas pernas. Não foi visto exantema em nenhuma região do corpo. Baço ligeiramente palpavel. A curva térmica (fig. 1) aproxima-se muito da do caso anterior. Pulso em relação com a temperatura. Terapêutica: sintomática e filtrado T. A. B. injetável. Alta.

PROVAS DE LABORATÓRIO

	Em	Em	Em
	12-6-940	15-6-940	26-6-940
<i>Reação de Vidal:</i>	T.O. + 1/100	+ 1/50	+ 1/100
	A. neg.	neg.	neg.
	B. + 1/50	+ 1/50	+ 1/100
<i>Reação de Weil-Felix:</i> ...	P.OX19 . neg.	+ 1/100	+ 1/400
<i>Hemocultura:</i> (em bile e em liquoid)	neg.	—	neg.

4.º CASO

J. R., português, 47 anos, casado, vacinado contra varíola, residente à rua Marcos Teixeira, n.º 21, bairro do Ipiranga (Capital). Reside em S. Paulo há 36 anos. É corretor de sacaria, exercendo sua atividade diária principalmente junto aos armazens e depósitos de secos e molhados das Ruas Paula Souza e Santa Rosa, nesta cidade. Nunca encontrou carrapatos no corpo e, excepcionalmente, acha pulgas nas roupas.

Na tarde de 6 ou 7 de Novembro de 1940 sentiu arrepios de frio, voltando no dia seguinte ao trabalho. Continuando os arrepios foi para casa e no dia 9 chamou médico que diagnosticou gripe. Passados alguns dias, continuando o mal-estar que sentia, agora acrescido de febre alta à tarde (39°C), de suores, anorexia, náuseas e de pequenas manchas na pele do tronco e da parte média dos braços, resolveu chamar médico do Dep. de Saude que, prestando especial atenção às manchas cutâneas, removeu-o para o H. de Isolamento (dia 17).

Ao exame clínico feito pelo Dr. J. A. Arantes acompanhado por nós verificou-se: face corada, lingua seca e saburrosa, olhos ligeiramente injetados. Fígado e baço normais à palpação. A pele das regiões anterior e, sobretudo, laterais do torax apresentava um ligeiro exantema róseo-pálido, formado de elementos sem bordos definidos. Alguns destes elementos eram também encontrados, mais apagados porem, na parte média dos braços. Dois ou três dias depois eram já dificilmente visíveis. No ápice da febre, à noite, tinha às vezes delírios com sobressaltos. A curva febril (fig. 1) superpõe-se também, mais ou menos, às curvas dos doentes anteriores. Pulso relativo à temperatura. Terapêutica: sintomática e filtrado T. A. B. injetavel. Alta.

PROVAS DE LABORATÓRIO

	Em 18-11-940	Em 27-11-940
<i>Reação de Vidal:</i>	T.O. neg.	neg.
	A. neg.	neg.
	B. neg.	neg.
<i>Reação de Weil-Felix:</i> ...	P. OX19 + 1/800	+ 1/6.400
<i>Hemocultura:</i> (em bile e em liquoid)	neg.	—

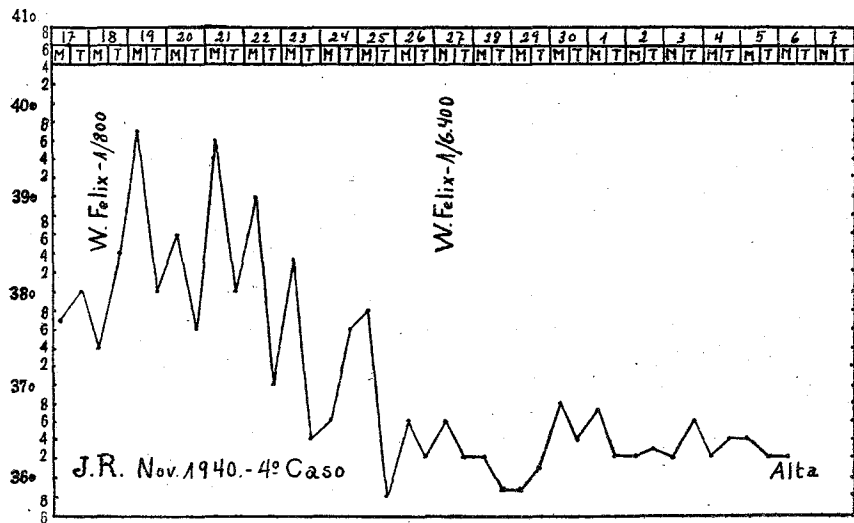
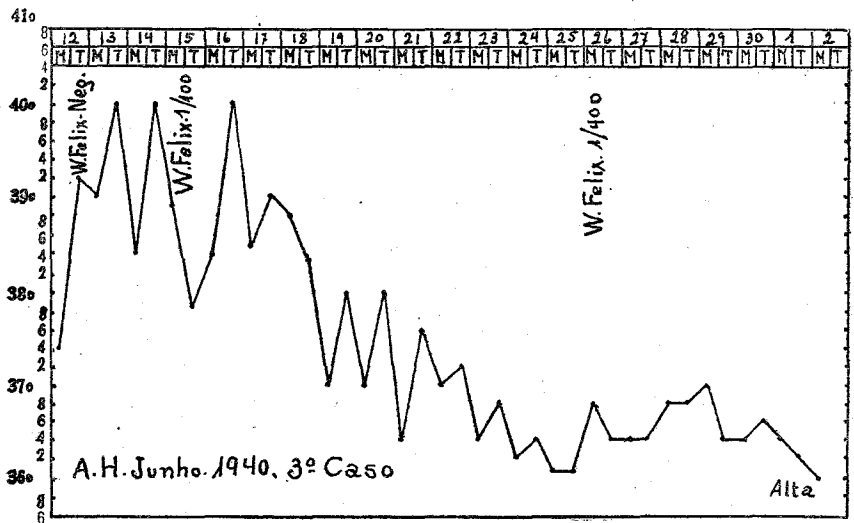
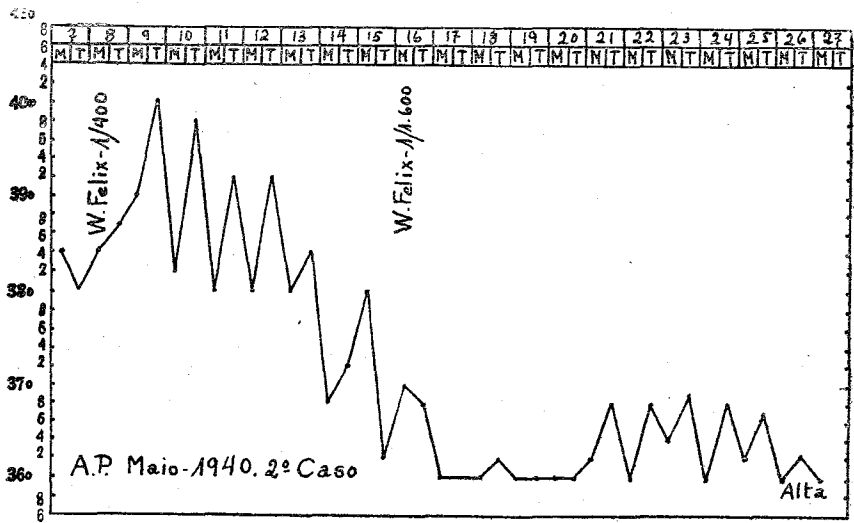


FIG. 1
Curvas térmicas dos 2.º, 3.º e 4.º casos

INOCULAÇÕES EM COBAIAS

2.^o Caso (A. P.) — 1.^a cobaia: Inoculada com 3 cc. de sangue colhido do doente em 7-15-940. Reação térmica (40°C.) no 14.^o dia. Sangria, passagem de sangue. Sacrificada no dia seguinte, apresentou baço ligeiramente aumentado.

2.^a cobaia: Reação térmica (40,5°C.) no 11.^o dia, com reação escrotal forte (fig. 2) que cedeu três dias depois. Foi sangrada para passagem, quando em hipertermia (40°). Aparência geral do animal: boa. Normalizando-se a temperatura durante 8 dias, foi esta cobaia de novo re-inoculada, porem com o "virus exantemático de S. Paulo" (amostra 137). Após 5 dias de incubação apresentou 40°C., sendo sacrificada. Baço aumentado. Raras rickettsias nas células mesoteliais.

O sangue da 2.^a cobaia permaneceu 10 dias na geladeira e, ao ser inoculado depois em outras cobaias, infelizmente não produziu mais reação alguma, apesar das sangrias e novas passagens feitas independentemente de elevação térmica.

3.^o Caso (A. H.) — 1.^a cobaia: Inoculada com sangue colhido do doente em 12-6-940. Reação térmica (40°C.), no 5.^o dia, com reação escrotal que desapareceu três dias depois, com a defervescência. Foi sangrada para passagem, quando em hipertermia. Normalizando-se a temperatura durante 8 dias, foi o animal re-inoculado com o "virus exantemático de S. Paulo" (amostra 137), tal como no caso anterior. Após 4 dias de incubação apresentou 40°C., morrendo dois dias depois. À necropsia apresentava ligeiro aumento do baço e raras rickettsias nas células do mesotélio peritoneal.

As passagens do sangue colhido, quando da primeira reação térmica, deram também hipertermia em mais duas cobaias, após 5 e 6 dias de incubação. No 3.^o dia da febre foram sacrificadas, mas, ao examinarmos os preparados de raspagem do peritônio e da vaginal destas cobaias sacrificadas, surpreendemo-nos com o encontro de raras rickettsias e numerosos Toxoplasmas — numa cobaia, e de apenas Toxoplasmas — noutra. Esses protozoários (provavelmente *Toxoplasma caviae* Carini & Migliano²¹), foram encontrados depois em varias outras cobaias de passagem de sangue e cérebro, e ainda em outras não inoculadas e pertencentes a um lote que havíamos recebido de uma cidade do interior.

Com o fito de re-isolar o virus em estudo, tentamos, segundo o conselho de Lépine²², a filtração de emulsões de cérebro e sangue em caldo peptonado, atravez de velas. Tudo porem foi em vão.

As inoculações dos filtrados em novas cobaias não produziram infecção aparente nem inaparente.

4.^o Caso (J. R.) — 2 cobaias inoculadas, uma com 2 cc. e outra com 3 cc. de sangue colhido do doente em 18-11-940, não apresentaram nenhum sinal de infecção aparente ou inaparente.



FIG. 2

Reação escrotal da 2.^a cobaia (2.^o caso)

COMENTÁRIO

Lépine²³, baseado em estudos feitos na Grécia e na Síria, onde observou numerosos casos de tifo exantemático murino, diz que: “toutes les enquêtes cliniques montrent qu'il faut une cohabitation étroite entre l'homme et le rat pour que l'infection passe du rat sur l'homme”. Acha ainda o citado autor que o diagnóstico dos diferentes tipos de febres exantemáticas é, geralmente, possível

graças aos caracteres clínicos e epidemiológicos, auxiliados, nos casos duvidosos, pelas pesquisas de laboratório.

De sua parte, Rumreich²⁴, amparado em observações que realizou nos Estados Unidos, faz o estudo comparativo, epidemiológico e clínico, entre a variante benigna da Febre exantemática dos Montes Rochosos e o tifo endêmico murino, ambos observados com maior frequência nos Estados da costa Atlântica daquele país.

Diz este autor, em resumo, o seguinte sobre o tifo endêmico: "E' moléstia essencialmente urbana. O homem é atacado mais frequentemente que a mulher, devido naturalmente aos seus afazeres que o tornam mais exposto à infecção. Pela mesma razão a meia idade fornece maior proporção de casos. E' infecção rara entre as crianças. Sendo o rato o depositário de virus, os comerciantes de gêneros alimentícios são os mais expostos à moléstia. A maioria dos casos ocorre esporadicamente, podendo ocasionalmente haver casos múltiplos originários de um mesmo foco. Os pulicídios dos ratos (*Xenopsylla cheopis*) são os transmissores. O período de incubação varia de 5 a 14 dias.

O início da infecção é ora abrupto, com arrepios, ligeira febre, dor de cabeça, vertigens, anorexia e prostração, ora gradual, com desenvolvimento parcial dos sintomas e com períodos de melhora subjetiva durante os quais o paciente chega a se levantar.

A temperatura sobe à tarde, atingindo 38,5° a 40°C. durante 3 a 6 dias, com remissões matinais, permanecendo de 10 a 16 dias, usualmente 14 dias. A defervescência dá-se geralmente em lise rápida. O exantema aparece entre o 4.º 6.º dias, ocorrendo via de regra no 5.º dia. E' visto primeiramente na parte baixa das regiões anterior e laterais do tronco, propagando-se depois para a parte superior do abdomen: frequentemente ele é observado também na superfície média dos braços. Em muitos casos não vai além; algumas vezes as costas são atingidas e menos frequentemente chega a generalizar-se. As palmas das mãos, plantas dos pés e a cabeça não são via de regra atingidos.* Em alguns casos vêem-se verdadeiras máculo-pápulas e ocasionalmente elas são petequiais. Duram em geral 2 a 9 dias, mas em certos casos podem mesmo faltar.

No ápice da infecção a face é corada e a língua seca e saburrosa. Em muitos casos nota-se conjuntivite intensa. O baço é raramente palpavel.

A condição mental não é geralmente alterada. A apatia é frequente podendo alternar com períodos de irritabilidade. A convalescença é rápida nos jovens e lenta nos velhos.

Em síntese, os principais sintomas na ordem de sua frequência são: prostração, forte dor de cabeça comumente frontal, constipações, náusea, ligeiras dores nas costas e nas pernas, tosse seca, fotofobia e suores noturnos às vezes precedidos por vertigens”.

Os nossos quatro casos, como se vê, enquadram-se perfeitamente dentro da descrição acima: doentes de meia idade, convivendo mais ou menos intimamente com ratos, aparecendo esporadicamente, apresentando os sintomas iniciais descritos, inclusive febre alta durante mais ou menos 6 dias e período febril total de cerca de 15 dias. Erupção exantemática do torax e da parte média dos ante-braços, durante a febre, e queda desta em lise rápida, completam o símile clínico.

Ao par, porem, destes dados epidemiológicos e clínicos, devemos juntar a prova sorológica de Weil-Felix, tanto mais importante nos casos em apreço quanto a vimos aumentar em seu título aglutinante, no curso da infecção (3 casos).

A vacinação anti-tífica (T. A. B.) explicaria certamente os títulos baixos das R. de Widal dos três doentes funcionários da “Secção de Epidemiologia” do Dep. de Saude. Aliás, o único doente que não era vacinado contra a febre tifóide (4.º caso), teve sua R. de Widal absolutamente negativa.

No que toca às inoculações, vê-se que os sangues colhidos dos doentes 2 e 3, na fase aguda, deram, nas primeiras passagens em cobaias, a indicação de estarmos em presença de um provavel virus exantemático mais benigno para as cobaias do que o habitualmente isolado por nós do “tifo exantemático de S. Paulo”. E’ certo que o virus não reproduziu nas cobaias não sacrificadas o quadro febril mais ou menos típico do tifo endêmico. Mas, por outro lado, não podemos desprezar a importância das reações escrotais, que, muito embora não sejam patognomônicas do tifo endêmico (Sinal de Neil), apareceram, entretanto, logo nas primeiras passagens e com carater resolutivo rápido, o que em geral não se observa nas inoculações de sangue de doentes de tifo exantemático de S. Paulo. E’ cousa sabida porem que as cobaias não primam pela sensibilidade à infecção exantemática do tifo murino, principalmente quando se parte de virus de origem humana (sangue). Infelizmente não possuíamos no momento ratos, que são animais mais sensíveis para

o isolamento e conservação do vírus endêmico e, por isso mesmo, tidos por Nicolle, Laigret, & colaboradores²⁵ como animais reativos do tifo endêmico benigno; e nem também tínhamos espermófilos da Macedônia (*Citellus citellus*), cuja grande sensibilidade ao vírus é atestada por Lépine²⁶.

As provas de imunidade cruzada com o vírus de S. Paulo não puderam infelizmente ser realizadas pelo fato já referido de termos perdido nas passagens iniciais os vírus em estudos, isolados dos casos 2 e 3. Entretanto, duas das cobaias que reagiram e sararam quando da tentativa de isolamento de vírus dos sangues dos casos referidos, reinoculadas com o vírus exantemático de S. Paulo (amostra 137), reagiram de novo (40°) e apresentaram à necropsia, esplenomegalia e rickettsias. Embora feita unilateralmente, esta experiência deu porem a indicação de inexistência de afinidades imunológicas entre os dois vírus.

A indicação epidemiológica, como se vê, foi de capital importância no achado dos presentes casos. Outros, muito possivelmente, terão aparecido e passado desapercibidos, tanto mais quanto a moléstia apresenta-se às vezes com caráter de grande benignidade.

O Dr. S. Correia, que dirige atualmente a "Secção de Epidemiologia e Profilaxia Gerais" do Departamento de Saude do Estado, informou-nos de que teve conhecimento de mais dois casos, um anterior e outro posterior aos presentes, que eram filiados diretamente a ratos e que tiveram também evolução mais ou menos benígna.

Contudo, pensamos que sejam estes os primeiros casos prováveis estudados em S. Paulo e quiçá no Brasil. A fazer afirmativas peremptórias, preferimos antes chamá-los *prováveis*, pelo menos até que possamos isolar de novo para estudo mais detalhado o vírus de outros doentes ou, então, o vírus de ratos urbanos.

A demonstração do vírus na fauna murina da cidade teria sem dúvida grande importância como complemento deste trabalho. Estas pesquisas já começadas e interrompidas, e mais o comportamento dos soros sanguíneos dos ratos, em face dos *Proteus X*, serão em breve reiniciados, não comportando por ora o número limitado de observações feitas, uma conclusão definitiva.

Finalizando diremos que, ao publicar este desprezencioso estudo, não temos outro intuito que o de chamar a atenção dos epidemiologistas, clínicos e demais cientistas, para a possibilidade da existência na nossa cidade, de uma outra modalidade de tifo exantemático

— o tifo endêmico murino que evolue mais ou menos benignamente e que, como se sabe, filia-se a ratos e a pulgas, respectivamente os reservatórios e os vectores do virus.

RESUMO

Depois de passar em revista alguns dos principais trabalhos que concorreram para a perfeita individualização da entidade nosológica conhecida com a denominação de tifo endêmico ou murino, refere-se o A. às tentativas infrutíferas feitas por pesquisadores de S. Paulo em 1932-1934 no sentido de isolar o virus endêmico de ratos da cidade, em cuja zona sub-urbana desde 1929 apareceram os primeiros casos de "tifo exantemático de S. Paulo". Continuando a revista de trabalhos produzidos sobre o assunto no continente Sul Americano, cita observações de casos ultimamente ocorridos na Venezuela.

De doentes da cidade de S. Paulo o A. tentou desde 1932, sem resultado, a obtenção de outros tipos de virus exantemático.

Refere, porem, que tem obtido R. de Weil-Felix com títulos às vezes altos e outras vezes aumentando no curso da moléstia, em soros enviados pelos Centros de Saude de algumas cidades do interior do Estado. Muitos destes casos, segundo informações, têm apresentado infecção benigna, do tipo gripal. O A. pergunta: estes casos não poderiam ser ligados à possível existência do tifo murino no interior, ou então a uma variante "mais benigna, mais rural e difusa" do tifo exantemático de S. Paulo, como acontece com a febre exantemática dos Montes Rochosos na América do Norte? Diz ainda que em Minas Gerais têm sido encontrados casos até ambulatórios do tifo exantemático local.

Entrando propriamente no assunto do seu trabalho, estuda quatro casos que observou em 1940, na cidade de S. Paulo, os quais, pelos dados epidemiológicos, pela evolução clínica, pelas provas sorológicas e por algumas provas experimentais e imunológicas (estas últimas infelizmente não levadas a termo por perda do virus nas experiências iniciais), poderão ser considerados como casos prováveis de tifo endêmico ou murino.

Três dos doentes eram capturadores de ratos ou pulgas da Secção de Epidemiologia do Dep. de Saude, e o quarto — negociante de sacos junto aos grandes armazens de comestíveis da R. Paula Souza, na cidade.

Clínicamente apresentavam os sintomas em geral encontrados no tifo endêmico: mal-estar, dor de cabeça, dor nas pernas, calafrios, anorexia, febre, sudorese, congestão conjuntival, fotofobia e adinamia. A febre manteve-se alta (38,5 a 40°) durante cerca de 6 dias e o período febril total demorou de 13 a 16 dias. Três doentes apresentavam um leve exantema esparso, localizado nas faces anterior e laterais do torax e na parte média do braço. Esse exantema durou alguns dias, aparecendo depois da febre e desaparecendo antes de a temperatura normalizar-se. Todos sararam.

As R. de Weil-Felix dos quatro doentes aumentaram de título aglutinante no curso da infecção.

Duas cobaias reagiram um pouco tardiamente e sem a curva térmica típica, após inoculação dos sangues de dois doentes; mas outras cobaias, nas primeiras passagens do virus, apresentaram reação escrotal que cedeu com a defervescência sem deixar vestígio.

O A. não pode cruzar o virus recém isolado, com o do tifo exantemático de S. Paulo, como já disse por te-lo perdido nas primeiras passagens. Duas cobaias, porem, que reagiram termicamente com o sangue de 2 doentes, e que sararam, reagiram de novo ao serem re-inoculadas com o virus do tifo exantemático de S. Paulo, o que mostra, embora unilateralmente, que o primeiro virus não conferiu imunidade contra o segundo, por serem possivelmente diferentes.

O A. pensa que sejam estes os primeiros casos provaveis de tifo endêmico ou murino, estudados em S. Paulo e quiçá no Brasil. Prefere chama-los *provaveis* ao menos até que possa obter e estudar mais detalhadamente novos virus de doentes, ou então até que consiga demonstrar na fauna murina da cidade a presença do virus da moléstia. Estas pesquisas, aliás, já foram iniciadas, mas não comportam ainda conclusão definitiva.

SUMMARY

After reviewing several of the main works that contribute for the perfect individualization of the nosological entity known as murinus or endemic typhus the A. reports himself to the efforts made in 1932-1934 by medical researchers in São Paulo trying to isolate the endemic virus from rats caught in the same city in whose suburban areas appeared, since 1929, the first cases of "exanthematic typhus of São Paulo". In a further review of the works on this

subject, done in South America, the A. met the report of cases lately observed in Venezuela.

Out of patients from the city of São Paulo the A. tried, since 1932, to isolate other types of exanthematic virus without being successful.

However the A. says that he has obtained positive Weil-Felix reaction, sometimes in high dilution title, from the blood of patients living in the country towns of the State of São Paulo. In a few of these patients the reaction became stronger as the disease went on; most of these cases had a benign evolution, sometimes resembling gripe. The A. suggests that such cases might perhaps be related to the possible existence of the murinus typhus in those country towns or again it might be related to a more benign, more rural and more diffuse variety of the exanthematic typhus of São Paulo, such as happens with the "Rocky Mountain spotted fever" of the United States.

Moreover he says that in the State of Minas Gerais there have been reported walking cases of local exanthematic typhus.

The A. studied in 1940, in the city of São Paulo, four cases of probable endemic or murinus typhus. Such cases were studied from the epidemiological, clinical, sorological, experimental and immunological point of view.

Out of the four patients reported three of them were rat catcher of the Public Health Dpt.. And the last one was in the bag business near the big Stores of food products, almost in the heart of the city.

Clinically all the four patients presented all the symptoms generally met with in the endemic typhus: malaise, headache, pain in the legs, shivering, anorexia, fever, sudoresis, injected conjunctivae, photofobia and exhaustion. The fever remained between 38,5° and 40°C. for about six days and the total febrile time was from 13-16 days. Some of the patients presented a slight exanthem in the lateral and anterior portion of the thorax and middle portion of the arm. This eruption lasted a few days; it appeared during the febrile period and disappeared before the fever did. All patients recovered.

The Weil-Felix reaction of the four patients became stronger in the course of the disease.

Two guinea-pigs inoculated with the blood of two patients had delayed reaction and did not present the typical thermic curve; but other guinea-pigs serially inoculated showed scrotal reaction which however disappeared with the fever leaving no sequelae. The A. could not do the crossed immunity test because he lost the viruses in the first few serial inoculations. Two guinea-pigs which reacted thermically against the blood of two patients got well, but again reacted when inoculated with the São Paulo virus. Such fact shows although unilaterally that the first virus did not yield immunity against the second one probably because they were of different types.

The A. thinks that these are the first few probable cases of murinus or endemic typhus observed in São Paulo and perhaps in Brazil.

He prefers to call it "probable" at least until he can obtain new samples of viruses from local patients or rats for more detailed studies.

The search for the virus in rats is already in course.

BIBLIOGRAFIA

- 1 — MAXY, K. F. — 1926 — U. S. Pub. Health Rep. 41 (1213 e 2967).
- 2 — MOOSER, H. — 1928 — J. Inf. Dis. 43 (240 e 261).
- 3 — MOOSER, CASTAÑEDA & ZINSSER — 1931 — J. Am. Med. Ass. 97 (231).
- 4 — KEMP, H. A. — 1931 — J. Am. Med. Ass. 97 (775).
- 5 — DYER, RUMREICH & BADGER — 1931 — U. S. Pub. Health Rep. 46 (334).
- 6 — MARCANDIER & PIROT, R. — 1932 — C. R. Ac. Sc. 194 (398).
- 7 — LÉPINE, P. — 1932 — Bull. Ac. Med. — 107 (495).
- 8 — MONTEIRO, J., FONSECA, F. & PRADO, A. — 1932 — Brasil Médico — 46 (193).
- 9 — PIZA, J., MEYER, J., GOMES, S., LIMA, R. & COL. — 1931 — C. R. Soc. Biol. 106 (1020).
- 10 — MONTEIRO, J. L. & FONSECA, F. — 1932 — Mem. Inst. Butantan, 7 (41).
- 11 — MONTEIRO, J. — 1934 — C. R. Soc. Biol. 115 (1360).
- 12 — RISQUEZ, J. FIGARELLA, J. & VAN PRAAG, A. — 1938 — Gaceta Med. de Caracas, 45, n.º 14 — 15.
- 13 — FIGARELLA, J. & ARCHILLA, R. — 1939 — Gaceta Med. de Caracas, 47 n.º 10.
- 14 — IRAGORRY, L. B. — 1940 — Gaceta Med. Caracas, n.º 11 (15 junho).
- 15 — PIZA, J., MEYER, J. & GOMES, S. — 1932 — "Typho Exanthematico de S. Paulo" — Soc. Impr. Paulista.
- 16 — GOMES, L. S. — 1933 — Brasil Médico 47 (919).

- 17 — TRAVASSOS, J. — 1938 — C. R. Soc. Biol. 127 (1377).
- 18 — MEYER, J. & SABORIDO, J. — 1932 — Brasil Méd. 47, n.º 10.
- 19 — MOREIRA, J. A. & MAGALHÃES, O. — 1937 — Brasil Méd. n.º 21 — Maio — (585); e 1939 — Brasil Méd. — 53 (882).
- 20 — MAGALHÃES, O. & MOREIRA, J. A. — 1940 — Brasil Méd., 54, n.ºs 13, 14 e 15.
- 21 — CARINI & MIGLIANO — 1916 — Bull. Soc. Path. Ex. 9 (435); 1916 — Ann. Paulist. Med. e Cir. 6 (115).
- 22 — LÉPINE, P. — 1938 — “Typhus et fièvres exanthématiques”, in “Les ultravirus des maladies humaines” (C. Levaditi et P. Lépine) Libr. Maloine, Paris.
- 23 — LÉPINE, P. — 1932 — C. R. Ac. Sc., 195 (188).
- 24 — RUMREICH, A. S. — 1933 — The Journ. of Am. Med. Ass. 100 (331).
- 25 — NICOLLE, LAIGRET, MARCANDIER & PIROT, 1932 — C. R. Ac. Sc., 194 (1704).
- 26 — LÉPINE, P. — 1932 — C. R. Ac. Sc., 195 (188).

DA MENINGITE TUBERCULOSA

Diagnóstico bacteriológico — Frequência da meningite tuberculosa — O tipo de bacilo bovino em São Paulo

BRUNO RANGEL PESTANA

Assistente do antigo Instituto Bacteriológico — Chefe da Sub-divisão de Bromatologia e Química do Instituto Adolfo Lutz

A presença do bacilo de Koch no líquido céfalo raquidiano é o ponto principal, no qual repousa o diagnóstico da meningite tuberculosa. Da segurança da técnica e dos métodos empregados para sua pesquisa, quer no exame direto, quer na inoculação, ou dos meios de cultura usados para o seu isolamento, depende em grande parte o resultado do diagnóstico.

O diagnóstico da tuberculose pelo método da cultura do bacilo tem sido investigado por vários pesquisadores, com o fim de substituir o método de inoculação em cobaia, e diversos são os autores que têm obtido resultados favoráveis: Hohn, Carper, Cerruti, Loewenstein, Bezançon e Buc, Herrold, L. Costil e H. Saens.

Vários têm sido os sucessos obtidos por diferentes pesquisadores podendo, no entanto, ser divididas essas opiniões em 3 grupos: 1) Iguais resultados foram obtidos com cultura e inoculação; 2) melhores resultados foram obtidos com cultura que com inoculação; 3) melhores resultados foram obtidos com inoculação que com cultura.

O que não resta dúvida, porem, é que a inoculação é de real valor, mas que se torna um meio caro e que nem sempre está ao alcance de todos, ao contrário do método de cultura, que é mais barato e acha-se ao alcance de qualquer técnico. Além disso, os resultados alcançados por grande número de investigadores são tão satisfatórios que, no momento atual, o método de cultura torna-se um meio prático de aplicação diária na clínica para estabelecer um diagnóstico bacteriológico da tuberculose.

Diversos têm sido os meios recomendados por diferentes bacteriologistas, sendo que bons resultados têm sido relatados por grande número deles, com largo número de meios.

A escolha de um meio depende largamente da preferência individual dada pelo técnico. Várias são as suas fórmulas tendo por base ovo, leite, batata, diferentes matérias corantes, substâncias químicas diversas, hemoglobina e sangue.

Hohn foi quem introduziu o uso da hematina no meio de Lubenau, para o cultivo do bacilo da tuberculose. Verificou que a hemoglobina favorecia o desenvolvimento do bacilo, principalmente o do tipo bovino, classificando este como hematinófilo e o humano como glicerófilo.

Bezançon e Griffin (1899) foram os que primeiro empregaram o meio de agar sangue glicerinado para a cultura do bacilo da tuberculose. Clough (1918) empregou agar extrato de sangue como meio para cultura do bacilo de Köch.

E. Buc (1930) empregou a gelose peptonada e glicerinada, com sangue, segundo a fórmula de Bezançon e Griffin, para o isolamento do bacilo da tuberculose em líquidos da pleura, com bons resultados. L. Mishlow (1932) demonstrou o interesse que representa o meio de Bordet Gengou para cultura do bacilo de Koch, e, mais particularmente, para o isolamento do tipo bovino.

Galton (1937) usou o meio de Clough, para substituir o sangue humano por 5% de sangue citratado de coelho. Achou que os melhores meios eram o agar extrato de sangue e o de Petragnani.

C. Gemez, P. Crampon e Graux (1938), confirmaram os trabalhos de Mishlow, usando, sistematicamente, durante três anos o meio de Bordet Gengou, verificando que além de ser um bom meio para cultura do tipo bovino, tem a grande vantagem de sua simplicidade na preparação, o que possibilita o uso de meio sempre fresco.

Durante quatro anos vimos usando para a cultura do bacilo da tuberculose, no isolamento do líquido céfalo-raquidiano, o meio de agar sangue de coelho ou o de agar chocolate. Esses meios, além de serem de fácil preparação, são usualmente empregados nos laboratórios, tendo a vantagem de servirem para as pesquisas de outros germes que podem também ser encontrados com frequência nos líquidos céfalo-raquidianos.

A técnica seguida por nós foi a seguinte:

Depois de centrifugado o líquido, nunca menos de uma hora, e com a velocidade de 3.000 rotações por minuto, fazíamos algumas preparações do sedimento, que, depois de coradas, eram examinadas.

Queremos salientar que o resultado do exame direto depende, em grande parte, não só da centrifugação, como do tempo levado para se pesquisar cada lâmina. Quanto maior fôr o tempo de centrifugação, a sua velocidade e o exame das lâminas, maiores probabilidades teremos nos resultados dos exames. Havendo depósito de fibrina no líquido poderá o bacilo ser pesquisado no floco que se forma, tendo sido observado por nós, como verificaram outros autores, como De Santes Momald e F. Natoli, que, deixando-se o líquido à temperatura do laboratório durante 18 a 24 horas, forma-se, quasi sempre, um floco de fibrina, onde poderá ser pesquisado o bacilo.

O restante do centrifugado, novamente misturado ao líquido, era semeado nos meios de agar sangue, agar chocolate, meio de Loewenstein com e sem tomate, e meio de Petraghani com cêra ou sem cêra. Usámos tambem os meios de Loewenstein com e sem glicerina e tambem sem o verde malachita.

Os meios de Loewenstein e de Petraghani por nós usados, foram preparados segundo as fórmulas recomendadas por Mac Nabbe e M. Brown. Deixámos de usar o verde malachita no meio de Loewenstein, por termos observado que essa substância impede o crescimento do bacilo de Koch.

Quando os tubos, depois de semeados e de terem ficado na estufa a 37°C. durante 48 horas para ser feita a pesquisa de meningococos, pneumococos e bacilos de Pfeiffer, eram negativos para esses germes, eram parafinados e levados novamente à estufa a 37°C., onde ficavam por 3 meses em observação.

As nossas pesquisas foram feitas não só com o fim de experimentarmos alguns meios de cultura, mas tambem para verificarmos a frequência do tipo bovino em São Paulo. Tivemos ocasião de proceder à cultura de líquidos céfalo-raquidianos, enviados ao Instituto Bacteriológico de São Paulo, tendo sido encontrado o bacilo de Koch em 172, do modo seguinte:

	<i>Exame direto</i>	<i>Cultura</i>	<i>Total</i>
Em 1934	13 positivos	9	22
" 1935	17 "	14	31
" 1936	19 "	19	38
" 1937	25 "	14	39
" 1938	28 "	14	42
Total	102 "	70	172

Dos 102 positivos no exame direto, fizemos cultura de 54; foram todas positivas.

Damos, então, abaixo, o total de culturas obtidas:

	<i>Exame direto neg. e cultura positiva</i>	<i>Exame direto e cultura positivos</i>	<i>Total</i>
Em 1934	9	4	13
" 1935	14	8	22
" 1936	19	4	23
" 1937	14	22	36
" 1938	14	16	30
Total	70	54	124

Empregando o método de cultura, obtivemos, pois, mais 40% de resultados positivos, que haviam sido negativos pelo exame direto.

O resultado de cinco anos (1934 a 1938) de observações feitas foi o seguinte, comparando com outros meios de cultura, os de Loewenstein e de Petragnani, aconselhados como dos melhores para isolamento e cultura do bacilo da tuberculose.

Dos líquidos semeados obtivemos cultura de 124, sendo 108 em meio de agar sangue, 97 em meio de agar chocolate e 81 em meio de Loewenstein.

Eis a porcentagem de isolamento por nós obtida com os diversos meios empregados:

Agar sangue de coelho	87,0%
Agar chocolate de sangue de coelho	78,2%
Loewenstein com glicerina	65,3%
Petragnani com glicerina	25,0%

Usando, porem, o meio de Loewenstein e o de Petragnani, sem glicerina, o resultado obtido por nós foi o seguinte:

Agar sangue de coelho	91,1%
Agar chocolate sangue de coelho	85,3%
Loewenstein sem verde malachita	88,2%
Petragnani	58,6%

Quanto ao tempo de crescimento das culturas, foi o seguinte:

Em 20 dias	2
Em 25 dias	6
Em 30 dias	35
Em 40 dias	26

Em 45 dias	18
Em 60 dias	28
Em 75 dias	9
	124
Total	124

As culturas do tipo humano apareciam de 20 a 60 dias, enquanto que, as do tipo bovino levavam sempre 60 dias ou mais.

Dos resultados obtidos por nós vemos que o meio de agar sangue de coelho foi o que maior número de culturas nos deu, tanto para o tipo humano como para o bovino (91,1%), vindo, depois, o agar chocolate (85,3%) e em seguida o meio de Loewenstein com 65,3% e o de Petragnani com 25,0%.

O meio de Loewenstein, sem glicerina e sem o verde malachita nos deu uma porcentagem maior de resultados positivos (88,2%) do que com glicerina (65,3%).

Não conseguimos com o meio de Petragnani os mesmos resultados obtidos por seu autor e outros pesquisadores, pois só obtivemos cultura nesse meio sem glicerina em 58,6% dos casos e com glicerina em 25,0%.

Para a determinação do tipo de bacilo, seguimos a seguinte técnica:

Sempre que obtínhamos uma cultura partindo diretamente do produto inoculado, as culturas de desenvolvimento eugônicos, rugosos, eram estabelecidas pelo aspecto, sem recorrermos à prova biológica; diagnosticávamos bacilo humano, fazendo, no entanto, os transplantes em outros meios para confirmação definitiva.

As colônias de desenvolvimento disgônico, colônias lisas e que não cresciam em subculturas em meios glicerinados, é que inoculávamos em coelhos.

A identificação dos tipos humanos e bovinos, das raças isoladas, foi feita tendo em conta em primeiro lugar as características das culturas e das subculturas em meios diferentes, glicerinados.

As colônias dificilmente emulsionáveis, tendo em menos de 5 semanas atingido o seu pleno desenvolvimento de forma característica, de verruga, superfície seca, eram dadas como do tipo humano. Nos casos atípicos e duvidosos, a inoculação foi feita em animais, para estabelecer o tipo.

As colônias disgônicas, lisas, aderentes ao meio de cultura, emulsionando facilmente na solução fisiológica, que transplantadas para os meios glicerinados não davam, mesmo depois de repicadas

nesse meio de cultura, senão desenvolvimento muito lento e eram patogênicas para os coelhos, eram classificadas como do tipo bovino. As culturas, quando semeadas em meio líquido, não formavam véu na superfície, mas cresciam na profundidade.

A diferenciação das nossas culturas em tipos bovinos e humano foi feita por culturas e inoculação endovenosa em coelhos. O diagnóstico diferencial de eugônicas e disgônicas das raças foi feito em meios glicerinados e sem glicerina. O meio de batata glicerinado foi para nós o de maior valor na diferenciação, conforme haviam já observado John Blacklock e Mary A. Griffin (1935), Park e Krumwied (1910) e Griffith (1934) os quais notaram que a batata glicerinada era o meio que dava mais uniforme resultado diferencial entre o tipo bovino e o humano. Usámos também o meio de Petragnani com cêra.

Para isolamento do bacilo da tuberculose o meio que deu melhor resultado, quer para a tipo humano, quer para o tipo bovino, foi o de agar sangue de coelho, o qual além de dar maior número de culturas positivas em comparação com os outros meios, tem ainda a vantagem de sua simplicidade e da facilidade de se obter no laboratório.

Todas as culturas de tipo bovino por nós isoladas foram sempre de agar sangue de coelho ou de agar chocolate sangue de coelho. Somente 3 foram isoladas também do meio de Loewenstein sem glicerina e verde de malachita e uma única vez de meio de Petragnani sem glicerina. Todas as colônias eram lisas, aderentes ao meio, emulsionando facilmente em solução fisiológica, não crescendo em batata glicerinada quando transplantadas para esse meio, dando no meio de Loewenstein e no de Petragnani com glicerina, quando cresciam, desenvolvimento muito lento.

O meio de Loewenstein, mesmo sem glicerina e matéria corante, é muito bom para o isolamento do tipo humano, mas desfavorável para o isolamento do tipo bovino, pois falha o crescimento, que só se verifica quando transplantado de outros meios.

Tivemos ocasião de isolar 16 vezes o bacilo da tuberculose bovina, que identificámos pelos seus caracteres culturais e por ser patogênico para coelho em injeções venosas, produzindo tuberculose generalizada. Algumas colônias, disgônicas, atípicas e duvidosas, do bacilo humano, foram inoculadas em coelho, produzindo, porém, somente pequenas lesões no pulmão e no fígado.

Os 124 casos de meningite cérebro espinhal em que isolámos bacilo de Koch eram de pessoas das seguintes idades:

<i>Idade</i>	<i>Casos</i>
De 0 a 1 ano	14
De 1 a 2 anos	12
De 2 a 3 anos	5
De 3 a 4 anos	10
De 4 a 5 anos	12
Total	53
De 5 a 6 anos	9
De 6 a 7 anos	7
De 7 a 8 anos	7
De 8 a 9 anos	2
De 9 a 10 anos	4
Total	29
De 10 a 20 anos	21
De 20 a 30 anos	9
De 30 a 50 anos	11
De 50 a 100 anos	1
Total	42

O quadro abaixo mostra a proveniência, por idade, dos casos de meningite tuberculosa bovina, por nós isolados. Interessante é assinalar que 75,0 % dos casos foram isolados de crianças menores de 10 anos, sendo que 56,2 % tinham menos de 5 anos.

<i>Idade</i>	<i>Número de casos</i>	<i>Total</i>	<i>Porcentagem</i>
De 0 a 1 ano	2	9	56,2%
De 1 a 2 anos	1		
De 2 a 3 anos	1		
De 3 a 4 anos	1		
De 4 a 5 anos	4		
De 5 a 6 anos	0	3	18,8%
De 6 a 7 anos	0		
De 7 a 8 anos	1		
De 8 a 9 anos	0		
De 9 a 10 anos	2	4	25,0%
De 10 a 15 anos	1		
De 15 a 20 anos	1		
De 20 a 30 anos	2		
De 30	0		

Tipos de bacilos isolados de casos de meningite tuberculosa, de acordo com a distribuição da idade:

<i>Idade</i>	<i>Número de casos</i>	<i>Tuberculose humana</i>	<i>Tuberculose bovina</i>	<i>Porcentagem do tipo bovino</i>
De 0 a 5 anos	52	43	9	17,3%
De 5 a 10 anos	29	26	3	10,3%
Acima de 10 anos	40	36	4	10,0%
Total	121	105	16	13,2%

A maioria dos casos em que foram isolados bacilos do tipo bovino eram de doentes de nacionalidade brasileira (12 casos), tendo se verificado somente um caso positivo de um doente alemão (menos de 8 anos), um iugoslavo, um português e outro espanhol, todos os três maiores de 20 anos. As crianças abaixo de cinco anos eram todas brasileiras. Dos 16 casos de tuberculose bovina isolados, 12 eram masculinos e 4 femininos.

A porcentagem por nós achada do tipo bovino, não é tão elevada como tem sido encontrada por outros autores. Foi de 13,2 % para o total de casos em que obtivemos cultura.

A porcentagem de incidência por bacilo bovino na meningite tuberculosa varia em diferentes localidades.

John Blacklock e Mary A. Griffin (1935) acharam a porcentagem de 22,5 %; Griffith (1934), na Escócia (incluindo Glasgow), em crianças menores de 14 anos encontrou 42,9 %; Stanley, Griffith (1934) achou que para a Inglaterra, a seguinte porcentagem segundo a idade: 0 a 4 anos 31,3 %; 5 a 14 anos, 23,3 % e acima de 5 anos, 10 %. Mac Gregor, Kripatrik e Craig (1933-1934) isolaram em crianças de menos de 14 anos, em Edimburg, 29,8 % de bacilo bovino; Jensen (1932) encontrou 40,9 % em crianças da Dinamarca; Goshing e Montanus (1932-1934), nas crianças menores de 14 anos em New York achou a porcentagem de 7,7 % e Novick (1919-1920), na mesma cidade, achou 5 % nas crianças de menos de 13 anos.

A porcentagem por nós encontrada de bacilos do tipo bovino em casos de meningite tuberculosa nas crianças menores de 10 anos, foi de 14,8 % para o total de casos em que obtivemos cultura, nessa idade.

A presença do bacilo da tuberculose tipo bovino, no líquido céfalo-raquidiano, mostra que não é pequena a sua frequência entre nós.

Não só a meningite tuberculosa, como os tipos de bacilos encontrados não foram ainda bem estudados entre nós de modo a poder-se precisar a sua posição no problema da tuberculose, principalmente

no que diz respeito a crianças. Parece-nos interessante chamar a atenção para esse problema, tanto mais que é fato verificado não só pelo bacteriologista como pelo fisiologista que o bacilo do tipo bovino pode manifestar para a espécie humana uma virulência igual a da tuberculose do tipo humano. De outra parte, a sua posição é tanto mais importante quando se considera que o problema da contaminação da criança está estreitamente ligado ao seu modo de alimentação, particularmente nos casos, não excepcionais em que o contágio humano é impossível.

Infelizmente não nos foi possível fazer um inquérito a respeito da alimentação das crianças afim de podermos verificar a fonte de contágio, se foi devida ao leite ou aos seus derivados, ou ao contágio. Em vista, porém, da grande quantidade de vacas tuberculosas existentes no gado leiteiro de São Paulo, estimado pelo Departamento de Indústria Animal em 40,0 %, não resta dúvida que o leite e os seus derivados deverão ser incriminados como a fonte de infecção na maior parte das crianças de São Paulo com meningite tuberculosa do tipo bovino. Tivemos mesmo ocasião de isolar o bacilo da tuberculose do leite e da manteiga que abastece a cidade de São Paulo, e, ultimamente, Alexandre Melo e Natalino Mastrofrancisco, bacteriologistas do Departamento de Indústria Animal, isolaram em 30 % das amostras de leite de diversas procedências, que abastecem a população da cidade de São Paulo, o bacilo da tuberculose.

Ultimamente se tem feito uma campanha a favor do uso do leite cru, principalmente dos leites de granja, mas nós pensamos como Nocard e damos aqui às mãis brasileiras os mesmos conselhos que aquele ilustre cientista dava às mãis de França: "Mère de famille, ne donnez jamais de lait de vache á vos enfants sans l'avoir fait bouillir", porque os leites que abastecem a cidade de São Paulo não oferecem garantia absoluta sob o ponto de vista higiênico.

A meningite tuberculosa entre nós não é tão rara como parece. E' que ela é diagnosticada como outra moléstia, como acontece com os casos que são removidos para o Hospital de Isolamento "Ermílio Ribas". Os casos removidos para esse Hospital vêm com diagnóstico de Meningite (27 %), Meningite cérebro espinhal (45 %), ou Febre tifóide (28 %), sendo que depois de examinados os doentes, pelos clínicos do Hospital, são por êles modificados os diagnósticos para o de meningite tuberculosa.

O diagnóstico de meningite tuberculosa feito nos casos aqui relatados foram todos clinicamente diagnosticados pelos médicos do Hospital de Isolamento ao entrarem, recebendo mais tarde, todos eles, a confirmação bacteriológica feita pelos exames do Instituto Bacteriológico. Nos casos de cultura essa confirmação era somente tardiamente feita.

Interessante é aqui vermos qual a idade, a nacionalidade e o sexo nos casos de meningite tuberculosa diagnosticados pelos médicos do Hospital de Isolamento "Emílio Ribas" e confirmados pelos exames do Instituto Bacteriológico de São Paulo, quer por exame direto, quer por cultura.

Dos 166 casos entrados no Hospital, 90 % são de nacionalidade brasileira, tendo sido registados somente 1 caso de nacionalidade italiana, 3 espanhola, 4 alemã, 5 portuguesa, 3 lituana e 1 iugoslava.

Do total de casos, 50,6 % eram do sexo masculino e 49,4 % do feminino, sendo que nas crianças predominam as do sexo feminino. Em 1937, entre 12 culturas positivas, de crianças, 11 eram de doentes do sexo feminino.

	<i>Masculino</i>	<i>Feminino</i>	<i>Total</i>
1934	13	9	22
1935	17	14	31
1936	19	16	35
1937	16	22	38
1938	19	21	40
Total	84	82	166

A porcentagem de crianças de 0 a 5 anos foi de 37,7 % (63 casos); de 20,4 % (34 casos) nas crianças de 5 a 10 anos, e de 40,9 % (68 casos) nos maiores de 10 anos.

Eis a relação dos 166 casos removidos para o Hospital e confirmados como meningite tuberculosa, discriminados por idade:

<i>Idade</i>	1934	1935	1936	1937	1938	<i>Total</i>
0 - 1	6	1	4	2	5	18
1 - 2	—	5	2	8	6	21
2 - 3	1	—	—	1	2	4
3 - 4	—	1	3	3	2	9
4 - 5	3	4	2	—	2	11
5 - 10	3	8	9	6	8	34
10 - 15	3	4	3	5	4	19
15 - 20	2	3	2	6	1	14
20 - 30	1	3	7	2	9	22
30 - 50	1	2	3	5	1	12
50 -	1	—	—	—	—	1

Bem elevada é a porcentagem de crianças abaixo de 10 anos (58,4 %) nos casos de meningite tuberculosa.

Ao terminarmos o nosso trabalho consignamos os nossos agradecimentos à Da. Lidia C. de Carvalho, Da. Maria F. Quirino Ferreira, Da. Maria Arantes e Sr. Ettore Rugai, os quais nos auxiliaram na técnica deste trabalho, e ao Dr. José Augusto Arantes, diretor do Hospital de Isolamento “Emílio Ribas” a quem devemos as informações que nos foram gentilmente prestadas e que contribuíram, em grande parte, para a confecção deste trabalho.

RESUMO

O autor encontrou o bacilo de Koch em 172 líquidos céfalo-raquidianos, dos quais 102 revelaram o bacilo no exame direto e 70 em cultura. Os últimos foram de exame direto negativo; com o emprego do método de cultura conseguiu, portanto, o autor mais 40 % de resultados positivos do que só por exame direto.

De 124 líquidos semeados, obteve cultura de 108 em meio de agar sangue, 93 em meio de agar chocolate e 81 em meio de Loewenstein.

O meio de agar sangue de coelho foi o que maior número de culturas deu, tanto para o tipo bovino como para o humano, (91,1%) vindo depois o agar chocolate (85,3%) e, em terceiro lugar, o meio de Loewenstein (65,3%) seguido do de Petragani (25,0%)

O meio de Loewenstein sem glicerina e sem o verde de malachita deu maior porcentagem de resultados positivos (88,2%) do que com glicerina (65,3%).

O meio de agar sangue de coelho, além dos resultados superiores já mencionados acima, tem a vantagem de sua simplicidade e facilidade de obtenção em laboratório.

As pesquisas do autor foram feitas para experimentar diversos meios de cultura para o isolamento do bacilo de Koch e para verificar a frequência do tipo bovino em S. Paulo.

Isolou 16 vezes o bacilo bovino, que foi identificado pelos seus caracteres culturais e por ser patogênico para coelho, em injeções venosas, produzindo tuberculose generalizada.

Algumas colônias, disgônicas, atípicas e duvidosas do bacilo humano, foram inoculadas em coelhos, produzindo somente pequenas lesões no pulmão e fígado.

A porcentagem do tipo bovino achada pelo autor foi de 13,2 % para o total de casos em que obteve culturas, não sendo tão elevada como tem sido encontrada por outros autores em diversos países.

Nas crianças de menos de 10 anos, foi de 14,8 % para o total de casos em que obteve cultura.

Acha o autor não ser tão rara entre nós a meningite tuberculosa, sendo que ela é diagnosticada como outra moléstia, como acontece com os casos que são removidos para o Hospital de Isolamento. Os casos removidos para esse Hospital vêm com o diagnóstico de Meningite (27 %), Meningite cérebro-espinal (45 %), ou de Febre tifóide (28 %).

Estudou os 166 casos de Meningite tuberculosa, confirmados por exame direto ou cultura, entrados no Hospital "Emílio Ribas", sendo que 90 % são de brasileiros. Do total dos casos 50,6 % eram do sexo masculino e 49,4 % do feminino, sendo que nas crianças predomina nas do sexo feminino.

A porcentagem de crianças de 0 a 5 anos foi de 37,7 %; de 5 a 10 anos 20,4 % e em maiores de 10 anos de 40,9 %

A porcentagem de casos em crianças abaixo de 10 anos foi de 58,4 %

Não foi possível ao autor obter informes a respeito do contágio, dos casos em que isolou bacilo bovino, porém, deve-se atribuir ao leite que abastece a cidade, pois 40 % das vacas são tuberculosas, tendo sido o bacilo de Koch isolado do leite pelo autor e por A. Melo e N. Mastrofrancisco, da Indústria Animal.

SUMMARY

The bacteriological examination of 172 cerebrospinal fluids has tubercle bacilli: 102 were positive by the direct microscopic examination and 70 by culture only.

Thus, the use of culture media has proved itself superior to direct microscopic examination; in 40% of the cases that gave positive results by culture methods, no tubercle bacilli were revealed by the direct examination.

Out of 124 specimens inoculated, 108 positive cultures were obtained on rabbit blood agar, 93 on chocolate agar medium and 81 on Loewenstein's medium.

The cultural findings with various media in comparative study to determine their relative value for the primary cultivation of tubercle bacilli from cerebrospinal fluid were as follows: rabbit blood agar, 91,1%; chocolate agar, 85,3%; Loewenstein's medium, 65,3%; Petraghani's medium, 25,0%.

Loewenstein's medium without glycerol and malachite green gave better results (88,2%) than with glycerol (65,3%). Petraghani's medium with glycerol gave 25,0%; without, 63,3%.

Loewenstein's medium has proved suitable for the isolation of human strains of tubercle bacilli, but entirely unsuitable for the bovine type, as the latter failed to grow on it in primary cultures.

Rabbit blood agar has given the best results for the isolation of both of them, from cerebrospinal fluid. For this reason and because of its simplicity of preparation, it is recommended for primary cultivation of tubercle bacilli from cerebrospinal fluid.

In the present investigation the author's researches have been undertaken to determine the relative value of various media for primary cultivation of tubercle bacilli from cerebrospinal fluid and the type of bacilli causing tuberculous meningitis in S. Paulo.

Out of 124 cases from which those bacilli were isolated from cerebrospinal fluid, 16 strains were of the bovine type; these results were confirmed by cultural tests and by inoculation into the vein of a rabbit's ear.

For the differential diagnosis between eugonic and dysgonic strains, cultures of the first generation on glycerol free media, were inoculated on Loewenstein's first with 5% glycerol, then without it and finally on glycerol-potato. The last one gave the

best results. This fact had already been noticed by Park and Krumwied in 1910 and by Griffith in 1934; they obtained on glycerolpotato, the most uniform results for the above mentioned diagnosis. Dysgonic, atypical strains of human tubercle bacilli were inoculated into the vein of a rabbit's ear. Only small lesions were found in the lungs and the liver.

The percentage (13.2%) for the bovine type obtained by the author is much lower than that found in other countries.

The percentage found for that type in cases of meningitis in children under 10 was 14.8%.

Types of bacilli isolated from cases of tuberculous meningitis classified according to age:

<i>Years</i>	<i>Number of cases</i>	<i>Human</i>	<i>Bovine</i>	<i>Percentage bovine</i>
Under 5...	52	43	9	17.3 per cent.
Over 10 ..	29	26	3	10.3 per cent.
5 to 10 ...	40	36	4	10.0 per cent.
	121	105	16	13.2 per cent.

Tuberculous meningitis is more frequent in S. Paulo (Brazil) than it seems to be. It has not been exactly diagnosed clinically as we can see by the cases admitted to the Isolation Hospital "Emílio Ribas": Meningitis, 27%; Cerebrospinal Meningitis, 45%; Typhoid fever, 28%. In all these cases the diagnosis has been changed in the Hospital for Tuberculous meningitis, which the bacteriological examination confirmed, since tubercle bacilli were shown in spinal fluids by the direct microscopic examination or by culture methods.

Investigations were made in 166 of these cases: 90% were from Brazilians (50.6% males and 49.4% females). In children the highest percentage was that of girls.

The percentage of children under 5 was 37.7%, of 5 to 10 years, 20.4% and of over 10, 40.9%. The percentage of children under 10 was, therefore, 58.4%.

According to the author, the above-mentioned cases may be due to bovine infection, in view of the great prevalence of tuberculosis in cattle in S. Paulo, Brazil, (about 40% of the cattle being

affected, according to veterinary estimation) and because the author and A. Melo and N. Mastrofrancisco verified the presence of tubercle bacilli in raw milk.

REFERÊNCIAS

- BENZANÇON, F. e BUC, E. — 1931 — *Présse Medical*, 39, 1493.
 BENZANÇON e GRIFFIN — 1899 — *Comp. Rend. Soc. Biol.*, 51, 71
 BLACKLOCK, John e GRIFFIN, Mary A. — 1935 — *Journ. Pathology and Bacteriology*, 40, DRT.
 BUC, E. — 1930 — *Compt. Ren. Soc. Biol.*, 103, 220.
 CERRUTI — 1932 — *Journ. Trop. Med.*, 35, 157.
 CORPER, H. J. — 1928 — *Journ Am. Med. Assoc.*, 91, 371.
 CORPER, H. J. — 1932 — *Journ. Am. Med. Assoc.*, 99, 1315.
 CLOUGH — 1918 — *Am. Rev. Tuberc.*, 1, 598.
 COSTIL, L. e SAENS, H. — 1936 — *Monographie de l'Institut Pasteur, Masson, Paris.*
 DE SANTES, Momald e NATOLI, F. — 1938 — *Zentr. f. Bakt. Ref.*, 130, 108.
 GALTON, M. — 1937 — *Amer. Journ. of Hygiene*, 26, 259.
 GERNEZ, Ch., CRAMPON, P. e GRAUX — 1938 — *Compt. Rend. Soc. Biol.*, 128, 1141.
 GOSLING e MONTANUS — 1924 — *Journ. of Med. Research*, 44, 13.
 GRIFFITH, A. S. — 1932 — *Journ. Pathology and Bacteriology*, 35, 97.
 GRIFFITH, A. S. — 1934 — *Lancet*, I, 1382.
 GRIFFITH, A. S. e MUNRO, W. T. — 1933 — *Lancet*, I, 399.
 GRIFFITH, A. S. e EMITH, J. — 1938 — *Lancet*, I, 739.
 HERROLD, R. D. — 1931 — *Journ. Inf. Diseases*, 48, 236.
 HOHN, J. 1926 — *Munch. Med. Woch.*, 73, 2162.
 HOHN, J. — 1926 — *J Zentr. f. Bakt. I Orig.*, 98, 460.
 JENSEN, K. — 1932 — *Zentr. f. Bakt. I Orig.*, 125, 222.
 LAUGE, L. — 1932 — *Zentr. f. Bakt. I Orig.*, 127, 10.
 LESNÉ, E., SAENZ, A., SALEMBIER, M e COSTIL, L. — 1936 — *Bull. de l'Académie de Médecine*, 116, 373.
 LOEWENSTEIN, — 1930 — *Deut. Med. Woch.*, 56, 1010.
 MELLO, A. e MASTROFRANCISCO, N. — 1938 — *Rev. Ind. Animal*, 1, 1938.
 MAC NABRE e BROWN, M. — 1935-36 — *Sith Annual Year Book — American Publ. Health Assoc.*, p. 188.
 MISHULOW, L. — 1932 — *Journ. Inf. Diseases*, 51, 416.
 MISHULOW, L., RONANO, M. MELMAN, M. e KERESZTURE, C. — 1934 — *Journ. of Inf. Diseases*, 55, 402.
 MISHULOW, L., REAVIN, Sadie — 1940 — *Journ. Lab. and Clin. Med.*, 25, 876.
 MISHULOW, L., SINGER, SIEGEL, MELMAN e ROMANO — 1935 — *Journ. Lab. and Clin. Med.*, 20, 1063.
 MUNRO, W. T. e SCOTT, H. VTCF — *The Lancet*. I, 293.
 PARK, W. e KRUMWIED — 1910 — *Journ. of Med. Research*, 205.
 SAENZ, A. — 1939 — *Paris Medical*, 25, 536.
 SQUIBEL, Amancio C. — 1937 — *Publicação da Secretaria da Agricultura.*

DO DIAGNÓSTICO SOROLÓGICO DA LEISHMANIOSE (*)

*Estudo experimental comparativo sobre algumas
reações sorológicas na Leishmaniose Tegumentar
Americana*

II PARTE

A. FRÂNCIA MARTINS

Assistente do antigo Instituto Bacteriológico — Chefe da Sub-divisão
Técnico-administrativa do Instituto Adolfo Lutz

Na primeira parte deste trabalho ¹ tivemos a oportunidade de descrever num rápido apanhado, a maioria das reações sorológicas da Leishmaniose, procurando tanto quanto possível beber nas fontes originais os ensinamentos dos primeiros experimentadores.

A maioria desses estudos relacionam-se à leishmaniose visceral ou Kala-azar, ressaltando os autores a intensidade e o valor de cada uma das suas provas, confirmadas a minoria por outros pesquisadores.

Evidenciam-se muitas dessas reações, desde os estudos originais, pela falta de especificidade, porquanto elas foram oriundas da observação de determinados fenômenos passados em outras moléstias e concomitantes, durante os estudos, com o Kala-azar. Ou, então, partiram da observação casual de uma simples medida de conservação de soro, onde ao espírito dedutivo do cientista perspicaz não podia passar despercebido o fato. As reações tidas e chamadas de imunológicas, tais como desvio do complemento, floculação, aglutinação, etc., muitas vezes dão resultados positivos em outras moléstias e negativos na própria leishmaniose. Estes fatos são devidos em geral ao pouco conhecimento que se tem da prepa-

(*) Sob os auspícios da Comissão de Leishmaniose do Departamento de Saúde do Estado.

(1) Anais Paulistas de Med. e Cirurgia — vol. XXXIX — Abril de 1940 n.º 4.

ração dum bom antígeno ou da deficiência na técnica própria da reação provocando as reações inespecíficas, de grupo, etc..

Procuramos repetir comparativamente algumas daquelas reações na leishmaniose tegumentar americana, doença habitual em certas zonas do sertão brasileiro. Nossa primeira idéia era verificar si o soro dos nossos doentes respondiam da mesma forma nas diferentes reações e se elas podiam facilitar o diagnóstico da doença. Depois veio-nos a idéia de verificar a especificidade e a variação da intensidade das reações com o decorrer do tratamento.

Era impossível estabelecer um estudo comparativo de todas as reações descritas, não só pela dificuldade de tempo, como também pela necessidade de grande quantidade de soro do doente. Resolvemos então praticar no soro a examinar as seguintes reações: Brahmachari-Formol gel, tipo Napier-Formol gel, tipo Nathan-LARRIER — Peptonato de ferro e água destilada. Algumas vezes pudemos fazer reações do desvio do complemento, mas não pôde ser isto feito de uma forma sistemática, por motivo que veremos adiante.

Estabelecemos os seguintes pontos básicos para catalogar os dados e identificar a doença e o doente, segundo a ordem no gráfico:

1 — número de ordem, nome do doente, data em que foi feito o exame e séde do doente.

2 — diagnóstico clínico, feito no hospital onde o doente se achava internado ou no ambulatório.

3 — reação de Montenegro: intradermo reação para leishmaniose.

4 — reações para pesquisa da sífilis: Wassermann, Kahn e Meinicke.

5 — as reações acima citadas.

6 — tratamento que o doente recebeu e a dose do mesmo.

7 — outros dados interessantes para certos casos, tais como reações de Henry, etc..

ORIGEM DOS SOROS A EXAMINAR

A quasi totalidade dos doentes de leishmaniose achavam-se na 4.^a Medicina de Homens, do hospital da Santa Casa de S. Paulo, cujo chefe, Dr. Adolfo Lindenberg, muito gentilmente nos acolheu. Aquí exprimimos os nossos sinceros agradecimentos. O período de permanência desses doentes na enfermaria é variavel, em geral é dada a alta após a primeira série de medicamentos, de sorte que não

podemos acompanhar os mesmos desde o início do tratamento até o fim, quando da alta curada. Assim sendo, preferimos dividir os doentes de leishmaniose em três grupos: a) doentes não tratados; b) doentes com menos de 12 doses de medicamento; c) doentes após o tratamento. No quadro, dispuzemos os soros dos doentes examinados, conforme o número de doses de medicamentos recebidas, para mais fácil ser o estudo comparativo.

Alguns soros tiveram outra procedência, conforme se encontra detalhado no quadro anexo.

Os soros dos doentes de Malária foram enviados pelo Snr. Osvaldo Magalhães, da Fazenda Itaquerê, e alguns pelo Dr. Costa Filho, Diretor do Serviço de Malária do Estado. Todos eles, com exceção do n.º 31, tinham exame hematológico positivo para Plasmodium. Este exame 31 era um caso de sintomatologia clínica atípica, de evolução crônica, com todas as reações de laboratório negativas ou atípicas, em que praticámos no Instituto Bacteriológico a reação de Henry, sendo a mesma fortemente positiva, em comparação aos controles. A terapêutica adequada produziu grande melhoria no doente que praticamente voltou à normalidade.

Vários meses depois, alguns sintomas dos já extintos surgiram novamente, e praticou-se nova reação de Henry. Esta continuava fortemente positiva. O tratamento reiniciado surtiu efeito, porem não mais soubemos do caso.

Os soros dos doentes de Lepra foram gentilmente cedidos pelo Serviço de Profilaxia da Lepra, ao Dr. Manoel de Brito e Silva, que nos cedeu.

Os soros Wassermann positivos e negativos, retiramo-los da secção de Wassermann deste Instituto, e serviam como controles e observação.

DIAGNÓSTICO DA DOENÇA

Para a colheita do material de doentes com leishmaniose, buscámos o diagnóstico da doença no exame clínico e na intradermo reação de Montenegro. O diagnóstico clínico era feito pelos caracteres típicos da úlcera de Baurú, e sempre confirmados pela intradermo reação de Montenegro. Houve alguns casos porem em que não nos foi possível fazer a intradermo reação por motivos independentes de nossa vontade. Mas nestes casos, o diagnóstico clínico não merecia contestação pela maneira com que se apresentava a doença.

— Os soros palúdicos eram de doentes que possuíam diagnóstico hematológico de malária positivo, com exceção do n.º 31, que teve somente o diagnóstico baseado na reação de Henry e na melhora que obteve o doente com tratamento adequado.

— Os soros de leprosos foram recebidos por intermédio do Dr. Manoel de Brito e Silva, que os obteve no Serviço de Profilaxia da Lepra, confirmado o diagnóstico ora por reações cutâneas, ora por provas bacteriológicas ou anátomo-patológicas, ou por provas combinadas entre si.

INTRADERMO REAÇÃO DE MONTENEGRO

Esta prova era feita com suspensão de corpos de leishmania, previamente lavados, em cultura pura, e suspensos em solução fisiológica, na contagem aproximada de 2.000.000 de parasitas por cc.. A quantidade injetada no derma era de 0.2 a 0.3 cc.. Algumas das provas foram executadas pelo Dr. Luis Sales Gomes, no Laboratório Central da Santa Casa de S. Paulo e outros por mim mesmo na própria enfermaria do doente.

Uma parte do antígeno foi preparado pelo Dr. Luis Sales Gomes e outra parte pelo Sr. Ettore Rugai, então técnico deste Instituto, e hoje biologista.

REAÇÃO DO DESVIO DO COMPLEMENTO PARA LEISHMANIOSE

Algumas reações de desvio do complemento para Leishmaniose foram feitas, segundo a técnica descrita por A. Marques da Cunha e Emanuel Dias, no Brasil Médico, n.º 5, Ano LIII, de Janeiro de 1939.

Afigura-se-nos que esta prova será de grande valor no diagnóstico da doença mas por enquanto é cedo para se firmar um conceito. A dificuldade da preparação do antígeno e a maneira de fazê-lo, ainda não foram bem esclarecidas, de sorte que as falhas são muito grandes e as reações falsas, habituais.

A titulação do antígeno é muito delicada, havendo com frequência reações anticomplementares. Outras vezes o tubo controle de soro hemolisava mais tardiamente que os tubos com antígeno, o que nos colocava em certa dificuldade, obrigando a repetir inúmeras vezes a mesma reação. Estas provas, bem como a preparação do antígeno foram feitas pelo Snr. Ettore Rugai, tendo eu acompanhado os seus detalhes.

REAÇÃO DO PEPTONATO DE FERRO

Na primeira parte deste trabalho ² descrevemos a reação do Peptonato de Ferro, conforme os estudos de Giraud, Ciaudo e Bernard. Adotámos quasi a mesma técnica original, com as seguintes modificações:

as diluições do peptonato de ferro eram de 1/130, 1/260, 1/520; fazíamos a primeira leitura, não de 10 em 10 minutos, mas após 40 minutos;

classificávamos os resultados como negativos (—), ±, +, ++, +++;

praticávamos uma segunda leitura 20-24 horas depois, obedecendo à mesma classificação acima, conforme a quantidade do depósito existente no fundo do tubo;

controlávamos a reação de soro ativo do doente com o mesmo soro, inativado.

Obedece no gráfico junto, à seguinte ordem: soro ativo — 40 minutos e 20-24 horas; soro inativo — 40 minutos e 20-24 horas.

Segundo o trabalho dos autores da reação, a precisão dela era em tudo igual às demais reações sorológicas para leishmaniose.

Fazendo um estudo do quadro anexo chegámos às seguintes conclusões:

1) Não há especificidade da reação, porquanto é ela positiva em outras moléstias, entre elas a Malária, endêmica entre nós, e negativa ou quasi, em casos clinicamente típicos de leishmaniose, com reação de Montenegro fortemente positiva;

2) A intensidade da reação não é constante, quer em doentes sem tratamento quer nos tratados parcialmente, ou com a primeira série de medicamentos completa;

3) Os soros Wassermann positivos ou negativos, não influenciam a reação;

4) Os soros palúdicos, em geral, floculam o peptonato de ferro;

5) Nos soros de leishmaniosos a floculação do soro inativado é de intensidade muito menor ou nula, quando a floculação do soro ativo é intensa. O mesmo acontece com a maioria dos outros soros;

(2) Do diagnóstico sorológico da Leishmaniose — França Martins, A. — Anais Paulistas de Medicina e Cirurgia Vol. XXXIX — Abril 1940 — n.º 4.

N.º	Nome	Data	Sede do Doente	Diag. Clínico	Intradermo reação	Sífilis			Peptonat				
						Wa. R.	K.	M.	Reação				
									Soro ativo				
									40'			20-24 h.	
1/130	1/260	1/520	1/130	1/260									
2	F. T. S.	21- 7-39	4.ª M. H.	L. cutânea	++++				+++	+++	+++		
8	V. O. S.	9- 8-39	4.ª M. H.	L. cut-nasal	++++	4+		4+	+++	+++	+		
9	J. S.	9- 8-39	4.ª M. H.	L. cut-nasal	++++	4+	4+	4+	+++	+++	+		
14	M.	11- 8-39	Est. Itapeperica	L. cutânea	++				-	-	-		
15	B. S. C.	15- 8-39	4.ª M. H.	L. nasal 2ª ^{ia}				-	++	++	++		
24	L. B.	30- 8-39	"	L. ulcerada gen ^{da}				-	+++	+++	+++	+++	+++
27	J. O. S.	11- 9-39	"	L. cut-nasal	+++			-	++	++	+++	++	++
28	O. C.	"	"	L. naso-faring. ^a	+++			-	+++	+++	+++	+++	+++
29	L. N.	"	"	L. nasal	++++			-	+	+	+	+	±
30	F. P.	"	"	L. nasal	++++			-	+	+	+	+	+
35	O. N.	5-10-39	"	L. ulcer-cut.	+++			-	++	++	++	++	+
16	J. G.	15- 8-39	"	L. naso-faring. ^a	++++	3+		3+	++	++	++	++	++
34	J. F. F.º	5-10-39	"	L. nasal-faring ^a	++++	+		2+	+	+	+	++	+
37	J. N.	"	"	L. cut-nasal	-			-	+	+	+	±	±
23	V. O. S. xx	25- 8-39	"	L. cut-nasal	++++			4+	+++	+++	+++	+++	++
64	F. R.	1-12-39	"	L. cutânea	+++			-	+	+	+	+	+
11	N. A.	9- 8-39	"	L. cutânea	+++			-	+++	+++	++		
33	J. F. S.	5-10-39	"	L. cut-nasal	++++			2+	++	++	++	++	++
45	G. E.	11-10-39	"	L. nasal	++++	+	+	-	++	++	++	++	++
43	W. B. S.	"	"	L. cut-nasal	+	+	+	-	++	++	++	++	++
1	M. P. B.	21- 7-39	"	L. nasal	++++			-	+	+	+		
10	O. R.	9- 8-39	"	L. nasal	+++	3+		-	+++	+++	+++		
18	A. R.	23- 8-39	"	L. cutânea	++++	4+		3+	+	+	+	+	+
19	F. B.	"	"	L. mucosa	++++			4+	+++	+++	+++	+++	+++
20	E. A.	"	"	L. cutânea	++++			-	-	±	±	+	+
39	R. J.	5-10-39	"	L. nasal (?)	+++			-	++	++	++	++	++
42	O. A. S.	11-10-39	"	L. nasal	++++			-	++	+	±	+	+
44	J. A. S.	"	"	L. nasal	++++			-	+	-	-	-	-
25	A. I.	30- 8-39	4.ª M. H.	L. nasal 2ª ^{ia}				-	±	±	-	+	±
41	N. A. xx	11-10-39	"	L. cutânea	+++			-	±	±	+	+	+
61	J. A. P.	1-12-39	"	L. cutânea	+++			-	+	+	+	++	++
65	A. M. T.	"	"	L. cut- verrucosa	++++			-	±	±	±	±	±
62	G. S.	"	"	L. cutânea	++++			-	±	±	±	±	±
40	F. N.	11-10-39	"	L. cut-nasal	++			-	+	+	+	++	+
3	Soro n.º 1	1- 8-39	Soro Sec. Wa.			4+	4+	4+	-	±	±		
4	" " 30	"	"			4+	4+	4+	-	-	-		
12	" " 590	9- 8-39	"			4+	4+	4+	+	+	+		
21	" " 35	23- 8-39	"			4+	4+	4+	-	-	-	+	+
5	" " 2	1- 8-39	"			-	-	-	-	-	-		
6	" " 3	"	"			-	-	-	±	±	±		
7	" " 3	21- 7-39	"			-	-	-	-	-	-		
13	" " 691	9- 8-39	"			-	-	-	-	+	++		
22	" " 7	23- 8-39	"			-	-	-	-	-	-	±	±
31	A. M.	26- 9-39	S. Paulo	Malária				-	+	+	+	±	±
32	V. B.	"	Guarujá	Malária (Dr. Costa)				-	±	-	-	-	-
51	A. A. S.	7-14-39	Faz. Itaquerê	Malária vivax		2+	+		+++	+++	+++	+++	+++
52	J. I. S.	"	"	"					+++	+++	+++	+++	+++
53	M. F. R.	"	"	"					±	±	±	±	±
54	A. R.	"	"	"					±	±	±	±	±
55	M. L. N.	"	"	"					±	±	±	±	±
56	J. C.	"	"	Malária					+	+	+	+	+
57	J. F. S.	"	"	"					+	+	+	+	+
58	S. B.	"	"	"					-	-	-	-	-
59	E. V.	"	"	"					++	++	++	++	++
60	U. B.	"	"	"					+	+	+	+	+
46	D. M.	24-11-39	S. P. Lepra	Lep. nerv. mac-anest	Mitsuda positivo	-	-	-	-	-	-	±	±
47	A. B.	"	"	Lep. mixta	Muco posit. 1984	2+	2+		+	+	+	+	+
48	A. V.	"	"	"	Mits. — Biop. posit.	-	-	-	±	±	±	±	±
49	J. G.	"	"	Lep. mac-anest.	Mitsuda — Lesão —	-	-	-	±	±	±	±	±
50	R. B.	"	"	"	Mitsuda posit. fort.	-	-	-	±	±	±	±	±
17	Prof. S. P.	15- 8-39	Fac. Medicina	Vacin. p. Leishm.				-	-	-	-	±	±
26	F. P. D.	30- 8-39	4.ª M. H.	Ulcera Trop. Leish.?	-			-	±	±	-	++	++
36	G. L. C.	5-10-39	"	Ducrey 4.º Molestia	+	4+	4+	4+	+	+	+	++	++
38	J. G.	"	"	Leish? Penfigo?	-			-	++	++	++	++	++
63	A. F. B.	1-12-39	"	Leishm.?					+	±	±	+	+

Controle				Reação de Brahmachari		Reação do Formol-gel tipo Napier	Reação do Formol-gel tipo Nattan-LARRIER		Reação da Água destilada		Tratamento	Observações	
oro inativo				10'	20-24 h.		40'	20-24 h.	40'	20-24 h.			
520	1/130	1/260	1/520										
+	+	+	+	-	-	+	-	-	-		não	Desvio do comple. ^{1o} +++	Leishmaniose Não tratados
+	+	+	+	+	-	(±)	-	+	+	1. ^a dose Eparsono			
+	+	+	+	+	-	(±)	-	+	+	"		Desvio do comple. ^{1o} +++	
+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	"		Desvio do complemento ++	
+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	"		Desvio do comple. ^{1o} +++++	
+	+	+	+	+	-	(-)	-	±	±	"		Desvio do comple. ^{1o} +++	
+	+	+	+	+	-	(±)	-	+	+	2. ^a dose Eparsono			
+	+	+	+	+	-	(-)	-	+	+	"			
+	+	+	+	+	-	(±)	-	+	+	3. ^a dose Eparsono		XX Repetição do n.º 8	
+	+	+	+	+	-	(±)	-	-	-	3. ^a dose Tártaro Emético		Desvio do comple. ^{1o} +++	
+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	5. ^a dose Eparsono			
+	+	+	+	+	-	(±)	-	+	+	6. ^a dose Eparsono			
+	+	+	+	+	-	-	-	±	±	8. ^a dose Eparsono			
+	+	+	+	+	-	-	-	±	±	10. ^a dose Eparsono			
+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	N.º de doses desconhecidas		Desvio do complemento +	
+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	"			
+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	"			
+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	"			
+	+	+	+	+	-	(-)	-	+	+	"			
+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	"			
+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	1. ^o tratamento: Eparsono			
+	+	+	+	+	-	(±)	-	+	+	"		XX Repetição n.º 11	
+	+	+	+	+	-	(±)	-	+	+	Final — 12 doses Arsenito		Desvio — complemento —	
+	+	+	+	+	-	(±)	-	+	+	Final 8 Tart. Emét. 12 Epar		Desvio — complemento —	
+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	2 anos de tratamento		Muitas úlceras	
+	+	+	+	+	-	-	-	+	+				LEISHMANIOSE Após 1. ^o tratamento
+	+	+	+	+	-	-	-	+	+				Soros Wassermann Positivos
+	+	+	+	+	-	-	-	+	+				Soros Wassermann Negativos
+	+	+	+	+	-	(-)	-	+	+	Em tratamento		Henry = fortemente positivo	Soros de paratuberculosos
+	+	+	+	+	-	(±)	-	+	+	Em tratamento			
+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	"			
+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	Em tratamento			
+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	"			
+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	Tratado			Soros de Leptos
+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	Pouco tratado			
+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	Tratado			
+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	"			
+	+	+	+	+	-	(-)	-	+	+	Não tratado		Soro hemolisado	Soros Diversos
+	+	+	+	+	-	(±)	-	+	+	2. ^a dose Eparsono		Desvio do Complemento —	
+	+	+	+	+	-	(-)	-	+	+				

6) A leitura em 20-24 horas, conforme a intensidade do depósito formado no fundo do tubo, não trouxe vantagens aparentes na técnica da leitura:

7) Comparando a reação do peptonato de ferro com as demais feitas, foi ela mais sensível e funcionou mais de acordo com a reação de Montenegro do que as outras;

8) Há grande dificuldade no julgamento da intensidade da reação a olho nú, de um grau para outro. Julgamos que com o uso do nefelômetro poderíamos obter maior precisão na leitura, observando-se melhor as variações de um grau para outro. Infelizmente não possuíamos um desses aparelhos naquela ocasião.

REAÇÃO DE BRAHMACHARI

Praticámos a reação de Brahmachari colocando 1 cc. de soro a examinar no fundo do tubo de ensáio (12x12), e 2 cc. de água bi-distilada, lentamente deslizada pela parede do tubo de maneira a vir a se sobrepor ao soro. A primeira leitura era feita após 10 minutos e a segunda após 20-24 horas. Seguíamos aproximadamente a classificação de Nasso para a catalogação dos resultados: —, ±, +, ++, +++, conforme a intensidade de turvação no limite de separação dos dois líquidos e a turvação da água distilada sobrenadante.

Os resultados obtidos podem ser grupados para os soros leishmaniosos, no quadro seguinte (leitura em 10 minutos):

Fortemente positiva +++	0
Positiva ++	7
Levemente positiva +	10
Duvidosa ±	3
Negativa —	11
	—
Total	31

Foram praticadas reações de Brahmachari em 31 soros de leishmaniosos, predominando uma maior porcentagem de reações negativas (11) e levemente positivas (+) (10).

Por coincidência, praticámos o mesmo número de reações do que os Drs. J. Alcântara Madeira e H. Cerruti, concordando os nossos resultados quanto às reações fortemente positivas (+++), que nenhum de nós conseguiu obter.

A diferença das nossas duas estatísticas é quasi que exclusivamente na parte referente às reações negativas, que aqueles pesquisadores obtiveram 19 em 31 casos e nós 11 em 31 casos também.

Seja como fôr, a diferença insignificante por nós obtida, em nada altera o conceito firmado pelos senhores acima citados, que subscrevo integralmente, isto é, do valor nulo da reação de Brahmachari para o diagnóstico da leishmaniose tegumentar americana, quer quanto à constância ou especificidade dos resultados.

— Estudando-se no quadro anexo a reação de Brahmachari comparativamente com as outras reações praticadas, quer com soros de leishmaniosos, quer com os soros provenientes de indivíduos portadores de outras doenças, concluímos que:

1) com a reação de Montenegro demonstrou não ter o menor valor diagnóstico comparativo;

2) com a reação do peptonato de ferro funcionou em desacordo, mesmo em caso de reações do peptonato fortemente positivas;

3) com a reação do formol-gel tipo Napier mostrou ser muito menos sensível, o mesmo acontecendo com a reação da água destilada.

A leitura praticada 20-24 horas depois, em geral nos mostrava resultados negativos, sendo de nulo valor esta 2.^a leitura.

REAÇÃO DO FORMOL-GEL TIPO NAPIER

A prova do formol-gel tipo Napier, foi praticada tomando-se 1 cc. do soro a examinar e duas gotas de formol do comércio. Processava-se a 1.^a leitura em 40' e a 2.^a, 20-24 horas depois. Para representar os resultados, tomámos como base a classificação do próprio Napier, somente que, em vez de considerarmos a 1.^a leitura em 20', a fazíamos em 40'.

Em todos os exames praticados, somente nos soros dos leishmaniosos a reação foi realmente sensível, mas numa intensidade muito fraca, não servindo de base como reação de diagnóstico. Passando em revista os casos examinados, notámos que em 32 casos de soros de leishmaniosos, os resultados grupam-se dessa fôrma:

Positiva	{	+++	2
		++	0
		+	4
			6

Duvidosa	{	(+)	0
		(±)	8
				8
Negativa	{	(-)	3
		—	15
				18
Total				32

Os resultados obtidos estão longe de ser comparados com aqueles dos soros de doentes com Kala-azar. Lembro que nesta doença, Napier em 150 casos obteve 98% de casos concordes com a punção do baço. Na leishmaniose tegumentar americana, o funcionamento da reação não foi o mesmo. Os dois casos que obtivemos (+++), um apresentava a reação de Montenegro (+++) e Wassermann (+++); o outro a intradermo foi de +++ e o Meinicke de +++, não tendo sido feito o Wassermann. Vários outros casos em que tanto a reação intradérmica e o Wassermann eram positivos, a reação do formol foi negativa ou duvidosa. Aferire-se daí que não há sensibilidade nem constância da reação nos soros de doentes leishmaniosos, quer sejam eles luéticos ou não.

Podemos resumir no seguinte, o valor da reação do formol-gel tipo Napier, conforme vemos no quadro junto:

1) Ante os soros de vários tipos de doenças estudados, a reação foi mais sensível com o soro de leishmaniosos, mas mesmo nestes, não serviu de base para diagnósticos em qualquer fase do estágio da moléstia, pela inconstância dos resultados e pouca especificidade.

2) A reação foi quasi constantemente negativa nas demais moléstias.

3) Em comparação com a reação de Montenegro, funcionou em absoluto desacordo, não mantendo a mesma constância nem com a reação do peptonato de ferro.

REAÇÃO DO FORMOL-GEL TIPO NATHAN-LARRIER E GRIMARD

Seguimos a técnica preconizada pelos autores: 0,5 cc. de soro, mais 0,5 cc. de formol do comércio. Leitura dos resultados em 40' e 20-24 horas depois.

Em todas as reações feitas, quer em soros de leishmaniosos quer nos de outras doenças, a reação foi constantemente negativa, não se obtendo uma só vez uma coagulação do soro, e somente 3 vezes uma *ligeira* (\leq) opacificação.

Visto não termos obtido em nossas experiências nenhum resultado positivo, deixamos de lado qualquer comentário que poderíamos fazer.

FLOCULAÇÃO DO SORO NA ÁGUA DISTILADA

Foram os estudos de Chorine, Prudhome e Koeclin³ que melhor sistematizaram a floculação dos soros na água distilada, quando em estudo dos soros maláricos. Merece atenção especial a precisão a que aqueles autores procuram chegar, medindo a floculação pelo nefelômetro, segundo técnica descrita por eles. Cremos que dessa forma poderíamos comparar os resultados devido a revelar o método pequenas oscilações do grau nefelométrico, fato que a olho desarmado tornar-se-ia difícil.

Berny procurou experimentar o método em soro de leishmaniosos cutâneos, nas Guianas, e não concluiu da mesma forma que Chorine e seus companheiros. Achou falta de especificidade da reação.

Os estudos feitos por nós carecem em parte da precisão desejada, visto não possuímos no momento um nefelômetro à mão. Praticamos a reação de floculação na água distilada ao mesmo tempo que a reação do peptonato de ferro, fazendo a leitura da mesma forma que nesta prova. Tomavamos 1 cc. de água distilada e 0,2 cc. de soro.

A turvação da água distilada, em confronto com a do peptonato, demonstrou uma diferença sensível para peor, com a água distilada. Uma reação (+++) para esta, aparecia sempre nas formas fortemente positivas para o peptonato. Em várias vezes, conforme se nota no quadro junto, a reação do peptonato foi de (+++) e a da água distilada muito menos intensa.

Como não pudemos seguir uma técnica precisa, procuramos somente acentuar o que fizemos, neste caso, sem o intuito de tirar conclusões, porquanto necessitaríamos de recursos de que não dispunhamos.

(3) V. Chorine, R. Prudhome, D. Koeclin — Flocculation du serum dans l'eau distillée et reaction de Henry. C. R. de la Soc. Biologie, Tomo CXVI, 1934.

CONCLUSÃO

Conforme acabamos de ver, a repetição das reações escolhidas para diagnosticar ou indicar um grau de melhora, em soros de doentes portadores de Leishmaniose Tegumentar Americana, não concordou em absoluto com as descritas pelos seus autores em soros de doentes com Kala-azar.

A intradermo reação de Montenegro, quer pela sua simplicidade técnica, quer pela alta porcentagem de exatidão, é indiscutivelmente até a presente data, a melhor prova prática para o diagnóstico da Leishmaniose Tegumentar Americana. Faltam-nos dados para entrar na apreciação dessa reação em paralelo com várias outras moléstias, porem outros estudos orientados ou efetuados pela Comissão de Leishmaniose, estão examinando o fato com precisão digna de nota⁴.

Somente praticámos 65 provas, entre casos de leishmaniose ou não. Prosseguir com as experiências, afigurou-se-nos trabalho inútil, porquanto com o número feito já evidenciámos a falta de especificidade das reações. Maior número de reações semelhantes em intensidade foram encontradas nos soros de doentes portadores de malária. Ora, é esta moléstia endêmica entre nós, mormente no Interior do Estado, quasi nas mesmas regiões onde grassa a leishmaniose. Assim pensando, não prosseguimos nas experiências, bastando sobejamente as efetuadas para comprovar a sua falta de especificidade.

O princípio de floculação dos soros ante determinados reagentes depende da quantidade e qualidade das globulinas e englobulinas contidas nesses soros. A sua determinação e dosagem, comparadas com os diferentes graus de intensidade de floculação, poderão trazer algum esclarecimento sobre o valor destas provas e talvez precisar por elas esta ou aquela moléstia. Como reação coloidal, a reação de floculação requer cuidados técnicos especiais, cuja variação acarretará resultados finais os mais diversos. Para um futuro não muito remoto, devido aos constantes aperfeiçoamentos dos aparelhos de ótica, teremos esclarecidos certos pontos que atualmente nos causam confusão. É possível, então, que as reações descritas atinjam o fim colimado pelos seus autores.

(4) A intradermo reação de Montenegro — *Prof. Samuel Pessoa e Bruno Rangel Pestana.*

RESUMO

O autor estuda o soro de doentes de Leishmaniose Tegumentar Americana ante as seguintes reações: Intradermo-reação de Montenegro (com suspensão de Leishmanias) — Reação para sífilis (Wassermann-Kahn-Meinicke) — Reação de Formol-gel, tipo Napier — Reação de Formol-gel, tipo Nattan-Larrier — Reação de Brahmachari — Reação de flocculação em água destilada.

Todas estas reações foram feitas comparativamente em cada soro.

Os doentes de Leishmaniose foram divididos conforme o estado de tratamento.

Alem dos soros de doentes de Leishmaniose, foram estudados soros de doentes sífilíticos, palúdicos, leprosos e de algumas outras moléstias.

— O autor conclue que na Leishmaniose Tegumentar Americana, as reações acima não dão resultados constantes, a não ser a Intradermo-reação de Montenegro, que o autor julga ainda ser a melhor prova de diagnóstico.

As reações praticadas deram resultados ora positivos, ora negativos, com quasi todos os soros, donde conclue pela inespecificidade das mesmas.

Os resultados, obtidos pelo autor, não concordaram com aqueles obtidos por outros autores que trabalharam em soros de doentes de Kala-azar.

Nos casos palúdicos os resultados das reações se aproximaram mais daquelas obtidas com os soros de leishmaniosos.

Como no Brasil a malária é geograficamente espalhada e coincide em muitas partes com as zonas de Leishmaniose, as reações estudadas perdem muito de valor, em relação ao diagnóstico diferencial.

SUMMARY

The author examines the bloodserum of patients suffering from American Skin Leishmaniasis making the following tests: Intradermal test of Montenegro, Syphilis tests (Wassermann, Kahn, Meinicke), Formol-gel-test like Napier, Formol-gel-test like Nattan-Larrier, Brahmachari-test, Flocculation-test in distilled water.

All these tests have been made comparatively with each serum. The Leishmaniasis-patients were divided according to the state of their treatment. Besides the serum of Leishmaniasis-patients

there was also examined the serum of patients suffering from syphilis, malaria, leprosy and some other diseases.

The author deduces that in cases of American Skin Leishmaniasis the above mentioned reactions do not give constant results, except the Intradermal-test of Montenegro, which the author still considers the best one to prove the diagnosis.

As the above mentioned reactions gave sometimes negative and sometimes positive results with nearly all serums, the author concludes that they are not specific.

The results obtained by the author do not correspond with those obtained by other authors, who have been working at Kala-azar.

The results of the reactions at malaria-serums approach more those of leishmania-serums.

As in Brazil the malaria is geographically spread in places where there are also zones of Leishmaniasis, the results of the mentioned reactions lose much of their value for the differential diagnosis.

ZUSAMMENFASSUNG

Der Verfasser untersucht das Serum von Kranken, die an amerikanischer Haut-Leishmania leiden, indem er folgende Reaktionen ausführt: Intradermo-Reaktion von Montenegro (mit Leishmaniasuspension), Luesreaktionen (Wassermann, Kahn, Meinicke), Formol-gel-Reaktion nach Napier, Formol-gel-Reaktion nach Nattan-Larrier, Brahmanchari-Reaktion, Flockungsreaktion in destilliertem Wasser.

Alle diese Reaktionen wurden vergleichsweise mit jedem Serum ausgeführt. Die Leishmaniaerkrankten wurden nach dem Stand ihrer Behandlung eingeteilt. Ausser den Seren von Leishmania-kranken wurden ferner untersucht: das Serum von Syphilitikern, Malaria-kranken, Leprösen und das Serum von Patienten, die an einigen andere Krankheiten leiden.

Der Verfasser schliesst, dass bei der amerikanischen Haut-Leishmania die oben erwähnten Reaktionen keine konstanten Ergebnisse liefern, ausser etwa der Intradermo-Reaktion von Montenegro, die der Verfasser noch als die beste erkannt hat zur Festlegung der Diagnose.

Die ausgeführten Reaktionen liefern mit fast allen Seren teilweise positive, teilweise negative Resultate, woraus der Verfasser schliesst, dass sie unspezifisch sind.

Die vom Verfasser erreichten Ergebnisse stimmen nicht mit denen anderer Autoren überein, die mit dem Serum Kala-Azar-Kranker gearbeitet haben.

In der Fällen von Malariakranken nähern sich die Resultate der ausgeführten Reaktionen am meisten den bei Leismaniakranken erreichten. Da in Brasilien die geographische Verbreitung der Malaria in vielen Fällen zusammenfällt mit den Zonen der Leishmania, verlieren die behandelten Reaktionen sehr an Wert bei der Differenzialdiagnose.

TUMORES GIGANTOCELULARES DAS BAINHAS TENDINOSAS

JOÃO MONTENEGRO

Biologista chefe do Instituto Adolfo Lutz

Esses neoplasmas são escassos na casuística oncológica. Não encontrámos, na literatura brasileira ao nosso alcance, um só caso registado e, na estrangeira, poucas relativamente são as publicações que tratam do assunto.

A oportunidade que tivemos de cuidar de dois portadores desse tipo de neoplasma levou-nos à publicação deste trabalho.

CASO I

H. M. — Homem branco de setenta e dois anos de idade, sadio e robusto, com reacção de Wassermann negativa, notára, havia mais de ano, uma discreta saliência dura na superfície palmar do primeiro segmento do indicador da mão esquerda, junto da primeira articulação interfalangeana. Não deu maior atenção mas, decorrido um ano e como se iniciasse no aprendizado do violão, notou que essa saliência se avolumou rapidamente tendo atingido, em três meses, o tamanho de uma ervilha.

O exame propedêutico poz em evidência um nódulo arredondado, profundo, fixo, duro e indolor. Ao extirpá-lo após anestesia local pela novocaina notámos que era encapsulado e que a cápsula adería aos tecidos perijacentes por fortes bridas fibrosas. Profundamente ele se ancorava na parte anterior da bainha dos tendões flexores do dedo indicador da mão direita e não tinha ligação óssea alguma.

Exame anátomo-patológico — Instituto Adolfo Lutz C. 671. A peça era arredondada, media cerca de 1,5 cm. de diâmetro, tinha côr cinzenta amarelado, era levemente bosselada e estava revestida de cápsula fibrosa íntegra mas áspera. A superfície do córte era mais francamente amarelada do que a parte externa.

Após fixação em formol foram preparados e corados córtex pela hematoxilina e eosina e outros corantes. Nos córtex corados pela hematoxilina e eosina via-se, na periferia, uma cápsula fibrosa densa formada por fibrilas que se fundiam em grandes extensões para formarem tractos ou nódulos de aspecto hialino, salpicados de escassos núcleos alongados e delgados. Dessa cápsula partiam, para o interior do tumor, septos fibrosos que o dividiam em lobos de tamanhos diversos. Era na cápsula e nos septos fibrosos que corriam os vasos sanguíneos de paredes bem constituídas, espessas mesmo e até hialinizadas.

Os lobos eram formados por tecido celular polimórfico com maior ou menor quantidade de estroma fibroso.

Destacava-se dentre as células um tipo bem definido, com núcleo relativamente grande, arredondado ou oval, de aspecto vazio, pulverizado com delicados grânulos e provido de filamentos que se extendiam de distinto nucléolo a uma membrana nuclear realçada por revestimento interno mais ou menos uniforme de cromatina. Seu citoplasma era escasso e retrátil de modo a deixar, certas vezes, uma auréola entre a célula e os tecidos circunjacentes. Pequenas variações nesse tipo de célula consistiam em núcleos reniformes ou alongados e mais cromáticos. Oriundos da mesma célula matriz deviam ser os gigantócitos que pompejavam esse quadro histopatológico, pois seus núcleos, múltiplos e numerosos, tinham o aspecto das células que acabámos de descrever, enquanto o citoplasma era denso, bem corado pela eosina e tinha, frequentemente, na periferia, um vacuolo ocupado, algumas vezes, por célula fagocitada. Nesses gigantócitos os núcleos se alojavam, de preferência, no centro da célula mas nós os vimos, muitas vezes, grupados na periferia, em um ou mais lados e até em forma de corôa.

Havia ainda células pequenas, alongadas, contortas, desordenadas, com núcleo bem corado, dando a impressão de células sarcomatosas. Outras eram alongadas, tendendo a formar feixes, como fibroblastos que se iam diferenciando para formar tecido fibroso. Cá e lá encontrámos células necrobióticas, esparsos linfócitos e ocasionais polinucleares.

Esses vários tipos de células se achavam, em geral, misturados mas, segundo a região, predominava um ou outro tipo. Na parte periférica as células de aspecto sarcomatoso ou fibroblástico eram as mais numerosas; aí o estroma fibroso não era tão denso nem bem definido em feixes. Nas partes mais centrais onde o estroma

fibroso formava uma trama de curtos mas densos septos hialinizados dominavam as células de núcleos grandes que se alojavam nas malhas da trama onde encontravam um ninho de fibrilas argentófilas.

Junto da periferia encontrámos áreas ricas em pigmento de côr ocre, dentro e fóra de células, que dava a reação do azul da Prússia e, portanto, atestavam a ocorrência de prévias hemorragias.

A coloração pelo método de Weigert só revelou algumas fibras elásticas na cápsula.

Esse quadro histo-patológico foi rotulado de fibrosarcoma gigantocelular e várias lâminas submetidas à apreciação de competente docente da cadeira de Anatomia Patológica da Faculdade de Medicina receberam a corroboração desse diagnóstico. Ante essa conclusão o enfermo foi enviado a outro cirurgião que lhe amputou os dedos indicador e médio da mão esquerda e respectivos metacarpeanos. Isso foi em Janeiro de 1938 e o paciente permanece curado.

CASO II

A. M. — Consultório de Cirurgia de Mulheres da Santa Casa. Mulher branca, de trinta e dois anos de idade, com bons antecedentes. Contou-nos que havia três anos aparecêra-lhe um tumor na superfície palmar do dedo indicador da mão direita, tendo crescido lentamente até atingir as atuais proporções. Tratava-se de um tumor do tamanho de uma nóz, um pouco achatado, levemente bosselado e elástico. Ao extirpá-lo notámos que era encapsulado, adería firmemente aos tecidos circunjacentes por bridas fibrosas e estava preso à bainha dos tendões flexores.

Exame anátomo-patológico — Instituto Adolfo Lutz C. 1162. O neoplasma media 4x3,5x2,5 cms. De um modo geral muito se parecia com o do caso I. Mas na peça em apreço os gigantócitos eram maiores, muito mais numerosos e continham maior somá de núcleos. Havia também grupos de células “espumosas” que, nos córtes corados pelo Sudão III, apareciam cheios de gordura. Os tractos fibrosos do estroma eram, quasi todos, de aspecto hialino e os vasos, mesmo os calibrosos, não tinham paredes espessas e hialinas. Tomadas em conjunto as células eram menos numerosas, com predomínio das do tipo de núcleo redondo com pouca cromatina.

Diagnóstico — Tumor gigantocelular das bainhas tendinosas.

Visitámos a enferma mais de três meses após a intervenção e verificámos a cicatrização perfeita sem indícios de recidiva.

Por causa da analogia histo-morfológica que existe entre esses tumores e os gigantocelulares ósseos alguns autores os tratam englobadamente. Isso, a nosso vêr, tem trazido certa confusão no que diz respeito ao comportamento clínico desse neoplasma. É bem sabido que há dois tipos de gigantocelulares ósseos, os benígnos e os malignos, mas os das bainhas tendinosas são, provavelmente, sempre benígnos e é para robustecer esse conceito que eles devem ser tratados à parte. Compreendemos que se eles forem submetidos a constantes irritações e traumatismos, especialmente se estes romperem-lhes a cápsula, eles poderão, ocasionalmente, assumir carater maligno como soe acontecer com qualquer dos neoplasmas ditos benígnos. Essa possibilidade e o incomodo que causam são indicações para extirpá-los precoce e totalmente, mas conservadoramente.

O que caracteriza esses blastomas do ponto de vista clínico e anátomo-morfológico são: a) Evolução lenta e benignidade; b) Localização nas bainhas tendinosas; c) Cápsula forte, áspera, aderente às bainhas tendinosas e tecidos adjacentes; d) Presença de células parecidas com mielócitos ou células endoteliais, de gigantócitos de citoplasma bem corado, de células esteatosadas (espumosas), de pigmento hemosiderótico, de estroma conjuntivo de aspecto hialino e, finalmente, de vasos de paredes bem constituídas.

Consignamos aquí nosso agradecimento a Da. Ana Faraco que nos preparou os córtes histológicos.

RESUMO E CONCLUSÕES

Relatámos dois casos de tumor gigantocelular das bainhas tendinosas. Ele se caracteriza pela presença de gigantócitos, células parecidas com as do endotélio ou mielócito ou osteoclasto, células gordurosas ou “espumosas”, pigmento férrico, estroma conjuntivo hialinizado, e vasos sanguíneos de paredes bem constituídas.

Embora histomorfologicamente se pareça com o tumor ósseo gigantocelular, pensamos que deve ser tratado separadamente, para evitar certa confusão que já se verifica na literatura médica acerca do seu comportamento clínico. Apesar de histomorfologicamente parecer um sarcoma ele é, provavelmente, sempre benígno; assim se comportou em nossos dois casos.

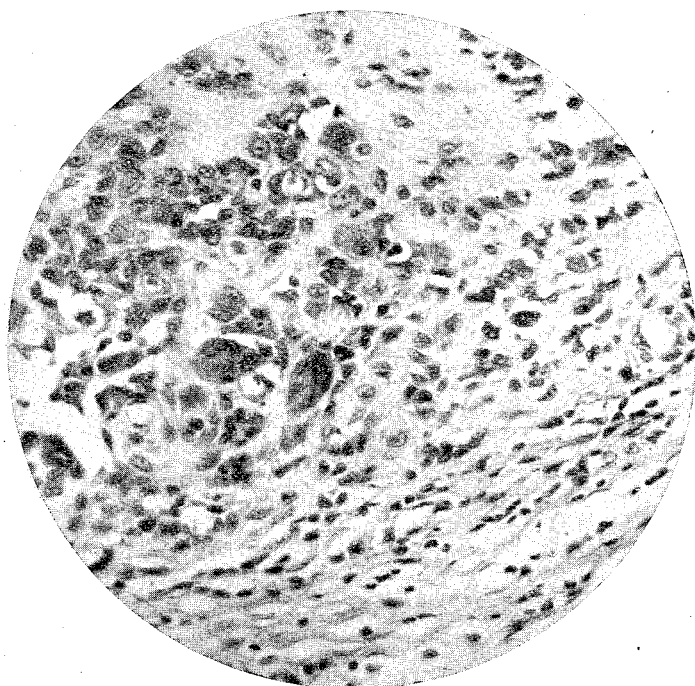
SUMMARY AND CONCLUSIONS

We reported two cases of giant-cell tumor of the tendon sheaths. Its main features are: Giant-cells, cells resembling those of endothelium or myelocytes or osteoclasts, fatty or foamy cells, iron pigment, hyalinized connective tissue stroma and blood vessels with well developed walls.

Although histomorphologically it resembles the bone giant-cell tumor, we believe that it should be dealt with separately, to avoid a certain confusion which already exists in the medical literature regarding its clinical behaviour. Although it resembles a sarcoma histologically it probably always acts as a benign tumor; it thus behaved in our two cases.

LITERATURA CONSULTADA

- DURANTE — Chir. d. org. di. mov. 1923 pg. 392.
ROMITI — Arch. Ital. Chir. 1925 pg. 406.
STEWART — Lancet. 1922 pg. 1106.
MOLINARI — Policlinico (Sez. Prat. 1936 pg. 2216.
CANAVERO — Policlinico (Sez. Chir.) 1934 pg. 341.
CICALA — Patologica 1934 pg. 536.
FRASSINETI — Bull. d. sc. med. Bologna 1935 pg. 607.
TISON e HUBERT — Echo Med. du Nord 1934 pg. 943.
HETZAR — Deutschr. Zeitschr f. Chir. 1934 pg. 63.
MORTON — Surg. Gyn. Obst. 1934 pg. 441.
SANTERO — Minerva Medica 1937 pg. 13.
GÖMORI — Amer. Jour. of Surg. 1936 pg. 150.



CASO 2

Tumor giganto-celular das bainhas tendinosas.

GRAVIDEZ E FEBRE AMARELA

Lesões histo-patológicas dos fígados de uma mulher e de seu feto

JOÃO MONTENEGRO

Biologista chefe do Instituto Adolfo Lutz

Vamos apresentar o caso de uma complicação rara na febre amarela silvestre — a gravidez.

A escassez dessa casuística se explica facilmente por ser o sexo feminino muito poupado pelo mal amarelado silvestre (cerca de 10% dos casos). Apesar desse fato tivemos oportunidade de examinar o fígado de uma mulher grávida que falecera de febre amarela, clinicamente assim diagnosticada pelo Dr. Carlos Vieira de Moraes, em Março de 1936.

A confirmação histológica desse diagnóstico, no fígado da mulher, se baseou em:

- 1.º — Presença de células de Councilman-Rocha Lima:
 - a) Típicas — Raríssimas.
 - b) Atípicas identificáveis — Muitas.
 - c) Atípicas suspeitas — Muitas.
- 2.º — Desorganização total do parênquima hepático.
- 3.º — Esteatose médio e micro-goticular intensa.

As células de Councilman-Rocha Lima nos cortes desparafinados e corados pela hematoxilina e eosina estavam, na quasi totalidade, deformadas e continham grânulos de pigmento. Em geral elas jaziam em espaços claros e mais ou menos isoladas do contacto com as outras células. Seus núcleos apagados eram pequenos e o protoplasma intensamente eosinófilo. A grande maioria das células necróticas estavam na fase anucleada formando massas protoplásmicas eosinófilas em torno das quais se colavam um ou mais núcleos azuis de fagócitos. A necrose era salpicada.

As células escapadas à necrose estavam intensamente esteatosadas, mas nenhuma tinha forma de sinete. O escasso protoplasma que restava a essas células era de pouca densidade e tomava a cor

roxa claro. Seus núcleos se apresentavam, em geral, deformados, ligeiramente picnóticos e corados em azul; não vimos, um só, grande e vesiculoso. Raríssimas eram as células de aspecto mais ou menos normal.

A desorganização do parênquima era total de modo que a estrutura lobular desaparecera completamente. O todo formava um retículo de malhas muito irregulares, estaqueado, aqui e ali, pelos vasos mais calibrosos.

Não havia necrose zonal nem a insulo-citoplásmica. Muitos sinusoides abrigavam alguns leucócitos polilobados, deformados, de mistura a monócitos. Nos espaços de Kiernan essa infiltração era mais intensa. As células de Kupffer estavam entumecidas e algumas continham grânulos de pigmento pardo amarelado.

O fígado do feto não apresentava lesões que nos habilitassem a firmar o diagnóstico de mal amarelado. Estava parcialmente autolisado de modo que as células hepáticas se coravam mal. Na parte do corte que correspondia à periferia do fígado as colunas de Remak se mantinham íntegras preservando assim a arquitetura lobular. Nessa região os sinusoides estavam muito dilatados mas exangues. Não havia necrose salpicada nem em massa. A esteatose era do tipo micro-goticular, mas discreta. As células hepáticas parenquimatosas continham abundância de pigmento biliar pardo amarelado que, ora se apresentavam em forma de grânulos relativamente grossos, ora enchiam parcialmente vacuolos citoplásmicos redondos e de paredes lisas. Por todo o corte havia ninhos esparsos de células hematopoiéticas e algumas células eosinófilas pequenas de aspecto hialino, mas com núcleo bem corado em azul, denotando não terem sofrido necrose. Na parte do corte que correspondia à zona mais central do fígado havia uma grande área em franca autólise onde mal se distinguíam os restos das células hepáticas. Essa área mais autolisada não tinha limites precisos, era finamente reticulada e dava a impressão de massa cerebral, parcialmente autolisada. Pensamos que ela resultou de má fixação do bloco de tecido que era um tanto volumoso.

Sicé e Rodallec¹ relataram, recentemente, 2 casos de febre amarela em mulheres grávidas, na Síria. Em um dos casos houve graves manifestações hemorrágicas o que não aconteceu no outro.

(1) Sicé, A. e Rodallec, B. — "Manifestations hemorragiques de la fièvre jaune (typhus amaril): Répercussions de l'infection maternelle sur l'organisme foetal." — Bull. Soc. Path. Exot. 1940 vol. 33 pag. 66.

Tal como no nosso caso as pacientes não abortaram. Eles também não encontraram, no fígado do feto, as alterações que caracterizam o mal amarelado.

RESUMO

No fígado de uma mulher grávida que falecera em consequência de febre amarela silvestre, nós encontramos:

1. Células de Councilman-Rocha Lima dispostas salpicadamente.
2. Peculiar esteatose médio e micro-goticular.
3. Desorganização total do parênquima. Havia, neste caso, ligeira leucocitose de polilobados e grande tendência para fagocitose das células de Councilman-Rocha Lima.

Não encontramos, no fígado do feto, lesões amareladas, talvez porque o mecanismo da morte tenha sido outro. A autólyse parece indicar que a morte do feto precedeu a da mãe.

SUMMARY

In the liver of a pregnant woman dieing of jungle yellow fever we found the following lesions: 1. The Councilman-Rocha Lima's cells scattered all over the sections. 2. Peculiar medio and microdroplet steatosis. 3. Total disorganization of the parenchymal tissue. There was also a slight polynuclear leucocytosis and great tendency for phagocytosis of the Councilman-Rocha Lima's cells.

We did not find yellow fever lesions in the liver of the foetus, perhaps because the mechanism of death was different. The autolyse seems to indicate that the death of the foetus preceded that of the mother.

RESUMÉ

Nous avons trouvé dans le foie d'une femme enceinte, morte par la fièvre jaune des forêts, les lésions suivantes: 1. Cellules de Councilman-Rocha Lima aspergées par toute le coupe histo-pathologique. 2. Stéatose medio et micro-goutticuliere spéciale. 3. Désorganisation totale du parenchyme hepatic. Il y avait, par toute le coupe, leucocytose peu marquée et grande tendance à la phagocytose des cellules de Councilman-Rocha Lima.

Nous n'avons pas trouvé dans le foie du fétus les lésions de la fièvre jaune, peut-être parce que un autre mechanisme lui a causé la mort. L'autolyse semble indiquer que la mort du fétus a précédé celle de la mère.

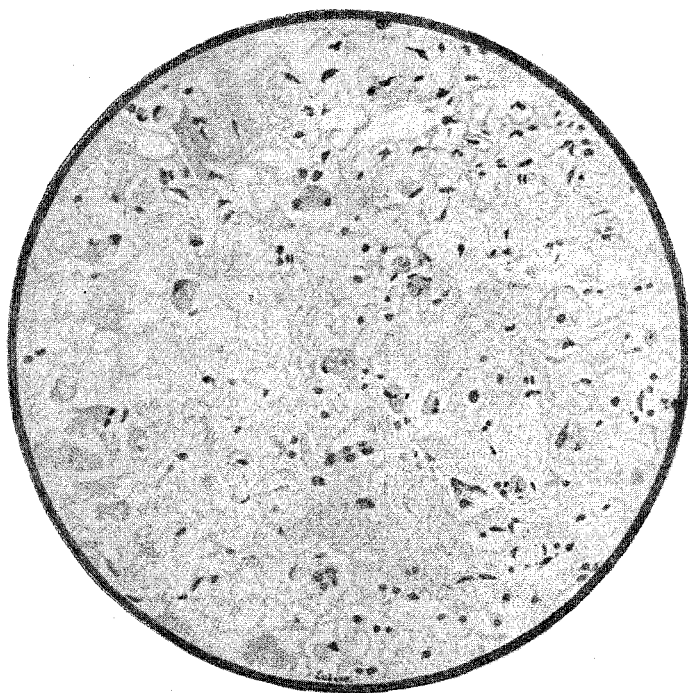


FIG. 1

Mãe — Esteatose intensa. Total desorganização do parênquima. Uma célula de Councilman-Rocha Lima típica, no centro e muitas atípicas fagocitadas. Lâmina C. 219.
Ampliação X 100



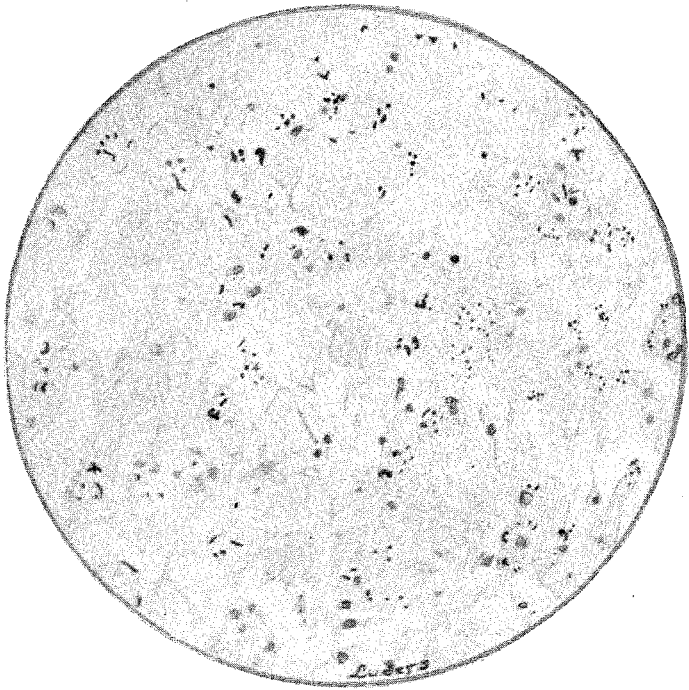
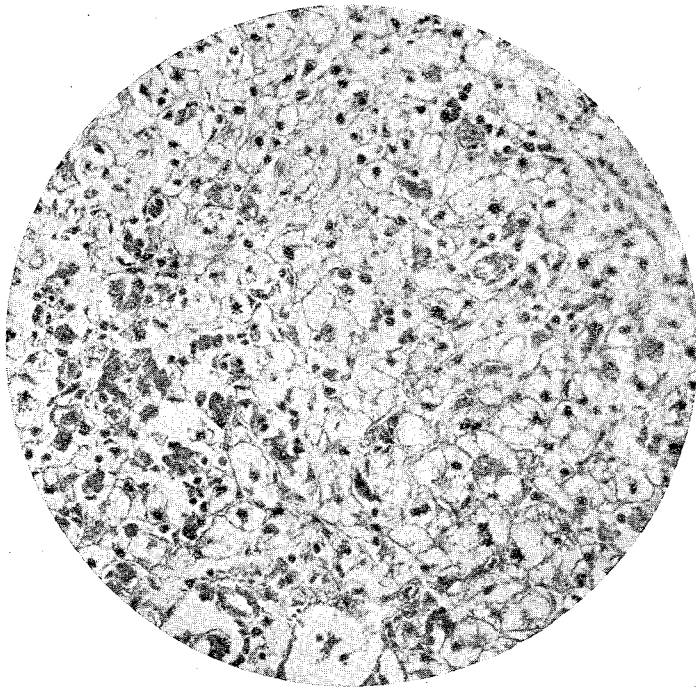


FIG. 2

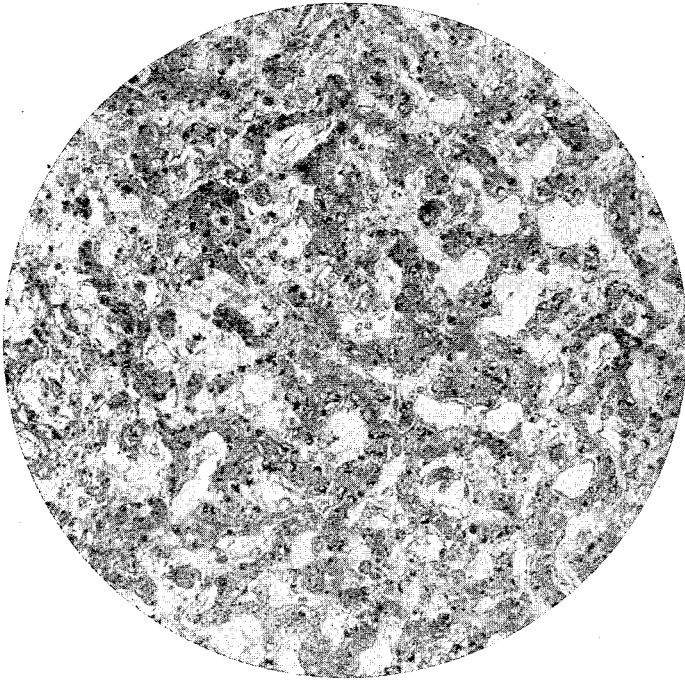
Feto — Dilatação sinusoidal, pigmentação e protoplasma filamentoso corado em vermelho





F.G. 3

Mãe — Fotomicrografia.



. FIG. 4

Feto — Fotomicrografia.

TRICOFÍCIA DIFUSA DA PELE GLABRA COM
PERSISTÊNCIA DE LESÕES DO COURO CABE-
LUDO EM ADULTO, POR *TRICHOPHYTON*
VIOLACEUM

NICOLAU ROSSETTI

Biologista chefe do Instituto Adolfo Lutz — Prof. catedrático de Der-
matologia e Sifilografia da Escola Paulista de Medicina

CASO CLÍNICO

Rosa P., de 21 anos de idade, casada, branca, brasileira, natu-
ral de Monte Santo (Estado de Minas Gerais). Antes de vir para
o nosso Estado trabalhava em cortume. Atualmente diz ser en-
fermeira em um hospital da cidade. Procurou-nos na Consulta de
pele do Instituto de Higiene. Refere ter a dermatose atual desde
a infância, provavelmente a partir da idade de 4 anos, portanto
há cerca de 17 anos. Ao que nos informa, já no início da molés-
tia as lesões mórbidas localizavam-se na pele glabra e no couro
cabeludo, atingindo, algum tempo depois, também as unhas. Não
se lembra de ter jamais notado o desaparecimento completo dessas
lesões; no entanto, as da pele glabra parecem-lhe diminuir de nú-
mero e tornar-se menos aparentes na estação fria, recrudescendo
e piorando visivelmente nas épocas de calor. Não se queixa de
prurido, nem de qualquer fenômeno subjetivo anormal.

Exame objetivo atual — A paciente, moça de média estatura
e de condições gerais aparentemente boas, nada mais apresenta
alem das lesões da pele e dos faneros, das quais vamos dar des-
crição suficientemente detalhada, acompanhada dos exames micros-
cópicos e das provas culturais feitos para a elucidação etiológica
das diversas lesões.

Couro cabeludo — Em sua parte alta e central, correspondente
de certo modo à metade posterior de ambas as regiões parietais,
há uma larga área acentuadamente desnudada, de extensão maior
do que a superfície da mão. Os poucos cabelos conservados têm
o comprimento e aspecto normais e na maioria dispõem-se em pe-
quenos feixes irregularmente distribuídos pela superfície degla-
brada. Esta, a um exame mais cuidadoso, mostra-se constituída

pela confluência de numerosíssimas e pequenas cicatrizes levemente deprimidas, róseas ou brancas lustrosas, lembrando, em seu conjunto, embora imperfeitamente, o aspecto das de favus, cujos *godets* e crostas já tivessem desaparecido. (Fig. n.º 1).



Fig. n.º 1

Lesões cicatriciais do couro cabeludo devidas ao *T. violaceum*

Os cabelos longos da região afetada não parecem, pelo menos microscopicamente, alterados. Nenhum deles apresenta côr acinzentada e sem brilho; não se percebe o cheiro de camondongo das lesões fávicas.

O exame cuidadoso da área atacada mostra também *pequenos pontos bastante pretos* que emergem da pele formando saliência. São folículos, em cujo centro há um fragmento de cabelo mais espesso do que um cabelo normal e de côr acentuadamente preta, de um preto retinto. Em muitos desses folículos o fragmento de cabelo acha-se retorcido, entortilhado, à maneira de um prego rebitado. Outros folículos da mesma região, além do fragmento de cabelos neles encastado, contêm uma gotícula de pus. Os exames

microscópicos e culturais dos cabelos de aparência normal e dos fragmentos de cabelo serão referidos mais adiante, no capítulo em que será tratada a etiologia das diversas lesões deste caso.

Unhas — A inspecção das unhas das mãos mostra que tôdas estão alteradas (Fig. n.º 2).

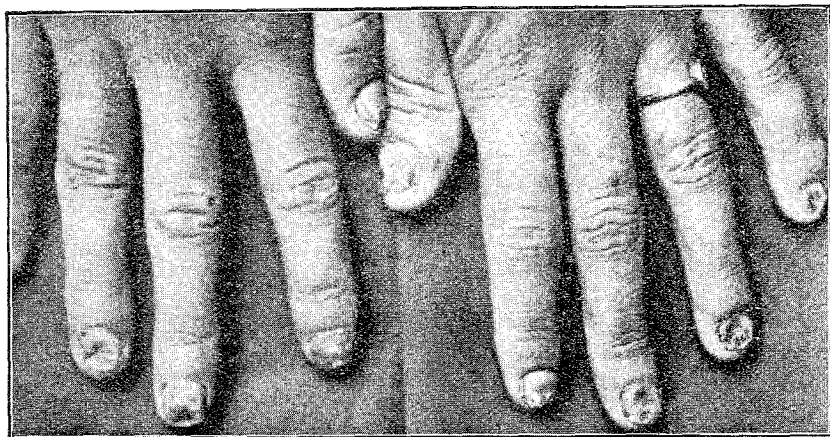


Fig. n.º 2

Lesões onicomicosicas apresentadas pela paciente.

A paciente refere que as unhas da mão direita foram as primeiras a apresentar alterações e, segundo se lembra, elas remontam à primeira infância. Muito mais tarde, há cerca de 3 ou 4 anos, modificações idênticas se manifestaram nas unhas da mão esquerda. Como é de regra nas onicomicoses, tem-se também a impressão certa de que a alteração se iniciou pela borda livre das unhas progredindo em sentido centrípeto. Com efeito, em todas ou quasi todas as unhas, a parte proximal da placa ungueal tem aspecto normal; enquanto nos $\frac{2}{3}$ distais, estão espessadas e tornaram-se opacas e brancas-acinzentadas, levemente amareladas. O espessamento da unha repercute sobre a superfície externa, que se mostra irregular e rugosa, deformada por numerosas saliências e sulcos, ou, então, deprimida, como excavada formando uma concavidade de fundo áspero. Ao seu redor a pele nada apresenta de anormal.

Nas dos artelhos, correspondentes ao 1.º, 2.º e 3.º do pé esquerdo e em todas dos do pé direito verificam-se alterações absolutamente idênticas às que acabamos de referir.

Pele glabra — Lesões do tipo eritêmato-escamoso vêm-se espalhadas pela pele de todo o corpo, com exceção de poucas zonas, como

a da superfície anterior do tronco. Circunscritas ou difusas, isoladas ou confluentes, situam-se em maior número na face extensora do joelho esquerdo, na metade inferior das duas pernas e na região dorsal dos pés. De modo geral, têm o aspecto de pequenas placas arredondadas ou irregulares, algumas mesmo figuradas, desenhando estas segmentos de círculo que se entrelaçam e se confundem. São de tom róseo avermelhado e um pouco elevadas em relação ao nível da pele normal, porque parcialmente recobertas de escamas amarelas esbranquiçadas, pouco aderentes. Analisadas mais detidamente, percebe-se que resultam da confluência de elementos menores, arredondados, de dimensões de cabeça de alfinete grande às de lentilhas. Em alguns pontos, há pequeníssimas lesões pustuliformes, cujo conteúdo é feito de uma massa espessa amarela clara. Além das lesões descritas, é de notar-se, nas áreas cutâneas mais atingidas, a presença de cicatrizes esbranquiçadas, um pouco deprimidas, e que, segundo refere a paciente, são o *reliquat* de antigas lesões eritêmato-escamosas. Para ter-se idéia precisa da distribuição e do aspecto das lesões cutâneas, damos a seguir uma observação mais detida, enumerando-as pelas regiões:

1) *Face* — A pele da frente é toda eritematosa. Sobre fundo vermelho-claro, destacam-se por serem de tom mais intenso e elevadas acima da pele circunvisinha, pequenas papulas, papulo-vesículas e papulo-pústulas, algumas isoladas, outras agminadas em grupos de dois e três elementos. Algumas das lesões vesiculosas ou pustulosas, por secagem do líquido que continham, figuram recobertas de pequenas crostas lenticulares pouco aderentes. No centro da face há três grandes placas eritêmato-escamosas, cujas bordas em parte bem delimitadas, se perdem em outros pontos de maneira difusa, apagando-se pouco a pouco para o lado da pele normal. Uma delas especialmente, a que tem séde sobre o lado direito do dorso do nariz, delimita-se para fóra em bórda nítida que desenha uma moldura em semi-círculo toda crivada de pequenas escamas-crostas cinzentas amareladas, facilmente destacáveis. A área das três placas é avermelhada, descamante e mostra, aquí e acolá, algumas papulo-vesículas e papulo-pústulas análogas às da frente. Sobre a pele das bochechas e do lábio superior, há lesões de tipo eritêmato-escamoso, semelhantes às descritas; são, no entanto, pouco menos acentuadas.

2) *Tronco* — Toda a superfície anterior do tronco é livre de lesões. No dorso há uma única lesão, localizada ao nível do ângulo

inferior do omoplata direito, lesão essa, pequena, pouco maior que um grão de milho, ovalada, de bórdas definidas. A área é rósea e delimitada por um friso de crostinhas, sinais de elementos vesiculosos pre-existentes.

3) *Membros superiores* — No braço direito, além dos sinais de lesões involuídas, representadas agora por máculas hipocrômicas, vê-se em sua face anterior uma placa circínada, de dimensões de pequena moeda, cujas bordas róseo-vivas bem delimitadas, um pouco salientes e escamosas, circundam uma área deprimida, rósea também, furfurácea. No antebraço direito, no terço médio da borda radial, lesões papulosas, papulo-vesiculosas e papulo-pustulosas, lenticulares, de côr róseo-vivo, agrupam-se, desenhando figuras

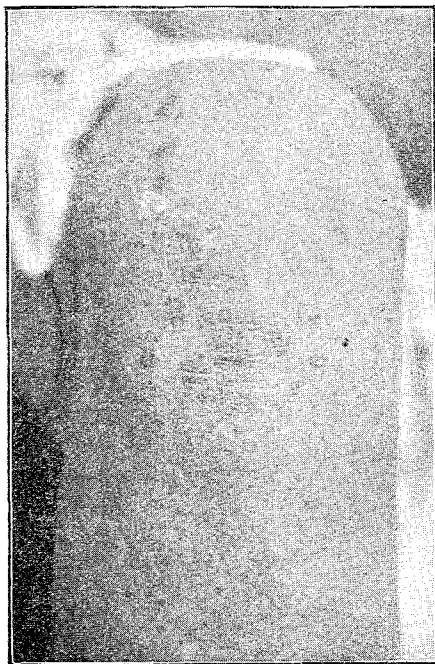


Fig. n.º 3

Lesões da pele glabra causadas pelo
T. Violaceum.

políclicas em fórmula de fragmentos de grinalda. Na borda cubital do mesmo antebraço há uma lesão recente, só com 3 dias de idade; tem contorno ovalado e mede $1\frac{1}{2}$ x 2 cms. de diâmetro. Sua área, que é nitidamente limitada, é crivada de pequeníssimas vesículas

e de escamas igualmente muito pequenas. O braço e antebraço esquerdos não apresentam lesões. A mão direita mostra em sua face dorsal uma lesão recentíssima, aparecida, segundo informa a paciente, cerca de 24 horas antes do nosso exame. É constituída por pequeníssimas papulas, não maiores do que uma cabeça de alfinete, agminadas, centradas por minúsculas vesico-pústulas, branco-amareladas, facilmente notadas sobre o fundo vermelho-vivo, formado pelas papulas. A pele do dorso de ambas as mãos é avermelhada, rugosa e fissurada em alguns pontos. As lesões ungueais, essas já foram descritas precedentemente.



Fig. n.º 4

Lesões da pele glabra causadas pelo *T. violaceum*.

4) *Membros inferiores* — O tegumento cutâneo das nádegas e das coxas é completamente normal. No entanto, a partir dos joelhos até os artelhos ele mostra-se ocupado por numerosas lesões. (Fig. n.º 3, n.º 4, n.º 5 e n.º 6). Quasi toda a superfície extensora do joelho direito é ocupada por uma grande placa, de contorno

irregular, mas bem definido, formada pela confluência de numerosas máculas eritemato-escamosas e papulas muito levemente infiltradas e de côr vermelho-pardacenta. A grande maioria desses elementos é recoberta por escamas lamelosas, planas, pouco aderentes, amarelo-pardas, irregularmente redondas ou ovalares. Têm em geral o diâmetro de ervilha. Ao redor dessa grande placa, há alguns elementos isolados, um pouco mais salientes, do tamanho de cabeça de alfinete grande ao de ervilha, de côr vermelha viva.

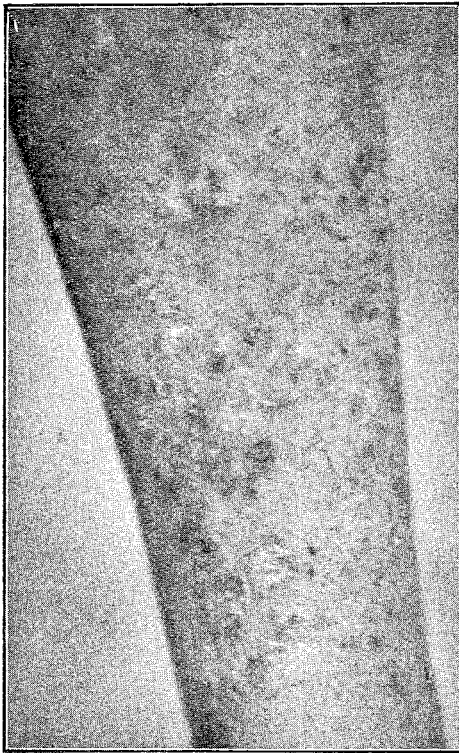


Fig. n.º 5

Lesões da pele glabra causadas pelo
T. Violaceum.

A face extensora do joelho esquerdo, muito menos atacada do que a do direito, mostra só duas curtas fileiras de papulo-vesículas, não maiores do que cabeças de alfinete dispostas de modo a desenhar arcos de círculo. Em alguns pontos essas lesões mostram, de mistura com o róseo, um matiz pardacento devido a presença de pequenas escamas e crostas. Ambas as pernas apresentam-se forte-

mente atacadas, havendo, em toda a pele de seus dois terços inferiores, lesões em grande número avermelhadas, isoladas e agrupadas; papulo-vesículas e papulo-pústulas e grande quantidade de escamas esbranquiçadas, pouco aderentes, que recobrem a maioria das lesões maculosas e papulosas, fazendo-as melhor ressaltar. Em certos



Fig. n.º 6

Lesões da pele glabra causadas pelo *T. violaceum*.

pontos a confluência desses diferentes elementos forma grandes placas eritemato-escamosas, de bordas irregulares, geográficas e de aspecto eczematiforme.

Em muitos outros pontos os elementos máculo e papulo-escamosos reúnem-se, dispondo-se em figuras de segmento de círculo ou de fragmentos de grinalda.

De permeio com essas lesões em atividade, notam-se pequenas cicatrizes antigas, mais ou menos lenticulares, um pouco deprimidas, esbranquiçadas. O tegumento que recobre a articulação tíbio-társica está livre, mas as lesões papulo-vesículo-crostosas reaparecem logo abaixo, desenhando festões de côr vermelha pardacenta. Sobre as lesões das unhas dos pés já nos referimos precedentemente.

EXAME MICROSCÓPICO DOS CABELOS, DAS UNHAS E DAS ESCAMAS DA PELE GLABRA

Cabelos — Depois de tratados convenientemente com solução de potassa a 30% com aquecimento, foram eles submetidos a exame microscópico e, tanto os fragmentos, curtos, grossos, bem pretos e entortilhados que, como acima dissemos, estão encastoados e formam saliência em muitos folículos, como os cabelos de aparência normal, que se reúnem em feixes entre as cicatrizes da área atacada. Alguns destes, não obstante o aspecto macroscópico de cabelos normais, revelaram a presença de poucos filamentos micelianos, de séde endotrix e de aspecto análogo ao dos que vão ser adiante referidos. Os fragmentos de cabelos intra-foliculares são ricamente parasitados. A invasão deles é unicamente interna e realizada por numerosíssimos filamentos esporulados, com aspecto de rosário com artículos arredondados. Toda a espessura do fragmento de cabelo, no interior da cutícula, é ocupada por esse amontoado de elementos redondos, dando bem a imagem de um saco cheio de nozes, conforme comparou Sabouraud.

Unhas — Alguns pequenos fragmentos de unhas foram colocados entre lâmina e lamínula com algumas gotas de solução de potassa a 30%. Sem prévio aquecimento, foram deixados macerar e clarificar a frio pelo espaço de pouco mais de 24 horas. O exame microscópico evidenciou numerosos filamentos micelianos longos, alguns retilíneos, outros sinuosos, bem visivelmente septados em artículos curtos, na maioria quadrangulares. Poucos artículos são oblongos, com tendência à fórmula ovalar.

Escamas da pele glabra — Escamas foram retiradas de todas as regiões cutâneas glabras atingidas pela dermatose. Cuidadosamente examinadas ao microscópio, pôde-se identificar nelas a pre-

sença de filamentos micelianos delgados e sinuosos, feitos de artí- culos muito curtos, delimitados por septos bem visíveis.

CULTURAS

Colhemos e semeamos, nos meios de prova maltosado e glico- sado, cabelos, unhas e escamas das lesões da pele glabra.

Quanto aos cabelos, tivemos o cuidado de semear, em primeiro lugar, os longos, aparentemente normais, que se dispunham em pe- quenos feixes entre as cicatrizes do couro cabeludo. Desses cabelos de comprimento normal foram utilizados vinte para as sementeiras, sendo que, deles, quatorze mostraram-se inférteis, os seis restantes deram culturas de *Trichophyton violaceum* das mais típicas. Os outros cabelos, isto é, os quebrados à saída do folículo, e que descre- vemos com a aparência de pontos pretos encastoados no óstio foli-

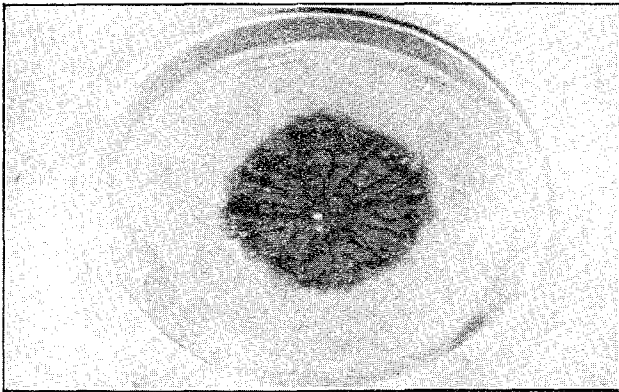


Fig. n.º 7

Cultura de *T. violaceum* de 1 mês e 25 dias, em meio glicosado.

cular, esses deram todos como os últimos, culturas do mesmo cogu- melo. As feitas com material de unha, embora tivessemos multi- plicado as sementeiras, resultaram todas negativas. Os numerosos pontos semeados só deram contaminação. Quanto às escamas das lesões da pele glabra, muito de propósito, nos valem para cultura de material tirado das diversas regiões atacadas, conseguindo, com fragmentos de escamas e de qualquer dessas regiões, resultado posi- tivo, sendo sempre o *T. violaceum* o cogumelo encontrado. (Fig. n.º 7).

Culturas em lâmina — Algumas das culturas obtidas foram repicadas em meio glicosado, disposto sobre lâminas e tratadas

ulteriormente conforme o método Rivalier e Seydel. O crescimento dessas culturas é muito lento. Examinadas ao microscópio, quando tinham alcançado cerca de 25 dias de semeadura, mostravam somente filamentos micelianos estéreis, dispostos em direção radiada, todos muito semelhantes uns aos outros e praticamente de igual espessura. Em sua maioria esses filamentos apareciam pouco septados; contudo alguns eram, pelo contrário, constituídos de numerosos artículos bastante curtos. Os filamentos dicotomisam-se frequentemente. Nas nossas lâminas são pouco numerosos os ciamidosporos. Não vimos nenhuma espécie de frutificação em qualquer das culturas.

EXAME HISTOLÓGICO DAS LESÕES DO COURO CABELUDO

Foi feita uma biópsia do couro cabeludo, sobre lesão típica. Lâminas coradas pela hematoxilina eosina mostraram as seguintes alterações histológicas:

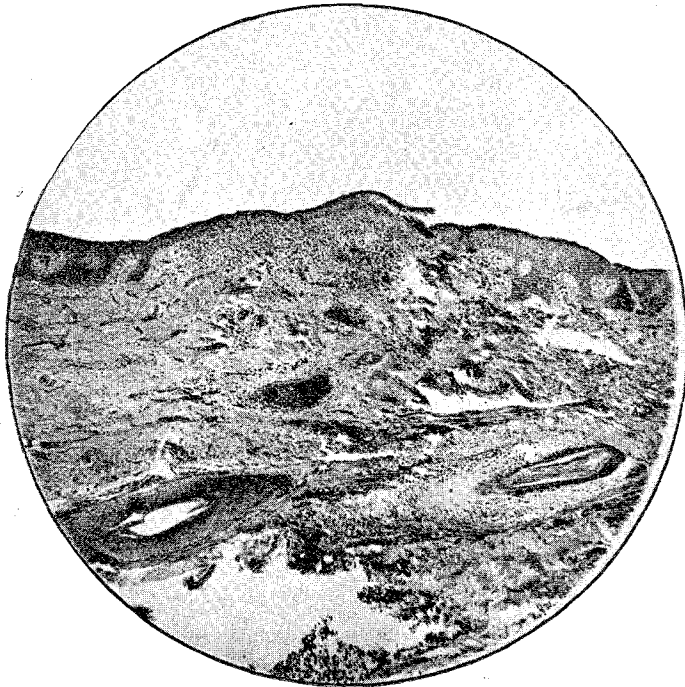


Fig. n.º 8

Córta histológica do couro cabeludo da paciente, mostrando as alterações epidérmicas e, a mais, no quadrante inferior direito, um folículo centrado por um fragmento de cabelo parasitado --

Aumento: 50 x

1) *Na epiderme* — notam-se, em certos pontos, hiperqueratose e acantose, associada ou não com gráu leve de edema intercelular e infiltração linfocitária, havendo também alguns polinucleares em número muito escasso; nas zonas de hiperqueratose a camada córnea mostra acentuada exfoliação.

Em pontos outros do córte, percebe-se notavel adelgaçamento da epiderme, (fig. n.º 8) resultante da diminuição global das suas camadas, mais especialmente, porem, do corpo mucoso de Malpighi.

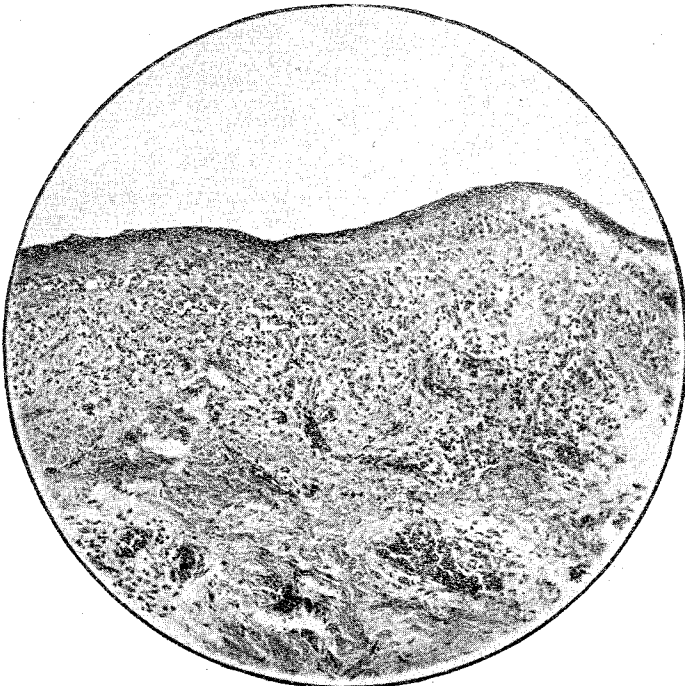


Fig. n.º 9

Córte histológico do couro cabeludo da paciente, mostrando as alterações da epiderme e do derma. — Aumento: 150 x

Ao nível dessa alteração, a epiderme, reduzida a uma fita estreita, tem seu limite com o corpo papilar sem a ondulação normal das papilas, mas representado só por uma linha quasi uniformemente horizontal.

2) *No derma*, as lesões mais intensas correspondem às zonas subjacentes à epiderme adelgada e atrofiada. Vê-se nele (fig. n.º 9) o corpo papilar desprovido das cristas papilares normais e os feixes conjuntivos um pouco separados por imbibição serosa

inter-fascicular; há sobretudo grande número de células monocitárias.

Não longe desse foco de imbibição serosa e de infiltração celular, mas em séde pouco mais profunda, correspondendo ao tecido do derma propriamente dito, é de se notar a presença de um folículo piloso cortado em sentido longitudinal em certa extensão (fig. n.º 8 e fig. n.º 10 em maior aumento). Esse folículo mostra no centro um fragmento de cabelo recheado de filamentos micelianos esporu-



Fig. n.º 10

Córte histológico do couro cabeludo da paciente. — Fragmento de cabelo intradérmico, parasitado pelo *T. violaceum*.

Aumento: 130 x.

lados, com séde absolutamente endotrix. As camadas epidérmicas do folículo mostram claramente sinais de edema intercelular e alguma infiltração linfocitária. Esta última percebe-se também, porem em gráu muito menor, nas imediações do folículo, particularmente em torno dos vasos. Em outro setor do corte histológico há, além de outros, mais um folículo cujo cabelo parasitado chama atenção por uma particularidade de sua disposição. Esse fragmento não é mais ou menos retilíneo como os demais, mas disposto em linha

quebrada, em zig-zag (fig. n.º 11 e 12). Tal disposição, já observada e descrita por Sabouraud¹, é própria dos cabelos parasitados pelos tricofitons endotrices e é devida às seguintes circunstâncias: o cabelo, amolecido pelo forte parasitismo endotrix e ao mesmo tempo impedido de prolongar-se, em seu natural crescimento, para o lado do óstio do folículo, devido à resistência que

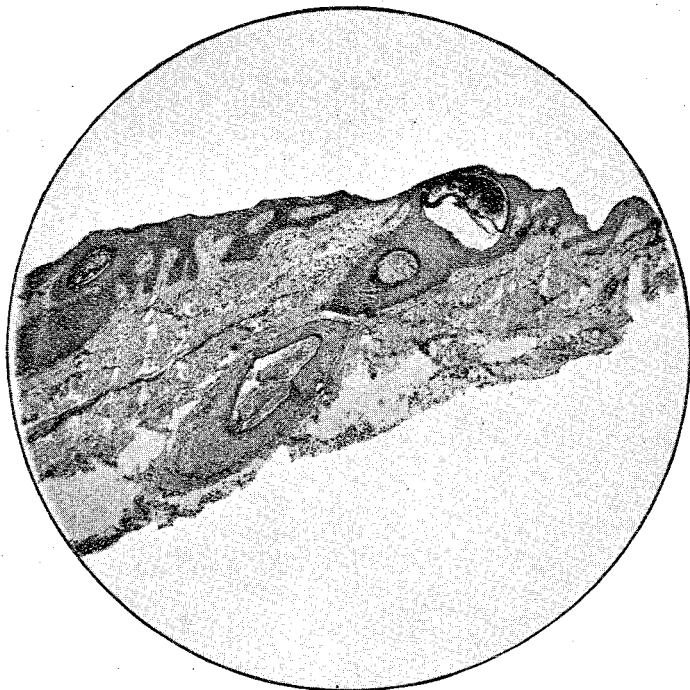


Fig. n.º 11

Córte histológico do couro cabeludo da paciente. — Folículo contendo um cabelo entortilhado, parasitado pelo *T. violaceum* —
Aumento: 50 x.

sobre ele exercem as escamas da superfície do couro cabeludo, entortilha-se sob ou dentro dessas escamas e mesmo no interior do folículo, tomando o aspecto de linha quebrada em zig-zag, ou de letras como S ou Z. Foi um desses aspectos que surpreendemos no ponto do córte histológico a que nos referimos.

Para terminar a descrição histológica do córte, temos ainda que notar a presença, em quasi toda a extensão do derma, de uma leve infiltração celular ao redor dos vasos, sendo que muitos destes se mostram dilatados e ingurgitados de sangue.

Inoculação experimental — Dois cobaios foram inoculados da seguinte maneira: procedemos, em primeiro lugar, à raspagem dos pelos da nuca; a área assim tonsurada foi em seguida levemente traumatizada por meio de fricção com papel de lixa bem fino; por último abrimos com a ponta de um bisturi pequenas lojas intra-epidérmicas nas quais enxertámos fragmentos de cabelos seguramente parasitados que tinham sido previamente retirados do couro cabeludo da paciente. Após sete dias, notámos que os pontos enxertados estavam assinalados por uma pequena elevação lenticular,



Fig. n.º 12

Córte histológico do couro cabeludo da paciente. — Parte do cabelo parasitado da figura precedente, em maior ampliação. —
Aumento: 180 x.

recoberta de finas escamas branco-cinzentas. No 13º dia, dois dos pontos inoculados apresentavam uma crosta amarelo-pardacenta, seca, de dimensões de grão de ervilha grande. Um feixe de pelos acha-se aglutinado na espessura das crostas. Retirada com pinça uma destas, aparece a descoberto uma erosão plana e rósea. Os pelos foram separados cuidadosamente da massa crostosa e tratados, alguns em solução de potassa a 30% e consecutivo aquecimento, outros clarificados em cloral-latofenol. A maior parte estava livre

de parasitos. Em alguns, porem, viam-se filamentos micelianos esporulados, com séde estritamente endotrix.

CONSIDERAÇÕES GERAIS

O caso clínico que acima referimos oferece algumas particularidades dignas de nota, que demonstram mais uma vez como o parasito responsavel pela sua etiologia, o *Trichophyton violaceum* — ocupa entre os cogumelos das tinhas, e mais especialmente entre os tricofitons, um lugar a parte. Tambem neste caso, seu comportamento afasta-se do que, em geral, ele tem na maioria dos casos pelos quais é responsavel, e sobretudo do dos outros tricofitons.

Não é sem razão que Sabouraud considera-o dos cogumelos mais interessantes da flóra dermatofítica, achando que o conjunto das manifestações mórbidas por ele provocadas lhe conferem “*uma personalidade verdadeiramente singular*”². Por ser, dentre os dermatofitos, dos que mais frequentemente se encontram em São Paulo, achamos não de todo inutil relembrar os dados essenciaes e mais comuns a seu respeito, para melhor podermos destacar as particularidades observadas no caso que estamos descrevendo. Sua descoberta foi feita em 1892 por Sabouraud. Ele o isolou de uma tricofícia cutânea em homem vindo de Sudan³, definindo seu aspecto cultural de modo inconfundivel, como uma cultura acuminada, de côr violeta lilás, cuja superfície dorsal preta mostra profundas incisões. Relativamente raro na Alemanha, pouco frequente na França, na Bélgica e na Inglaterra, sua frequência ganha enorme vulto na Polônia, na Rumânia, no sul da Rússia até o mar Negro, na Ásia Menor, na Itália e, de um modo geral, na bacia do Mediterrâneo.

Sua disseminação na Itália foi cuidadosamente estudada pelos pesquisadores desse país. Disso dá-nos idéia a estatística de Chieffi, citada por C. Bruhns e A. Alexander⁴. O *Trichophyton violaceum*, comparado com os outros dermatofitos, estaria na seguinte proporção:

Em Parma, segundo diversas estatísticas	83%	61,5%	e	36,0%
Em Bologna	44%			
” Modena	50%			
” Pávia	48%			
” Nápoles	87%			
” Veneza	50%			
” Turim	41%			
” Milão	35%			
” Roma	47%			

Em Sassari	43%
" Florença	7%
" Gênova	2%

Na Índia, na Escola de Medicina tropical de Calcutta, Dey e Maplestone⁵ estudaram durante três anos a flóra micológica responsável pelos casos de tinhas do couro cabeludo; puderam verificar que dos 53 casos observados, 33 eram causados pelo *Microsporum Audouini* e os 20 restantes pelo *T. violaceum*. Observação análoga, em que esse cogumelo figura como único responsável dos casos de tricofícia de uma região é a feita em 1909 por S. Nicolau na Rumânia⁶. Harry P. Jacobson⁷ refere ser o *Endothrix violaceum* relativamente comun nos Estados Unidos, mais frequente aí, segundo Dodge⁸, entre os imigrantes e seus filhos.

Na América do Sul, a presença deste cogumelo já foi assinalada em 1909 por Uriburu, que sobre um total de 35 tonsurantes tricofíticas observadas na Argentina, constatou 31 vezes o *Trichophyton violaceum* (1).

Mais recentemente Pablo Negroni,⁹ estudando material da Cadeira de Clínica Dermosifilográfica de Buenos Aires e dos Serviços do Dr. Seminario, J. Pessano e de la Barrera encontrou, sobre 157 casos de micoses diversas, somente 6 casos devidos ao *T. violaceum*, o que dá uma porcentagem de 3,82%. No Uruguai, R. V. Talice e J. E. Mackinnon¹⁰ sobre 80 casos de dermatomicoses, dos quais 20 devidos aos tricofitons, verificaram a existência do tricofiton de cultura violeta só em um desses casos, portanto em 1,25% do total das dermatomicoses por eles estudadas.

A. Lindenberg¹¹ foi o primeiro a assinalar a presença do *T. violaceum* em S. Paulo. Nessa mesma ocasião, E. Rabello¹² comunicou ter isolado, de duas creanças do Pará, um cogumelo que, a princípio, classificou como *T. violaceum*, mas que, posteriormente, ele mesmo identificou como sendo o *T. acuminatum*.

Aquí entre nós, em S. Paulo, a porcentagem de frequência do *T. violaceum* é sem dúvida muito alta. Abílio Martins de Castro em trabalho publicado em 1938,¹³ oferece-nos uma estatística em que o *T. violaceum* e seu satélite, o *glabrum* figuram como responsáveis da etiologia de 29 e 5 casos respectivamente, sobre um total de 230 casos de epidermomicoses diversas. Desse mesmo autor conhecemos dados estatísticos mais recentes e não ainda publicados e que dizem respeito a um número global de 564 casos de epidermomicoses.

Há nessa nova estatística 57 casos de *T. violaceum* e 20 de *T. glabrum*, o que eleva a porcentagem dos casos de que os dois cogumelos são responsáveis a 13,6%.

Nossos estudos sobre as tinhas, que vêm sendo realizados há mais de cinco anos, deram-nos a oportunidade de observar 238 casos de epidermomicoses diversas causadas pelas seguintes espécies:

	casos
<i>Microsporum felineum</i>	66
<i>Microsporum lanosum</i>	2
<i>Trichophyton violaceum</i>	61
<i>Trichophyton glabrum</i>	5
<i>Trichophyton acuminatum</i>	41
<i>Trichophyton cerebriforme</i>	2
<i>Trich. gypseum asteroides</i>	2
<i>Trichophyton rosaceum</i>	1
<i>Achorion Schoenleinií</i>	11
<i>Achorion gypseum</i>	4
<i>Achorion gallinae</i>	1
<i>Epidermophyton interdigitale</i> Priestley	23
<i>Epidermophyton rubrum</i>	15
<i>Epidermophyton inguinale</i>	4

238

Deste quadro estatístico ressalta antes de tudo ser grande o número de espécies que tomam parte na etiologia das epidermomicoses que se observam entre nós. No que diz respeito ao *T. violaceum* e ao seu satélite o *glabrum*, vemos que ambos em conjunto são responsáveis por 27,7% da totalidade dos casos de epidermomicoses que estudamos. Tirando a média das porcentagens das duas estatísticas, cremos poder dizer que é de cerca 20,6% a cifra que representa o grau de infestação realizada por esses dois cogumelos aqui em S. Paulo.

Consideramos, como se vê, o *T. violaceum* e o *glabrum* em conjunto, porque não podemos nos furtar á impressão de não serem duas espécies bem separadas por características tais que dêem a cada uma personalidade indiscutível. Catanei¹⁴, em trabalho do Instituto Pasteur da Algéria, considera como fundamentada a diferenciação específica entre os dermatófitos citados, por ter obtido retrocultura pigmentada de uma inoculação feita em *Macacus inuus* com cultura de *T. violaceum* já despigmentada, absolutamente impossível de se distinguir de certas cêpas de *T. glabrum*. Vêmos, porem, que, entre outros autores, C. Bruhns e A. Alexander⁴ não

reconhecem diferença substancial entre as diversas variantes de *T. violaceum*, e consideram essas modificações de tipo — a violeta, a escarlate, a lisa amarela (*glabrum*) e a branca (*penugenta*) como consequência de ocasionais diferenças de meio de cultura e ocasional crescimento de filamentos micelianos diversamente “orientados”; Gavazzeni¹⁵ refere também ter obtido, ao lado de 2 variedades distintas — a hiperpigmentada, opaca e uma mais pálida com transparência de ametista — uma terceira, descorada, em tudo igual, seja pela fôrma, seja pelo aspecto (com exceção do crescimento que é mais lento) às culturas comuns de *T. violaceum*; N. C. Dey e P. A. Mapleston⁵ obtiveram mais de uma vez, de uma mesma sementeira, colônias mixtas violetas e cremes, parecendo-lhes por isso não se dever considerar nesse caso a côr como um caráter específico. Nós mesmos observamos um fato que abalou nossa crença sobre a diversidade de espécie dos dois cogumelos. Estudando uma epidemia familiar de tricofícia do couro cabeludo, verificamos que, de 6 irmãos atacados de maneira absolutamente igual e infectados no mesmo ambiente, 5 nos deram cultura de *T. glabrum* desde a primeira sementeira, e 1 forneceu-nos, pelo contrário, uma cêpa de *T. violaceum* tingido de magnífica côr violeta misturada de escarlate. Parece-me que o menos que se pôde dizer da não identidade dos dois cogumelos é que ela é bastante incerta.

Diversos autores têm insistido na predominante frequência das tinhas por *T. violaceum* e *glabrum* entre as creanças israelitas. Esse fato vale sobretudo para os paizes situados na bacia do mediterrâneo e encontra sua explicação no grande número de colônias israelitas que aí se acham e na circunstância de terem estas, escolas próprias, só frequentadas por creanças judias¹⁶ o que sem dúvida favorece a disseminação de determinado cogumelo entre indivíduos de uma só raça. No entanto aquí entre nós, por não haver uma tal separação mas, pelo contrário, uma grande promiscuidade entre creanças das mais variadas origens, o mesmo não se dá. Em nossa estatística, sobre 66 casos, somente 3 se referem a israelitas.

No que diz respeito à frequência da tinha de cultura violeta em relação com a idade, vemos na nossa observação a seguinte distribuição de casos:

	casos
de 2 a 5 anos de idade	18
de 6 a 10 anos de idade	30
de 11 a 15 anos de idade	11
de 16 a 20 anos de idade	2

de 21 a 25 anos de idade	3
de 26 a 30 anos de idade	1
de 31 a 35 anos de idade	0
de 36 a 40 anos de idade	1

Deve-se, porem, notar que, *com exceção de 1 caso, do qual cuida particularmente este trabalho*, todos os demais casos acima da idade de 16 anos, não apresentam lesões do couro cabeludo mas unicamente da pele glabra.

Em relação à séde das lesões, nossos 66 doentes assim se distribuem:

	casos
Couro cabeludo	56
Pele glabra	5
Couro cabeludo + pele glabra	4
Couro cabeludo + pele glabra + unhas	1

As lesões determinadas pelo *T. violaceum* são conhecidas como sendo das mais variadas. As mais frequentes são as do couro cabeludo. O cabelo é invadido e recheado de filamentos micelianos esporulados de séde absolutamente endotrix e torna-se, porisso, fragil e quebradiço, partindo-se ao nível do óstio folicular ou poucos milímetros acima.

Cream-se assim sobre o couro cabeludo placas mais ou menos tonsuradas, das dimensões de uma lentilha, de uma moeda e por confluência ainda maiores. A área, recoberta de escamas acinzentadas, apresenta um certo número de cabelos de comprimento normal. A um exame mais detido, percebem-se cabelos quebrados a cerca de 2 milímetros da abertura do fólculo e orientados em sentidos variados; outras vezes, quebrados logo ao nível do óstio folicular, tomam o aspecto de pontos, ou melhor, de grânulos de um preto retinto. Muitas vezes a inspecção mais cuidadosa não deixa perceber a existência de cabelos quebrados; estes, porem, podem ser descobertos debaixo ou entre as escamas e mostram-se, então, como fragmentos curvos, sinuosos, torcidos em S ou Z. De modo geral, o aspecto clínico da tinha do couro cabeludo, devida ao *T. violaceum*, é indiferençavel do que costumamos ver nos casos provocados por um outro endotrix muito comum entre nós — o *Trichophyton acuminatum*. Alem dessas lesões que representam a maior parte do nosso material, é sabido que o mesmo cogumelo determina numerosas outras e das mais variadas. Assim é que se assinalam,

no próprio couro cabeludo, lesões semelhantes a querions; nas unhas, alterações onicomycóticas; na pele glabra, círculos e grinaldas de herpes com caráter mais ou menos inflamatório. Mguebrow¹⁷ descreveu casos em que o *T. violaceum* determinára na pele glabra um quadro de epidermomicose extensa e mesmo quasi generalizada, de andamento crônico. Esses casos assemelham-se ao que motiva este artigo, como frisaremos mais adiante. Truffi, Maiocchi, Mazza¹⁸ consideram o *T. violaceum* como a espécie que mais frequentemente se isola do chamado granuloma de Maiocchi. Observações de trico-fícia, devida ao violaceum, propagada aos gânglios linfáticos e aos ossos foram referidas por A. Pelévine e N. Tchernogouboff¹⁹. No estudo desses casos os AA. bem souberam compreender e fazer ressaltar as condições particulares que concorreram para a produção de quadros clínicos tão excepcionais. Esses doentes, todos pertencentes a uma mesma família, reuniam, como comentou Sabouraud²⁰, as condições extrínsecas quasi experimentais, necessárias para crear casos atípicos. Concorria aí sobretudo o estado de miséria auxiliada pela vida em promiscuidade — pelo que Sabouraud chamou de *estabulação*, isto é, "a vida dos homens semelhante a dos animais no estábulo". As lesões dérmicas e ósseas seriam devidas à penetração, na profundidade do tecido, do cabelo parasitado em consequência da usura da parede do folículo pilo sebáceo. As lesões dos gânglios resultariam talvez da propagação do micelium pelas fendas linfáticas²⁰.

Caso de algum modo análogo foi referido por Artom²¹. Tratava-se de uma mulher de 40 anos de idade, atacada de uma descamação lamelosa do couro cabeludo, seguida de aparecimento de uma eritrodermia e da formação de elementos neoplasiformes com séde nas regiões auriculares, na cabeça, na região mamilar e na palma da mão esquerda. Tanto o líquido obtido de alguns desses nódulos como fragmentos do tecido granulomatoso e mesmo o *próprio sangue circulante* determinaram em diferentes meios o crescimento de um Trichophyton de cultura faviforme. Em algumas das cêpas aparecia evidente mas limitado só a alguns pontos da vegetação uma coloração levemente rósea ou violácea. O A. crê poder identificar esse cogumelo como sendo o *T. violaceum*. Esse caso de Artom acrescenta um fato novo no que diz respeito à biologia dos Trichophytos. A disseminação desses cogumelos pela via linfática parece ter ficado bem demonstrada pela observação de Pelévine e Tchernogouboff; a observação de Artom nos induz a crer que, em certas

circunstâncias, o transporte do parasito possa ser realizado por via sanguínea.

Finalmente, para completar a gama tão proteiforme de suas lesões, devemos dizer ainda que sendo provavel, como quer Sabouraud, a identidade do *Achorion violaceum* de Bruno Bloch com o *Trichophyton violaceum*, é de se atribuir a este último tambem a capacidade de determinar a formação de verdadeiros *godets* do tipo fávico. Assim sendo, "o parasito de cultura violeta... poderia fazer todas as lesões dermatofíticas conhecidas, enquanto que todos os outros dermatófitos não são capazes de determinar senão algumas delas na produção das quais eles parecem ter-se especializado"².

O caso que descrevemos, mostra algumas particularidades que o enfileiram entre as observações de exceção e o aproximam bastante dos relatados por Mguebrow.

A *idade da paciente* já constitue um primeiro fato digno de nota, sabido como é que as tonsurantes tricofíticas saram expontaneamente por ocasião da puberdade. Aquí no entanto, as lesões do couro cabeludo acham-se ainda em plena atividade, como o demonstraram os exames microscópicos e culturais dos cabelos. A maioria dos casos de Mguebrow¹⁷ e 3 dos de Mme. Pelévine e N. Tchernogouboff¹⁹ tambem são portadores de lesões tricofíticas do couro cabeludo, tratando-se aí egualmente de adultos que já transpuzeram a puberdade. Sabouraud² cita uma sua observação de tinha do couro cabeludo em mulher russa de 43 anos de idade. O caso relatado por M. Artom²¹ refere-se a uma senhora de idade de 48 anos.

Em todos estes casos o cogumelo cultivado foi o *T. violaceum*.

A raridade das lesões de tinha em couro cabeludo de adulto é afirmada por todos os autores. Maschkilleisson²², revendo a literatura mundial com exclusão da do Japão, conseguiu reunir ao todo 606 casos de tricofícia e microsporia do couro cabeludo em adultos, de idade acima de 16 anos. Ele mesmo refere ter observado em Moscou e Woronesch 53 casos em individuos maiores de 18 anos. As lesões que descreve são muito discretas, reduzindo-se à presença de insignificante descamação pitiriásica esbranquiçada acompanhada de pontos pretos à maneira de comedons. Só fez culturas em 24 casos obtendo 4 vezes o *Trichophyton gypseum*, 1 vez o *Trichophyton crateriforme* e 18 vezes o *Trichophyton violaceum*. Este cogumelo estava, pois, presente em 75% dos casos cultivados por esse autor. Pelo que se vê, muito mais frequentemente do que todos

os outros cogumelos do mesmo gênero, é ele capaz de persistir longamente em uma região que de regra nos adultos é respeitada pelos tricofítos. Essa é uma das não menores singularidades do comportamento desse parasito.

Outro fato digno de nota no nosso caso é a existência no couro cabeludo de numerosas pequenas cicatrizes levemente deprimidas, de côr rósea ou então branca lustrosa. São o *reliquat* de lesões inflamatórias profundas, de andamento bastante crônico, como se deduz do exame histológico.

Os tricofítos, a não ser nos casos de lesões agudas do tipo dos querions, não costumam deixar cicatrizes e muito menos lesões cicatriciais tão numerosas e confluentes como testemunha a fig. n.º 1. Também o *T. violaceum* não as determina senão em número muito limitado de seus casos. Em nosso meio, em que costumamos ver com relativa frequência tonsurantes devidas a esse parasito, só no caso que agora relatamos é que constatamos a presença de cicatrizes.

Sabouraud² também se refere a cicatrículas definitivas em casos antigos. Igual referência encontramos feita por Pollacci e Nannizzi¹⁸ e por G. Lewis e Mary Hopper²³. A Catanei²⁴ contudo, observou na Argélia mais frequentemente a presença de pequenas cicatrizes glabras; notou-as aí em 32% dos casos de tonsurantes devidas ao *T. violaceum* e *T. glabrum*, enquanto que só as observou em 2 casos, sobre 31 tonsurantes causadas por outros tricofítos. Desses 2 casos, um era devido ao *T. crateriforme* e o outro *T. acuminatum*; em ambos, as cicatrizes eram pouco numerosas. Devemos lembrar ainda que Castellani, estudando vários tipos de alopecias observadas nos trópicos, descreveu uma forma especial de origem parasitária que chamou de "tinea decalvans". Dela isolou um cogumelo endotrix muito semelhante ao *T. violaceum* e o denominou de *T. violaceum* var. *decalvans*. Essas tinham cicatriciais parecem ser muito comuns entre os habitantes da China meridional e são conhecidas sob o nome popular de "la li tou" ou "la li". Ota²⁵ observou esse assim chamado "la li tou" ou "la li" muito espalhado nas províncias de Hopei, Kiangsi, Anhoe, Chakiang, de um modo geral no sul do rio Yantse.

Estudou 6 casos, tendo conseguido obter culturas de 3 deles. De 2 destes, o cogumelo isolado foi o *Achorion Schonleinii*, tratando-se pois, de casos de favus. Do 3.º doente obteve, no entanto, cultura de *T. violaceum* var. *decalvans*, Castellani. Contudo, Ota

acha que esse cogumelo, sob o ponto de vista cultural, é praticamente idêntico ao *T. violaceum*, Bodin, das zonas temperadas, mas conclue “as lesões a que dá origem são tão profundamente diferentes, que, pelo menos biologicamente, deve ser considerado como uma outra variedade (var. *decalvans*, Castellani)”.

Por último e igualmente importante, é a verificação, no nosso caso, da grande extensão que alcançaram as lesões da pele glabra, alastrando-se por quasi toda a superfície do tegumento cutâneo. Esse alastramento excessivo e seu decurso muito lento, acentuadamente crônico, avisinham nesse particular nossa observação da dos autores russos já citados (17, 19). Contudo é de se notar que, em suas descrições de lesões da pele glabra, Mguebrow prefere ressaltar a existencia de *lesões tricofíticas atípicas* constituídas de uma mistura de elementos eritematosos, eritêmato-escamosos, vesiculosos e papulo-vesiculosos que por confluência produzem lesões de dimensões notáveis em que a pele é eritematosa, levemente infiltrada, aquí e acolá descamante. O mesmo se pôde dizer até certo ponto do aspecto descrito por Pelévine e Tchernogouboff. Estes AA. notam que a pele é por toda parte seca, eritematosa, espessada, infiltrada, em algumas regiões com leve descamação e em outras, como no tronco e nos membros, recoberta de uma forte camada de escamas brancas. Em nosso caso as lesões da pele glabra por uma bôa parte muito se assemelham às acima referidas. Entretanto, além dessas grandes placas em que há uma confluência mais ou menos desordenada de lesões elementares polimorfas, além de bôrdas irregulares, geográficas e de aspecto mais ou menos eczematiforme, há em numerosos outros pontos, lesões tipicamente tricofíticas, em que o eritema, as papulas, as papulo-vesículas e as papulo-crostras se ordenam em grinaldas e em segmentos de círculo.

A grande extensão das lesões é para nós um fato absolutamente excepcional. Aquí em nosso ambiente não sabemos da existencia de outro caso análogo, bem entendido, de lesões da pele glabra desse tipo, tão extensas e provocadas pelo *T. violaceum*. Invasões extensas de epidermomomicose da pele glabra não são raras em São Paulo, mas são quasi sem exceção o resultado de uma infestação epidérmica pelo *Epidermophyton rubrum*, idênticas ao caso descrito por J. Payenneville e E. Rivalier²⁶.

A existencia de lesões ungueais, que ao microscópio revelaram filamentos micelianos cujo cultivo, no entanto, não nos foi possível conseguir, deve ter contribuído a disseminar o parasito, pois que,

de conformidade com a observação de Pelévine e Tchernogouboff, cremos acertado ser especialmente a onicofícia que “pela multiplicidade dos contactos (grattage) e pela ausência de reação de um tecido que deixa o parasito crescer em liberdade, realiza as melhores condições para favorecer o desenvolvimento de lesões visinhas ou afastadas e diversas”¹⁹.

RESUMO

O autor descreve pormenorizadamente o caso de uma mulher de 21 anos de idade que apresenta uma dermatose eritêmato-escamosa bastante difusa da pele glabra e, ao mesmo tempo, lesões do couro cabeludo, de todas as unhas das mãos e de quasi todas as unhas dos pés. As primeiras alterações ao nível do couro cabeludo, da pele glabra e dos faneros remontam há mais de 17 anos, tendo a moléstia, durante todo esse tempo, se alastrado de maneira lenta mas segura.

As lesões da pele glabra (figs. ns. 3, 4, 5 e 6) acham-se espalhadas por quasi todo o corpo, com exceção de poucas zonas, como a da superfície anterior do tronco. De modo geral, têm o aspecto de pequenas placas arredondadas ou irregulares, algumas mesmo figuradas, desenhando estas segmentos de círculo que se entrelaçam e se confundem. São de tom róseo avermelhado, um pouco sobreelevadas porque parcialmente recobertas de escamas amarelas esbranquiçadas pouco aderentes.

No couro cabeludo (fig. n.º 1) há em sua parte alta e central, uma larga área acentuadamente desnudada. Os poucos cabelos conservados têm o comprimento e aspecto normais e na maioria dispõem-se em pequenos feixes irregularmente distribuídos pela superfície deglabrada. Esta, que resulta de confluência de inúmeras pequenas cicatrizes deprimidas róseas ou brancas lustrosas, deixa perceber aquí e acolá pequenos pontos bastante pretos que nada mais são do que folículos em cujo centro há um fragmento de cabelo retorcido, entortilhado à maneira de um prego rebitado.

As unhas alteradas (fig. n. 2) mostram modificações em seus 2/3 distais; são espessadas, opacas, brancas acinzentadas, levemente amareladas. Sua superfície externa é irregular, rugosa, deformada por numerosas saliências e sulcos, ou, então, deprimida, excavada, formando uma concavidade de fundo áspero.

O exame microscópico das escamas das lesões da pele glabra e de fragmentos de unha mostrou a presença de filamentos míce-

lianos de espessura não uniforme e septados em artículos curtos de fôrma quadrangular ou ovalar. Os fragmentos de cabelos intra-foliculares que se encastoavam nos óstios como pontos pretos, são ricamente parasitados. A invasão deles é unicamente interna e realizada por numerosíssimos filamentos esporulados, com aspecto de rosário com artículos arredondados. Toda a espessura do fragmento do cabelo, no interior da cutícula, é ocupada por esse amontoado de elementos redondos.

As culturas, nos meios de prova maltosado e glicosado, feitas com sementeira de partículas de cabelo e de escama, estas retiradas das mais diversas regiões, resultaram positivas, sendo sempre obtido um cogumelo que pelo seu inconfundível aspecto macroscópico e pelo estudo micológico, feito em culturas sobre lâmina, foi verificado ser o *Trichophyton violaceum* (fig. n.º 7). Córtes histológicas, obtidos por meio de biópsia das lesões do couro cabeludo, permitiram observar as alterações do tecido cutâneo na proximidade dos cabelos parasitados e verificar a posição muito particular destes no interior do folículo e que é proprio dos tricofitons endotrices (figs. ns. 8, 9, 10, 11 e 12).

Em longas considerações gerais, o autor relembra e demonstra, com estatísticas de outros e próprias, a importância que tem o *Trichophyton violaceum* como parasito das tinhas devido sobretudo à sua vasta distribuição geográfica e, aqui entre nós, à sua extensa frequência; refere-se às suas lesões clínicas mais comuns, mas se detem particularmente no que é uma das características mais extraordinárias do *T. violaceum*, isto é, o notável polimorfismo das manifestações clínicas que ele pode determinar, razão porque vem a ocupar entre os cogumelos das tinhas, e especialmente entre os tricofitons, um lugar à parte. O autor frisa então as particularidades apresentadas pelo caso clínico que descreve e que fazem dele uma observação excepcional, semelhante às dos casos relatados por Mguebrow. Dessas particularidades destaca e comenta pormenorizadamente a que diz respeito à idade da paciente que, apesar de adulta, apresenta ainda lesões de tinha do couro cabeludo quando, de regra, essa região é poupada pelos tricofitons nessa idade; faz notar, também ao nível do couro cabeludo, a existência de numerosas cicatrizes por lesões que não são da ordem dos querions e que não costumam ser o "reliquat" das tonsurantes devidas a outras espécies micológicas; por último chama a atenção para o alastramento anormal a que atingiram as lesões da pele glabra, que no caso se distribuem a quasi toda a superfície do tegumento cutâneo.

O autor lembra que, aqui entre nós, invasões tão extensas de epidermomicose da pele glabra não são raras mas são quasi que sem exceção o resultado de uma infestação epidérmica pelo *Epidermophyton rubrum*. Este é o primeiro caso nosso em que se encontra o *T. violaceum*. Conclue levantando a hipótese de que a infestação das unhas deve ter contribuído para a disseminação epidérmica das lesões.

SUMMARY

The author describes with detail, the case of a woman 21 years old, presenting a diffuse erythematous-squamous dermatose of the smooth skin, besides lesions on the scalp, all the nails of the hands and almost all the nails of the feet. The first alterations of the scalp, smooth skin and phanera, are more than 17 years old. During all this time the disease spread itself slowly but surely.

The lesions of the smooth skin (figs. 3, 4, 5, 6) are spread almost over the whole body, with exception of a few zones as for instance, the anterior part of the trunk. In a general way, they are small irregular or rounded surfaces, some even figurate sections of circle intertwined among themselves. They are of a reddish hue, slightly elevated on account of being covered by white-yellowish, not very adhering scales.

On the scalp (fig. 1), on its very top, there is a large area markedly denuded. The few remaining hairs have a normal length and aspect and are chiefly united in small faggots irregularly distributed over the depilated surface. This, resulting from the confluence of innumerable small, depressed, rosy or lustrous white scars, presents here and there, small black spots, which are nothing else than follicles with a fragment of hair wrapped in its center like a riveted nail.

The nails (fig. 2) are altered on their distal 2/3; they are thickened, opaque, grayish white, slightly yellow. Their outer surface is irregular, rough, disfigured by many elevations and sulci, or else depressed in a rough bottomed concavity.

The microscopic examination of the scales, smooth skin lesions and fragments of nail, evidences mycelium filaments of irregular thickness septated in small square or oval sections. The intra-follicular fragments of hair, riveted on the follicles like black dots, are richly parasited. They are invaded from within, by many

sporulated filaments, with rounded articles like a rosary. The entire thickness of the hair, inside the cuticle is filled with such filaments.

The cultures in media containing maltose and glicose where particles of hair and scales were sowed, were all positive. A fungus was obtained and by its characteristic macroscopic aspect and mycological studies of slide culture, was classified as *Trichophyton violaceum* (fig. 7).

Histological preparations from biopsies of scalp lesions evidenced the alterations of the cutaneous tissue near the parasited hairs and the particular disposition of those in the interior of the follicle which characterises the endothrix trichophyton. (fig. 8, 9, 10, 11, 12).

In extensive general considerations, the author refers with statistics from others and his own, to the importance of *Trichophyton violaceum* as parasite of scab, specially on account of its vast geographic distribution and its frequency in our country; he describes its more frequent lesions, specially that which is one of the most characteristic of *T. violaceum*, i.e., the remarkable polymorphism of its clinical manifestations. For this reason, it occupies a very important position among the scab producing fungi, chiefly in the genus *Trichophyton*.

The author insits upon the details of the case now presented and which render it an excepcional observation, similar to the cases described by Mguebrow. Among these details he particularly refers to the patient's age, who though an adult, presents ring-Worm lesions on the scalp, which is not the rule; also he points out the existence, on the scalp, of numerous scars determined by lesions which are not of the kerion order, and wich are not as a rule, the reliquat of depilating diseases due to other mycologic species. Finally he notes the abnormal spreading of the smooth skin lesions, which in this case are distributed to almost the whole surface of the body.

The author states that among us, such extensive invasions of smooth skin epidermomycosis is not rare, but as a rule are caused by an epidermic infestation through *Epidermophyton rubrum*. This is our first case in which *T. violaceum* is found. In conclusion he admits that the infestation of the nails might have contributed to the epidermic dissemination of the lesions.

BIBLIOGRAFIA

- 1 — SABOURAUD, R. — 1910 Les maladies cryptogamiques — Les teignes.
- 2 — SABOURAUD, R. — 1928 — II Memoire — Ann. de Derm. et de Syph. — VI Serie — Tomo IX - pg. 769.
- 3 — SABOURAUD, R. — 1892, Contribution à l'étude de la Trichophytie humaine — Ann. de Derm. et de Syph.
- 4 — C. BRUHNS und A. ALEXANDER — 1928, Allgemeine Mykologie — in Dermatomykosen B. XI — Handbuch der Haut — und Geschlechtskrank. — Herausgeg. von J. Jadassohn.
- 5 — DEY, N. C. and P. A. MAPLESTONE — 1935, Ringworm of the scalp in India — The Indian Medical Gazette — Vol. LXX, n.º 10 — October.
- 6 — NICOLAU, S. — 1909, Étude sur la Trichophytie du cuir chevelu en Roumanie (*Trichophyton violaceum*) — Ann. de Derm. 4.^a Serie — T. X. - pg. 609.
- 7 — JACOBSON HARRY, P. — 1932, Fungous Diseases — Charles C. Thomas.
- 8 — DODGE, C. W. — 1935, Medical Mycology — St. Louis — The C. V. Mosby Compay.
- 9 — NEGRONI, P. — 1931, Datos estadísticos sobre 157 casos de micosis estudiadas em Buenos Aires — Revista Argentina de Dermatosifilografia — Tomo XV — Parte I.
- 10 — TALICE, R. V. et J. E. MACKINNON — 1931, Trichophytions parasites de l'Homme en Uruguay — Comptes Rendus de la Societé de Biologie — T. 107 - pg. 1549-50.
- 11 — LINDENBERG, A. — 1908, A trichophycia violacea em S. Paulo — Memoria apresentada ao VI.º Congresso Brasileiro de Medicina e Cirurgia — 1907. Revista Medica de S. Paulo — XI - n.º 8 - pg. 160.
- 12 — RABELLO, E. — 1910, Contribuição ao estudo das Dermatomycoses — Rio de Janeiro — Typ. Ribeiró.
- 13 — CASTRO, ABILIO MARTINS DE — 1928, Tinhas dos animais domesticos em S. Paulo. — Archivos do Instituto Biologico — Vol. I - pg. 201.
- 14 — CATANEI, A. — 1931, Remarques sur la valeur de la distinction spécifique des *Trichophyton violaceum* et glabrum. — C. R. de la Soc. de Biologie — C. VI — T. I. - pag. 80.
- 15 — GAVAZZENI, G. Alessandro — 1924, Le tigne di Bergamo e Provincia. "Giornale Italiano delle malattie veneree e della pelle". — Vol LXV — Ano LIX - pag. 1295.
- 16 — PROCHAZKA KABEL — 1926, Eine durch Trichophyton violaceum hervorgerufene Hausepidemie — Acta Dermato-venereologica — Vol. VII - pg. 47.
- 17 — MGUEBROW, M. G. — 1928, Trichophyties atypiques de la peau glabre dues au *Tr. violaceum* — Ann. de Dermat. — VI Série — T. IX - n.º 9 - pg. 742.
- 18 — POLLACCI, GINO e ARTURO NANNIZZI — 1925, I Miceti patogeni dell'uomo e degli animali — Fascicolo II.
- 19 — PELÉVINE, A. et N. TCHERNOGOUBOFF — 1927, Trichophytie chronique de de la peau et des phanères chez tous les membres d'une même familie. — Ann. de Dermat. — VI série — T. VIII, n.º 7 — pag. 403.

- 20 — SABOURAUD, R. — 1927, Observations concernant le travail précédent de Me. Pelévine et de M. Tchernogouboff. — Ann. de Dermat. VI série — T. VIII — n.º 7 — pg. 420.
- 21 — ARTOM, MARIO — 1938, Imponenti formazioni tumorali profonde da trichophyton in tricofizia universale — Giorn. Ital. di Derm. e Sifilol. — Fascicolo III.
- 22 — MASCHKILLEISSON, L. N. — 1936, Zur Frage ueber Trichophytia superficialis capillitii adutorum — Dermat. Wochenschrift — 102: 765 (Juni).
- 23 — LEWIS, GEORGE M. and MARY E. HOPPER — 1939, An introluction to medical Mycology — The Year Book Publichers, Inc. — Chicago.
- 24 — CATANEI, A. — 1933, Etudes sur les Teignes — Archives de L'Institut Pasteur d'Algérie — T. XI — fasc. 3 — pg. 267-399.
- 25 — OTA, M. — 1922, Brief notes on epidermophyton rubrum, Castellani, 1909 (Trichophyton purpureum, Bang, 1910) and Trichophyton violaceum var. decalvans, Castellani, 1912 with remarks on "Eczema marginatum" (Tinea cruris seu inguinalis) in Japan and "La Li Tou" or "Parasitic Folliculitis" ("Tinea decalvans" pro parte) of Southern China. — Brit. Journ. of Dermatol. and Syphilol. — Vol. 34, pr. 120.
- 26 — PAYENNEVILLE, J. et E. RIVALIER — 1937, Un cas d'épidermophytie exotique. Ann. de Dermat. — 7.e Série — T. VIII — n.º 5 — pg. 378.

MENINGITE AGUDA ENTEROCÓCICA

AUGUSTO DE E. TAUNAY

Biologista do Instituto Adolfo Lutz

LYDIA CALAZANS DE CARVALHO

Técnica de Laboratório do Instituto Adolfo Lutz

Sendo o enterococo um saprofita normal do tubo gastro-intestinal, achámos interessante descrever um caso, no qual foi isolado do líquido céfalo-raquidiano de um doente internado no Hospital de Isolamento "Emílio Ribas".

Em toda literatura nacional por nós consultada, não nos foi possível encontrar referências a meningites, cujo agente responsável fosse o enterococo. Carvalho Lima¹ em 474 exames bacteriológicos do líquido céfalo-raquidiano suspeitos de meningite séptica, praticados no Instituto Bacteriológico de São Paulo, de Janeiro de 1928 a Dezembro de 1931, não refere nenhum caso cujo agente etiológico fosse o enterococo. Revendo os relatórios anuais apresentados pelo Dr. Carvalho Lima, diretor do Instituto Bacteriológico de São Paulo, dos anos de 1932 a 1939, num total de 1.347 exames bacteriológicos do líquido céfalo-raquidiano, encontramos em 1938 um caso, no qual foi isolado um enterococo.

Mesmo na literatura estrangeira consultada, as referências a meningites enterocócicas são raras. R. Kemkes² descreve 2 casos de meningites enterocócicas de curso rápido com êxito letal. Refere-se a 616 exames bacteriológicos do líquido céfalo-raquidiano relatados por Bürgers que encontrou três vezes o enterococo. J. Jacobi & T. Meythaler³ relatam um caso de meningite enterocócica seguida de cura, no qual usou auto-vacinas.

L. Langeron & R. Archer⁴ descrevem um caso de meningite enterocócica onde usaram auto-vacinas e o soro de um irmão do paciente, previamente imunizado, que obteve alta curado.

O nosso caso trata-se do doente S. F., internado no Hospital de Isolamento "Emílio Ribas" em 12-10-1940, com diagnóstico de suspeita de febre tifóide. No mesmo dia foi feita a punção raquidiana e o líquido extraído enviado ao Instituto Adolfo Lutz

para exame bacteriológico e bacterioscópico. Tratava-se de um líquido purulento e o exame direto, após centrifugação, corado pelos métodos de Gram e de Gabbet, foi negativo. Foi feita sementeira nos seguintes meios: agar sangue, agar soro, agar comum, caldo glicosado e meio de Löwenstein, conforme rotina usada no Instituto. Depois de 48 horas de estufa havia ligeira turvação no meio líquido e no agar soro raras colônias pequenas e de cor branca. Feitas as preparações, verificamos tratar-se de um germe Gram-positivo em forma de coco um pouco alongado, formando cadeias curtas em meio líquido. O repique para meios de agar sangue e agar soro resultou negativo, assim como não houve modificação nos anteriormente semeados. Nessa ocasião nos ocorreu fazer um repique também para o meio anaeróbio de Hitsher onde houve crescimento abundante em 24 horas de estufa. Voltando aos meios anteriormente citados, obtivemos crescimento abundante em todos eles, partindo do meio de Hitsher, permitindo o estudo mais detalhado do germe em questão.

Durante este período foram examinados duas vezes novos líquidos céfalo-raquidianos do mesmo doente, resultando as culturas negativas apesar de o líquido ainda permanecer purulento. No dia 17 do mesmo mês, novo material recebido foi semeado, além dos meios de rotina, no meio de Hitsher, obtendo-se cultura positiva, somente no meio de Hitsher de um germe semelhante ao anteriormente isolado.

Como já dissemos, tratava-se de cocos alongados, Gram-positivos, formando cadeias curtas nos meios líquidos, turvando ligeiramente o meio e com depósito grumoso. Nos meios sólidos as colônias eram pequenas, lisas, com aspecto leitoso, sem alterar os meios com sangue. Não liquefaz a gelatina, cresce a $+ 45^{\circ}$ e $+ 10^{\circ}$ de temperatura, resiste ao aquecimento de 60° por meia hora, vegeta em caldo com pH 8.6, caldo mais cloreto de sódio a 6,9%, reduz o azul de metileno na concentração de 0,1%. Fermenta a lactose, dextrose, maltose e dextrina, não fermenta a sacarose e a glicerina, não reduz completamente a esculina.

Verificados todos esses caracteres, identificamos o germe em questão como sendo um enterococo. No dia 19 do mesmo mês procedemos a novo exame do líquido céfalo-raquidiano, líquido este quasi límpido, resultando os exames bacteriológicos negativos. Por gentileza do Dr. José Augusto Arantes, diretor do Hospital de Isolamento "Emílio Ribas", que nos forneceu a ficha clínica do doente

em questão, fomos informados de que este tivera alta após terem empregado soro anti-escarlatinoso por via raquidiãna e intra-muscular. Infelizmente, não nos foi possível obter informações sobre a evolução final nem sobre a causa da localização meningeaana do germe.

É interessante assinalarmos a necessidade que tivemos em passar o germe primeiramente em meio anaeróbico para depois conseguirmos culturas positivas. L. Langeron & R. Archer⁴ referem também o crescimento de um enterococo isolado do líquido céfalo-raquidiano somente em meio anaeróbico de Veillon.

RESUMO

Os AA. descrevem um caso de meningite aguda, cujo responsável foi o enterococo. Chamam a atenção sobre a raridade de tal achado e a necessidade que às vezes existe em se semear o líquido céfalo-raquidiano nos casos de meningites sépticas em meio anaeróbico.

BIBLIOGRAFIA

- 1 — C. LIMA — 1932 — Anais Paul. Med. e Cirurgia, n.º 3, 145-149.
- 2 — R. KEMMES — 1937 — Med. Kliniche, 33, 196-197.
- 3 — J. JACOBI & T. MEYTHALER — 1931 — Klin. Wochensch, 10, 2222-2223.
- 4 — L. LANGERON & R. ARCHER — 1940 — Bull. et Mem. Soc. Méd. d. Hôp. de Paris, 54, 952-962.
- 5 — Relatórios anuais do Instituto Bacteriológico.

MIELOCULTURA E MIELOGRAMA NA FEBRE TIFÓIDE

Estudo comparativo com hemocultura e hemograma

AUGUSTO E. TAUNAY

Biologista do Instituto Adolfo Lutz

LUIZ AYRES

Assistente voluntário de Histologia e Embriologia da Faculdade de Medicina da Universidade de S. Paulo

DARIO PEDROSO

Chefe dos Laboratórios da Clínica Cirúrgica do Prof. B. Montenegro e do Sanatório Esperança

Sem dúvida, o exame bacteriológico do sangue, quando positivo, é o processo de maior certeza para o diagnóstico da febre tifóide. Todos os outros exames subsidiários da clínica ocupam lugar secundário, deante do achado do bacilo de Eberth.

Ultimamente, veio juntar-se à hemocultura, um meio diagnóstico de valor incontestável, qual seja a cultura de tecidos onde se localizam os bacilos típicos, durante a infecção. Destes, o da medula óssea é o de escolha, dada a simplicidade de técnica e inocuidade da punção esternal.

Ao iniciarmos este estudo, tivemos em mente observar a positividade da mielocultura durante os varios períodos da infecção e aproveitamos o material para a compararmos com outros meios diagnósticos.

Assim colhemos dados referentes ao tempo de moléstia, fizemos hemoculturas, mieloculturas, reações sorológicas, hemogramas e mielogramas, que foram praticados com intervalos de 10 dias, aproximadamente.

MIELOCULTURA

A mielocultura ou medulo-cultura não é processo novo de diagnóstico. Em 1903, Fränkel e seus discípulos esboçavam a demonstração da presença do bacilo de Eberth na medula óssea, em doentes vitimados pela febre tifoide, embora já os médicos-veterinários fizessem culturas com medula óssea retirada de animais mortos por septicemia. Desse passo, à introdução rotineira da mie-

locultura, *in anima nobile*, foi apenas uma questão de simplificar a técnica da punção medular, tornando-a acessível e inócua, o que foi conseguido quando, em 1929, Arinkin, introduzindo uma agulha para punção medular, facilitou os estudos sobre a medula óssea. No decorrer de nosso trabalho tivemos oportunidade de praticar 28 punções, sem que tivéssemos notado qualquer manifestação desagradável por parte dos doentes.

Segundo M. Sacks & F. Hachtel¹ quem primeiro isolou o bacilo tífico da medula óssea foi Gerbassi em 1925, retirando tecido mieloide da tíbia, conseguindo em 13 casos resultados positivos.

A mielocultura tem por bases, como processo diagnóstico, 2 grupos de factores: 1) Negatividade ou positividade inconstante ou temporária dos outros meios diagnósticos (sensibilidade e especificidade absoluta e sensibilidade bastante elevada da mielocultura. 2) Especificidade absoluta e sensibilidade bastante elevada da mielocultura. Em rápidos traços vejamos estes dois grupos.

Uma vez estabelecida a infecção, pela entrada na corrente sanguínea dos germes tíficos, a permanência destes alí pode ser pouco duradoura ou mesmo fugaz. Ao mesmo tempo o teor em aglutininas não estará suficientemente elevado e nós teremos como resultado: hemocultura negativa com Widal negativo ou inexpressivo. É o que se denomina — fase muda da moléstia. De outro lado, os pacientes consultam o clínico, quando já exgotaram com mesinhas caseiras 1 ou 2 semanas de moléstia, período ótimo para a hemocultura. Tanto que, em raros casos obtivemos dados antes de 10-12 dias de doença.

Segue-se que o paciente continua em observação com um Widal de título baixo, apenas com a probabilidade talvez única de um aumento no teor em aglutininas para que se confirme o diagnóstico, uma vez que o período da hemocultura já transcorreu. Não há necessidade de acentuar os transtornos causados por essas situações dúbias, onde o diagnóstico de laboratório não pode ser confirmado de maneira segura.

Quanto à especificidade do Widal, podemos relatar que no restrito número de doentes por nós estudados, tivemos 3 casos, em dois dos quais não se confirmou o diagnóstico de febre tifoide, apesar da reação de Widal positiva (1/400) com quadro clínico bastante atípico e os outros exames negativos.

Assim, o doente n.º 112, no 9.º dia de moléstia, em período febril, teve uma reação de Widal 1/400 (antígeno flagelar). No

14.^o dia, em virtude do quadro térmico atípico, fizemos a série de exames, com resultados negativos; constatamos a presença de hematozoários tanto no sangue periférico como na medula. O doente 144, com reação de Widal 1/400 (aglutinação flagelar), teve o diagnóstico de gripe, confirmado pela evolução da moléstia.

Quanto ao 3.^o caso, trata-se do doente 77: entrando no 15.^o dia de doença, tem uma reação de Widal "H" 1/400 e "O" 1/200. No entanto, todos os outros exames continuam negativos, mesmo repetidos 8 dias após. Nessa ocasião, reação de Widal "H" 1/100 e "O" 1/400, depois de vacinoterapia específica, curativa; quadro térmico bastante atípico, estado geral bom.

Convém lembrar ainda a questão da vacinação preventiva, de febre tifoide anterior e de moléstia intercurrente durante a febre tifoide, modificando a interpretação da reação de Widal.

O que ficou dito não tem o intuito de invalidar, em absoluto, a reação de Widal. Kahn² diz que, para se fazer um bolo de chocolate, há muitas receitas, mas para que ele tenha um paladar agradável é preciso esperar qualquer coisa das mãos da cosinheira. A reação de Widal manejada pelo clínico habil e experimentado é de fato um dado de segurança.

A hemocultura alcança sua maior positividade no início da moléstia, quando os sintomas clínicos frustos a confundem com outras infecções de caráter mais benigno e o clínico fica na expectativa da evolução do quadro. Da 1.^a semana em diante, a sua positividade decresce, sendo bastante limitada na 3.^a semana, quando a reação de Widal já se torna o método de escolha.

Nunca é demais repetir em esquema o valor dos diversos exames durante a evolução da febre tifoide:

<i>Semanas</i>	<i>Hemocultura</i>	<i>Reação de Widal</i>
1. ^a	80%	20%
2. ^a	70%	70%
3. ^a	30%	85%
4. ^a	12%	90%

Ora, os estudos desenvolvidos até o presente, demonstraram que os bacilos tíficos, logo após invadirem a massa sanguínea, localizam-se nos órgãos dotados de sistema retículo-endotelial, tais como o baço, fígado, gânglios e medula óssea. Uma vez aí localizados, estes órgãos passam a funcionar como verdadeiros focos de infecção, lançando os germes novamente em circulação, quando as

condições gerais do paciente o permitirem. Caso típico — doente 145, onde vemos a negatividade da hemocultura coincidindo com melhoria do quadro clínico, desaparecer quando o estado geral se agravou, enquanto que a mielocultura foi positiva durante todo o transcorrer da moléstia. Objetivando o caso:

<i>Dia de moléstia</i>	<i>Mielocultura</i>	<i>Hemocultura</i>	<i>Temperatura</i>
15	+	+	39°
25	+	+	38°2
34	+	—	37°
41	+	+	38°2
48	+	+	38°8

É evidente que uma pergunta desponta das afirmações acima referidas. Por que os bacilos se localizam na medula óssea e em outros órgãos ricamente dotados em células do S. R. E.? Quer nos parecer que estes órgãos fazem papel de filtro, dada a menor velocidade de circulação nesses sitios, permitindo uma atividade maior dos histiócitos no sentido de imobilizar e fagocitar os germes que por aí passam, levados pelo sangue.

Os mielogramas praticados contemporaneamente estão a indicar uma elevada histiocitose em atividade fagocitária, evidenciada pela vacuolização protoplasmática.

Acresce ainda, que como razão da alta sensibilidade da mielocultura, temos o fato acentuado por S. Sacks & F. Hachtel¹ de que ao praticarmos a punção medular estamos diante de uma condição em que, além do material rico em células fagocitárias, retiramos sangue arterial, sangue este que nos estados septicêmicos dá maior positividade que o retirado por punção venosa.

MATERIAL E MÉTODOS

Sendo nossa finalidade determinar a positividade da mielocultura durante a evolução da febre tifoide, preferimos os doentes com poucos dias de moléstia. Como já frizamos estes foram raramente encontrados por nós. Como consequência dessa nossa preferência, realizamos algumas punções em doentes cujo diagnóstico de febre tifoide não foi confirmado. Os doentes, todos do sexo masculino, tinham idade variavel de 20 a 40 anos e em 1 caso apenas a idade era de 15 anos.

As punções foram praticadas com a seguinte técnica: assepsia da pele do rebordo esternal, ao nível do 2.º intercosto, com iodo e

álcool. Anestesia da pele, tecido celular sub-cutâneo e periosteio, com 2 cc. de novocaina a 1%, em pequena seringa montada com agulha fina. Pelo mesmo orifício, introduzíamos a agulha apropriada, com mandril e, uma vez atingido o periosteio, forçávamos a entrada entre as duas táboas ósseas. Retirávamos o mandril e com seringa de 20 cc. fazíamos a aspiração do material. A princípio aproveitávamos a primeira aspiração para fazermos o estudo morfológico da medula (na presunção de maior riqueza celular) e na segunda aspiração retirávamos material para as sementeiras. Tendo ocorrido uma contaminação, modificamos esse processo, retirando de uma vez 2 cc. mais ou menos do material e, após breve agitação, procedíamos as sementeiras primeiramente e em seguida os esfregaços, que demonstraram uma densidade celular idêntica à obtida com a técnica anterior. As sementeiras eram feitas em 1 único balão com caldo simples, do qual retirávamos 1 gota após incubação de 24-48 horas para passagem em placa de ácido rosólico e identificação dos germes.

As hemoculturas foram realizadas mediante retirada de sangue por punção venosa. Os meios empregados foram o *liquoid*³ e a bile nutrosada. O sangue era semeado diretamente em *liquoid*, ao passo que na bile semeávamos o coágulo, aproveitando-se o soro para a reação de Widal.

Na reação de Widal empregamos sempre 2 antígenos com germes mortos: antígeno "O" alcoólico, preparado segundo a técnica de Bien⁴ e o antígeno formolado⁵. As raças empregadas foram a "O" 901 e "H" 901 de Felix. As diluições de soro usadas eram de 1/50 a 1/6.400, em tubos de igual diâmetro, incubação a 37° em estufa. Leitura com lupa, sempre feita por um dos autores (A. T.). Resultados positivos apenas com aglutinação total.

O achado de aglutininas "O", no sangue dos doentes, fornece um critério muito mais seguro no diagnóstico da febre tifoide, assim como também permite avaliar a evolução da moléstia. Alesca & E. Manoliu⁶ verificaram que a presença de aglutininas "O" coincide em alguns casos com um certo grau de benignidade e que estas descrevem uma curva ascendente que, começando nos primeiros dias de moléstia, vai até pouco antes da convalescença, quando começa a decrescer. Verificaram também a presença de aglutininas "H", mas em título muito mais baixo, discordância esta que se mantém nos doentes que foram vacinados anteriormente pelo T.A.B. como naqueles submetidos à vacinoterapia específica durante a moléstia.

Gilbert Coleman & Laviano ⁷ em 4.000 reações praticadas com antígeno alcoólico acham que uma aglutinação positiva a partir de 1/80 indica que o doente tem febre tifoide ou infecção do mesmo grupo. A reação flagelar no mesmo título pode deixar dúvidas, pois é também positiva nos vacinados e nos que já tiveram febre tifoide anteriormente.

O emprego de antígenos mortos apresenta ainda a vantagem de facilitar a execução das reações e afasta o perigo das contaminações de laboratório.

O estudo do sangue periférico foi feito mediante retirada por punção digital, contagem global de leucócitos (Türk) e feita de esfregaços corados pelo Leishmann para contagem diferencial. Separamos, nesta, os neutrófilos com granulações tóxicas, bem como na série linfocítica distinguimos os prolinfócitos, os típicos, histióides e leucocitóides.

RESULTADOS

Como resulta da leitura do quadro geral, realizamos nosso estudo em um total de 9 doentes de febre tifoide. Em 2 deles fizemos somente uma vez a série de exames; nos demais, repetimo-la 2, 3 e 5 vezes, o que nos deu um total de 23 observações.

Reduzindo a proporções os dados obtidos, vemos que a positividade alcançada pela mielocultura nos varios períodos da infecção é de 73,9%. As hemoculturas praticadas simultaneamente atingem apenas 47,9%, porcentagem esta praticamente idêntica à obtida por outros autores durante todo o decurso da moléstia. Assim Havens ⁸, sobre 126 casos de febre tifoide obteve 49% de positividade para a hemocultura.

Um fato digno de maior registo, é o que ressalta da consideração dos exames bacteriológicos da medula e do sangue, distinguindo-os quando praticados em períodos febris e afebris. Obtivemos sempre mieloculturas positivas todas as vezes que a colheita foi feita durante o período febril (em 15 punções, 15 mieloculturas positivas, ou seja: 100%). Ao contrario a hemocultura atingiu apenas 73,3%, isto é, 11 vezes sobre 15. Nos períodos de apirexia a mielocultura cai a 25% enquanto que a hemocultura desce a 0%.

QUADRO II

Período	Resultado	Mielocultura		Hemocultura	
		N.	%	N.	%
Febril	positivo	15	100	11	73,3
	negativo ...	0	0	4	26,7
Afebril	positivo	2	25	0	0
	negativo ...	6	75	8	100
Total	positivo	17	73,9	11	47,9
	negativo	6	26,1	12	52,1

Em 9 casos estudados o diagnóstico bacteriológico pode ser estabelecido em 2 deles (22,2%) exclusivamente pela mielocultura, nos 8º e 20º dias de moléstia, sendo as hemoculturas negativas, embora repetidas 2 ou 3 dias seguidos.

Isto demonstra que a mielocultura é um excelente método diagnóstico.

A positividade da mielocultura obtida em nosso trabalho é bastante superior àquela referida por Landau e Bauer⁹ que relatam 63,5% de casos positivos durante o período febril e apenas 46% durante todo o transcorrer da moléstia. Uma vez que os referidos autores fizeram o estudo morfológico do material retirado da medula, fica afastada a hipótese de que em alguns casos não tivessem eles semeado tecido medular. Resta o fato, entretanto, de que no computo geral os autores incluíram 31,4% de pacientes já em convalescença.

Sacks & Hachtel¹ referem, porem, 3 mieloculturas positivas realizadas em 3 pacientes, nos 14º, 19º e 21º dias de moléstia.

Debré e Colaboradores obtiveram também positividade constante em 10 casos examinados no decorrer da 1.^a e 2.^a semana.

Verifica-se, ainda, que com a melhora clínica a positividade da mielocultura tende a desaparecer, havendo correspondência na negatividade da mielo e da coprocultura.

No entanto o caso n.º 71 é sugestivo para corroborar as afirmações de Lancelotti quanto à importância da mielocultura em revelar os estados de portadores de bacilos. Partindo da concomitância de positividade da mielo e da hemocultura no 8.º dia de moléstia, passando no 15.º dia para positividade exclusiva da mielocultura observamos o paciente já em cura clínica com um resultado

negativo na cultura de fezes. Apesar de boas as condições clínicas (7.º dia em apirexia), 3 dias após (24º da moléstia), os exames revelaram hemocultura negativa, porem mielo e coproculturas positivas.

Devemos acentuar o fato de que dada a exiguidade de material medular, este foi semeado apenas em 1 meio de cultura. Admitimos que os resultados positivos aumentariam com o emprego de mais meios de cultura.

O fundamento desta asserção está no que se pode observar com o ocorrido na hemocultura. Como já frizamos, esta foi realizada com o emprego de 2 meios — liquoid e bile nutrosada. Verificamos que, além dos resultados concordantes nos 2 meios, encontramos 1 caso em que o liquoid foi decisivo e 4 favoráveis à bile nutrosada.

A reação de Widal foi sempre positiva em todos os nossos doentes, com diluições de soro que variaram de 1/100 até 1/3.200 com ambos os antígenos “O” e “H”. Com um número tão pequeno de observações, não podemos fixar conclusões absolutas, exceto à que se refere à obrigatoriedade do emprego dos dois antígenos “O” e “H”, como fica patente pelos exemplos dos casos 112 e 144, referidos acima.

1 — HEMOGRAMA

A) CONTAGENS GLOBAIS

Do estudo comparativo conjunto das 20 *contagens globais da série branca* nos diversos períodos da febre tifoide, verificamos que:

1) O valor mínimo registou-se na 4.ª semana (2.088) e o máximo na 5.ª (13.885); em 66,6% das observações assinalamos leucopenia e leucocitose em 33,4%; como taxa média registamos leucopenia ligeira (7.077).

2) Na 2.ª semana os valores globais mantiveram-se entre 7.168 e 8.400 leucócitos; na 3.ª 25% de contagens têm resultados inferiores a 6.000 leucócitos; na 4.ª as taxas globais são inferiores à da semana precedente, com 33% abaixo de 5.000 leucócitos; na 5.ª semana os números globais ascendem, atingindo moderada leucocitose; na 6.ª semana há queda brusca com acentuada leucopenia, voltando na 7.ª semana a retomar os valores próximos ao normal médio (8.000 leucócitos, segundo Ferrata).

3) Na correlação entre temperatura e números globais leucocitários, notamos que quando a colheita do sangue coincidiu com a temperatura máxima observada (39º) houve ligeira leucocitose — 8.400 —; quando a temperatura foi mínima (36º4) houve leve

QUADRO

Número de ordem	190	71	130	95	71	145	102	177	133	
Dias de moléstia	8º	8º	12º	13º	15º	15º	16º	16º	20º	
Temperatura	38,8	39,2	39	37,4	38,8	39	38,2	38,4	38,6	
Reação de Widal	{ B. tífico { Antígeno O Antígeno H Paratifo A Paratifo B	1/400	1/400	1/100	1/100	1/400	1/400	1/800	1/3.200	
		1/400	1/200	1/800	1/100	1/400	1/400	1/800	1/200	
		—	1/100	—	1/100	1/50	—	—	1/200	
		—	1/200	—	—	1/100	—	—	1/200	
Hemocultura	{ Bile nutrosada Liquoid.	—	+	+	+	—	+	+	—	
		—	—	Não	—	—	+	+	Não	
Myelocultura	{ Caldo	+	+	+	+	+	+	+	+	
		—	—	—	—	—	—	—	—	
Hemograma	Contagem g. leucócitos	7.168	7.203	8.400	8.800	8.400	6.200	7.230	700	
	Neutrófilos	73,5	65,6	76,8	77,5	77,5	82,0	84,0	83,0	
	a) sem granulações tóxicas	73,5	—	—	—	—	—	—	—	
	Metamielócitos	—	—	—	—	—	—	—	—	
	Bastonetes	—	—	—	—	—	—	—	—	
	Segmentados	—	—	—	—	—	—	—	—	
	b) com granulações tóxicas	73,5	65,6	76,8	77,5	77,5	87,0	84,0	83,0	
	Mielócitos	—	—	—	—	—	—	—	—	
	Metamielócitos	11,0	6,4	6,8	3,5	2,5	3,5	25,5	6,5	
	Bastonetes	27,5	23,2	26,0	24,5	22,0	27,5	33,0	31,0	
	Segmentados	35,0	36,0	44,0	47,5	53,0	58,0	25,5	45,5	
	Eosinófilos	—	—	—	—	—	—	—	—	
	Basófilos	—	0,8	—	—	—	1,0	—	—	
	Linfócitos	14,5	24,0	14,0	8,5	15,5	7,5	8,5	10,5	
	Pró-lymfócitos	0,5	—	—	—	0,5	—	—	—	
	Típicos	5,5	9,2	0,8	0,0	6,0	3,0	—	—	
	Histióides	0,5	—	0,4	—	—	—	—	0,5	
	Leucocitóides	8,0	14,8	12,8	8,5	9	4,5	8,5	10,0	
	Plasmocitoblastos	0,5	0,4	0,8	—	1,0	1,0	0,5	0,0	
	Plasmócitos	—	0,4	—	2,5	—	—	1,0	0,0	
	Monócitos	11,5	8,8	8,4	9,0	6,0	1,5	6,0	6,5	
	Histiócitos	—	—	—	0,5	—	—	—	—	
	Índice degenerativo	100	100	100	100	100	100	100	100	
	Micrograma	Histiócitos	3,75	1,2	6,0	0,6	1,0	3,5	4,0	7,5
		Hemohistioblasto	—	0,20	1,25	—	0,25	0,75	0,2	—
		neutrófilo	—	0,20	1,25	—	0,25	0,75	0,2	—
		eosinófilo	—	—	—	—	—	—	—	0,25
		Hemocitoblasto	0,5	—	1,0	—	0,25	1,5	0,2	0,5
Megarioblasto		—	—	—	—	0,25	—	—	—	
Megacariócito		0,25	—	1,25	0,3	—	—	—	0,25	
Neutrófilos		57,25	68,8	67,75	76,5	68,75	67,5	70,2	50,0	
mieloblastos pró		2,0	2,2	2,0	4,5	3,0	1,75	2,3	0,75	
pró-mielócitos		16,75	5,2	19,5	12,6	17,0	16,0	24,5	4,75	
em mitose		—	0,20	1,0	—	0,5	0,25	0,3	0,25	
mielócitos		11,5	10,20	7,75	9,3	10,75	7,75	8,3	1,0	
metamielócitos		16,5	21,0	9,75	39,4	20,75	11,5	18,3	8,25	
bastonetes		9,0	20,5	9,75	10,2	11,75	22,5	14,0	18,25	
segmentados		1,25	9,5	2,0	7,5	5,0	7,75	2,5	16,75	
Eosinófilos		1,75	1,0	3,75	2,7	1,5	2,25	5,0	1,5	
mieloblastos pró		—	—	—	—	—	—	0,2	—	
pró-mielócitos		1,25	1,0	1,0	0,9	0,5	0,5	0,5	0,5	
mielócitos		0,75	0,50	0,5	0,3	—	1,5	0,3	—	
metamielócitos		0,75	1,50	1,5	0,3	0,25	0,25	0,5	0,25	
bastonetes		1,5	0,50	0,5	0,3	0,25	—	1,5	—	
segmentados		0,5	0,25	0,25	0,9	0,5	—	2,0	0,75	
Basófilos		—	0,25	0,25	—	—	0,5	—	0,25	
metamielócitos		—	0,25	0,25	—	—	0,25	—	0,25	
segmentados		—	—	—	—	—	0,25	—	—	
Pró-lymfócitos		3,25	4,75	4,75	0,6	0,75	1,0	3,0	8,25	
Linfócitos		6,25	3,50	3,5	6,9	10,75	10,0	6,5	18,75	
Plasmocitoblastos		7,0	0,25	0,25	—	0,5	4,0	—	0,25	
Plasmócitos		1,0	4,25	4,25	3,0	5,75	2,0	3,0	1,50	
Monócitos		1,50	0,50	0,5	0,9	3,0	3,0	0,3	1,0	
Eritroblastos		20,50	11,50	11,5	11,4	7,25	4,0	7,6	10,25	
pró		0,50	—	—	0,3	—	—	—	—	
basófilos		1,75	5,0	5,0	4,2	1,5	0,75	5,0	2,25	
policromatófilos		10,75	6,50	6,0	5,4	4,25	3,0	2,0	4,75	
em mitose		0,25	—	—	0,3	—	0,25	—	—	
ortocromáticos		4,25	—	—	1,2	0,25	—	0,4	1,75	
Com granulações basófilas-poli		—	—	—	—	0,75	—	0,2	0,75	
Com granulações basófilas orto		2,50	—	—	—	—	—	0,75	6,50	

GERAL

30	95	107	145	71	102	95	133	145	102	107	145	107	145
21°	22°	23°	23°	24°	25°	30°	34°	34°	34°	36°	41°	44°	48
37	37	38,9	38,2	36,5	38,2	36,8	36,9	37	36,4	38	38,2	36,5	38,8
1/200	1/800 1/400	1/1600 1/1600	1/400 1/400 1/200 1/200	1/800 1/1600	1/800 1/800	1/1600 1/800 1/100 1/100	1/1600 1/1600	1/800 1/200	1/800 1/1600	1/3200 1/6400	1/800 1/200	1/200 1/1600	1/800 1/200
—	1/50	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	+	+	—	—	—	Não	—	—	Não	+	—	+
—	—	+	+	+	+	—	—	+	—	+	+	—	+
5.846	6.612	4.280	2.088	10.572	6.269	9.200	13.875	3.550	8.200	3.550		6264	
56.0	63.5	71.0	63.5	47.5	7.40	49.0	49.0	69.5	77.5	60.5	83.5	72.0	87
—	0.5	—	7.0	9.5	—	15.0	1.0	1.0	0.5	1.5	—	28.5	—
—	—	—	1.0	—	—	1.5	—	—	—	—	—	2.5	—
—	0.5	—	2.0	4.5	—	10.5	0.5	0.5	0.5	0.5	—	8.5	—
—	—	—	4.0	5.0	—	3.0	0.5	0.5	—	1.0	—	17.0	—
56.0	63.0	71.0	56.5	38.0	74.0	34.0	48.0	68.5	77.0	39.0	83.5	43.5	33.0
—	—	—	0.5	0.5	—	—	—	—	—	—	—	0.5	—
1.0	2.5	12.5	1.5	0.5	4.5	4.0	5.0	4.5	7.0	4.0	1.6	3.0	5.0
17.5	26.5	35.0	20.5	15.5	29.5	18.0	20.5	39.0	29.0	27.0	26.0	19.0	37.0
37.5	34.0	23.5	34.5	22.0	40.0	12.0	22.5	25.0	41.0	28.0	54.0	21.0	45.0
2.0	—	—	0.5	1.5	0.5	0.5	7.5	—	1.0	—	0.5	0.5	—
—	—	—	1.0	0.5	0.5	—	0.5	1.5	—	0.5	1	—	0.5
36.0	22.0	11.5	23.0	43.0	13.0	33.5	32.5	19.5	11.5	26.5	9.5	18.0	9.5
—	—	—	2.0	2.5	—	0.5	0.5	2.0	0.5	—	—	0.5	—
2.5	—	3.0	13.0	12.5	4.0	11.0	6.0	4.5	3.5	7.5	3.0	3.5	2.0
—	—	0.5	1.0	1.5	1.5	1.5	0.5	1.5	—	2.5	0.5	—	—
33.5	22.0	8.0	7.0	26.5	8.0	20.5	23.5	11.5	7.5	16.5	6.0	9.0	7.5
—	—	1.0	2.5	1.5	1.5	—	—	1.0	0.5	2.0	0.5	—	1.0
—	—	—	1.5	—	—	—	—	1.0	0.5	—	—	—	—
6.0	13.5	16.5	8.0	7.5	11.0	15.5	10.5	7.0	9.5	10.0	6.0	9.5	2.0
—	—	—	0.5	0.5	—	—	—	0.5	—	0.5	—	—	—
100	99	100	88	81	100	69	97	98	98	97	100	60	100
5.75	3.6	2.75	3.75	1.75	2.25	2.5	1.5	7.0	2.0	2.25	1.0	1.0	—
0.5	0.6	0.25	—	1.0	—	—	—	0.25	0.25	—	—	0.25	0.2
05	0.6	0.25	—	1.0	—	—	—	0.25	0.25	—	—	0.25	0.2
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
0.25	0.2	0.5	2.75	1.25	1.00	0.75	1.25	—	0.25	0.75	0.75	0.25	0.2
0.25	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3.5	—	—	—	—	—	—	0.25	—	—	0.25	—	—	—
36.75	78.4	69.25	61.5	58.25	73.0	65.25	55.0	63.75	78.0	75.5	74.5	69.0	71.4
2.0	4.6	1.75	3.0	2.75	4.75	2.25	2.25	0.5	0.5	1.5	2.75	0.75	1.8
17.0	18.4	2.5	13.75	7.5	22.25	6.75	12.0	8.25	9.75	12.0	3.75	7.50	11.8
0.5	—	0.5	0.75	0.25	—	0.5	0.25	—	—	—	—	—	0.2
10.75	3.2	12.5	5.75	9.5	12.5	10.0	6.25	3.5	6.5	1.825	11.75	16.0	11.8
18.25	24.0	24.5	17.5	15.25	21.0	23.0	17.0	17.5	29.25	32.5	11.50	26.0	19.2
15.75	10.8	5.75	12.0	17.50	17.5	18.75	14.75	24.0	21.25	8.75	25.50	130	29.8
2.5	2.4	3.0	8.75	5.5	5.25	4.0	5.5	10.0	10.75	2.50	14.25	5.75	6.8
4.25	3.2	5.5	1.75	4.25	1.75	2.75	2.5	1.5	1.25	—	4.25	1.25	4.8
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
1.75	1.8	0.75	0.75	0.75	0.5	0.5	0.5	0.75	—	—	1.75	0.25	0.8
1.5	0.6	0.5	—	0.5	0.5	0.5	0.25	0.25	0.75	—	1.50	—	2.8
0.25	0.2	0.75	0.5	1.0	0.75	0.75	—	—	0.5	—	—	0.50	0.4
0.50	0.2	2.0	0.5	0.25	—	0.50	0.25	—	—	—	0.5	0.25	0.6
0.25	0.4	1.5	—	1.75	—	0.50	1.5	0.25	—	—	0.5	0.25	0.2
—	—	0.5	—	0.25	—	—	—	0.25	—	—	0.25	—	0.2
—	—	0.25	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.2
—	—	0.25	—	0.25	—	—	—	0.25	—	—	0.25	—	—
1.25	1.6	1.75	1.75	2.75	3.25	1.75	3.0	4.5	2.5	5.0	0.5	8.75	1.0
3.75	5.2	6.0	15.5	17.5	10.5	12.5	25.5	13.5	8.75	7.0	10.0	4.25	7.6
0.5	0.2	1.0	4.5	0.25	0.5	0.25	—	1.25	0.5	—	1.75	0.75	2.0
2.5	2.4	1.5	4.5	1.25	0.75	0.25	1.0	3.5	0.5	0.5	0.25	0.5	1.4
1.75	0.0	2.0	2.5	2.75	5.5	4.75	2.0	0.50	3.0	0.75	1.50	0.25	0.8
9.0	9.6	9.0	1.5	8.75	1.5	9.25	5.0	4.25	3.0	7.75	5.0	13.75	0.4
0.5	0.6	0.25	—	—	0.25	0.75	0.25	0.75	—	—	—	0.75	—
2.25	1.8	2.75	0.5	2.0	0.50	1.25	0.75	—	—	0.75	1.0	1.25	—
5.0	5.2	5.25	1.0	5.25	0.25	5.75	3.50	2.50	1.75	5.25	3.5	5.0	—
—	—	—	—	—	—	—	0.25	—	—	—	—	—	—
1.0	0.6	0.75	—	0.75	0.25	0.25	—	0.75	1.0	0.75	0.75	6.0	0.4
—	1.4	—	—	—	0.25	0.75	0.25	0.25	—	—	—	—	—
0.25	—	—	—	0.75	0.25	0.75	—	—	0.25	0.50	—	0.75	—

leucocitose — 8.200 —, correspondendo à máxima hiperplasia granuloblástica neutrófila da medula óssea (78%) com hipoplasia dos eosinófilos.

Isto demonstra que a temperatura alta coincide com uma hiperleucocitose somente quando a medula for normal, não tendo, em nossos casos, os estados febris coincido com aumento numérico dos leucócitos, por que o tecido mieloide no tifo está seriamente perturbado.

4) Quando os bacilos tíficos estão presentes na medula óssea, a relação entre a atividade do tecido mieloide e a taxa global de leucócitos no sangue periférico é tal, que mostra em 71,4% dos casos ligeira leucopenia e, nos restantes, nítida leucocitose; o valor global leucocitário foi assinalado com a medula óssea isenta de bacilos tíficos.

B) CONTAGEM DIFERENCIAL

Foram efetuadas 23 contagens específicas:

1) NEUTRÓFILOS

Variações quantitativas — O hemograma não apresenta variações intensas na apreciação quantitativa dos granulócitos neutrófilos.

Estes elementos conservaram-se em 39,3% dos casos em taxa abaixo do mínimo normal (68% — FERRATA), ocorrendo a taxa mínima com 47,5% (neutropenia relativa, mas não absoluta em virtude de leucocitose — 10.579); em 8,6% os neutrófilos mantiveram-se em porcentagens normais; em 52,1% observou-se neutrofilia relativa com percentual máxima de 89%.

No decurso da moléstia notamos, na 2.^a semana, leve neutrofilia relativa que, em geral, se eleva de modo escasso na 3.^a, descendo na 4.^a e 5.^a semanas às taxas mais inferiores, ascendendo na 6.^a e 7.^a às porcentagens normais e mesmo ultrapassando-as.

A neutrofilia, considerado cada caso em particular, acompanha a elevação leucocitaria.

Como tradução da intensa hiperplasia granulocítica que ocorre na medula óssea, observa-se no sangue periférico a presença de elementos imaturos — mielócitos e metamielócitos; os mielócitos apresentam-se em 8,6% dos casos numa porcentagem constante de 0,5%; os metamielócitos estiveram ausentes em 1 contagem apenas, atingindo em outra 25,5%, sendo 4,6% a média registrada.

Em todos os casos nota-se intenso desvio dos neutrófilos para a esquerda oscilando de 15,5 a 39% de bastonetes; as taxas máximas de bastonetes registaram-se no caso letal, principalmente nas últimas semanas. Em 21,3% a taxa dos bastonetes foi superior mesmo à dos segmentados.

As taxas dos neutrófilos segmentados foram sempre inferiores ao normal, assinalando-se um mínimo de 12% e um máximo de 58%. A observação de plurisegmentados foi rara.

B) *Variações qualitativas*

a) *Granulações tóxicas* — Na contagem específica os neutrófilos foram classificados em portadores e não portadores de granulações tóxicas de Cesaris Demel-Gloor. No tipo B as granulações foram preponderantemente grosseiras, abarrotando completamente o protoplasma; estas granulações são em geral de coloração azul-roxa, de forma redonda, ora de contornos lisos, ora espinhosas e creneladas, entremeadas com as granulações neutrófilas normais. As granulações tóxicas tipo A, pequenas e vermelho-violetas, são também presentes mas em quantidade discreta.

As granulações tóxicas existiram em todos os casos e durante os varios períodos da moléstia; Em 43,4% dos casos é registada a ausência destas granulações em um número muito pequeno de células, a saber: na 3.^a semana em 14,3% dos casos, na 4.^a em 66,6%, na 5.^a, 6.^a, e 7.^a em 100% (excluindo-se o doente 145 de êxito letal).

O índice toxi-degenerativo, isto é, a relação entre o número total dos neutrófilos e o número total de neutrófilos com alterações degenerativas é demonstrado no seguinte esquema (exclusive caso letal) :

<i>Semanas</i>	<i>Índice Degenerativo</i>
2. ^a	100
3. ^a	96
4. ^a	95
5. ^a	91
6. ^a	97
7. ^a	60

No caso letal a elevação do índice após sua queda coincide com a peora clínica:

<i>Semanas</i>	<i>Índice Degenerativo</i>
3. ^a	100
4. ^a	88
5. ^a	98
6. ^a	100
7. ^a	100

Nas fases de defervescência as granulações tóxicas vão diminuindo em quantidade, indicando a queda dos índices degenerativos um bom prognóstico da evolução da febre tifoide.

b) *Microvacuolizações citoplasmática e nuclear*: — Estes fenomenos degenerativos, instalando-se desde os primórdios da infecção tífica nas células imaturas da medula óssea, são visíveis com frequência já na 2.^a semana nos elementos do sangue circulante, persistindo ainda nos períodos de convalescença.

Os vacuolos são redondos, de tamanho variavel, coexistindo às vezes na mesma célula em número de 2, 3 ou mais, revelando-se a vacuolização protoplasmática mais frequente do que a nuclear.

c) *Basofilia citoplasmática*: — Conquanto menos comum que a microvacuolização, constata-se pequenas porções azuis do protoplasma, redondas ou quadrangulares, destacando-se nitidamente da coloração acidófila do fundo citoplasmático.

d) *Aniso e poiquilocitose neutrófila*: A anisocitose como em todo processo toxi-infeccioso, é frequente; a poiquilocitose é observada com muito menor intensidade.

e) *Picnose nuclear*: É processo degenerativo de ocorrência frequente e intensa.

f) *Anomalia nuclear de Pelger-Huet*: Às vezes observam-se neutrófilos lobados, com diâmetro transverso do núcleo muito maior em relação ao diâmetro longitudinal.

2) EOSINÓFILOS

a) *Quantitativamente* — Há desaparecimento absoluto dos eosinófilos durante a 2.^a semana, ainda que na medula óssea estes elementos estejam presentes em porcentagens relativamente altas; na 3.^a semana persistiu a eosinopenia absoluta em 5 casos sobre 6, assinalando-se a taxa de 2% para um caso de decurso benigno, já afebril e com mielocultura negativa. Na 4.^a semana em 80% dos casos registou-se uma taxa de 0,5-1,5% dos eosinófilos, em 20% houve anaeosinopenia; na 5.^a semana em 75% das observações

continua a presença de eosinófilos no sangue circulante com taxa máxima de 7,5%, havendo em 15% anaesinofilia. Nas 6.^a e 7.^a semanas houve anaesinofilia em 50% dos casos e taxa de 0,5% para os restantes 50%.

Em 63,6% dos indivíduos febris os eosinófilos estavam ausentes do sangue circulante. Nos períodos apiréticos em 75% dos casos, os eosinófilos ocorreram no sangue periférico, faltando em 25%.

A taxa de eosinófilos está em relação com a gravidade da infecção tífica, notando-se as percentuais mais elevadas quando a moléstia é benigna, com diminuição e taxas baixas no decurso prolongado e grave.

Qualitativamente, todos os eosinófilos apresentam as granulações, corando-se em azul brilhante e com microvacuolos citoplasmáticos.

3) BASÓFILOS

Em linhas gerais estes granulócitos mostram quantitativamente estreito paralelismo com os eosinófilos.

4) LINFÓCITOS

Variações quantitativas — Em nossas observações, na 2.^a semana de febre tifoide, não registamos linfocitose, ao contrário do relato de numerosos autores.

Os linfócitos em 75% dos indivíduos apresentaram neste período taxas compreendidas entre 8,5 — 14,5%, assinalando-se apenas em um caso ligeira linfocitose. Na 3.^a semana em 66,6% dos indivíduos notou-se linfopenia também baixa, com nítida linfocitose relativa em 33,4%. Na 4.^a semana 60% das taxas obtidas enquadraram-se em valores normais alcançando mesmo em um caso acentuada linfocitose relativa e absoluta.

Já na 5.^a semana os linfócitos elevam-se à taxa média de 33%, observando-se linfocitose relativa e absoluta em 50% dos casos.

Na 6.^a e 7.^a semanas há linfopenia, que se acentuou no caso letal.

Variações qualitativas — Deve-se ressaltar inicialmente a ocorrência de células linfocíticas imaturas, como o prolinfócito, fase intermediária de maturação entre o linfoblasto e o linfócito. O achado de prolinfócitos foi notado mesmo em casos de leucopenia com linfopenia relativa e absoluta, mas correndo paralelo com in-

tensa hiperplasia prolinfocitária da medula óssea nos períodos febril e de defervescência.

A presença de prolinfócitos ocorre em sua grande maioria nos indivíduos em que a febre tifoide tem longa duração e principalmente nos últimos períodos.

Os linfócitos maduros (típico, leucocitoide e histioide) apresentam alterações citoplasmáticas e nucleares: o citoplasma em numerosos casos possui zonas de coloração cinzenta entremeadas de porções mais claras; outras vezes, no fundo cinzento, notam-se condensações basófilas, acentuando-se as colorações cinzentas e basófilas no rebordo protoplasmático. O protoplasma é grande, labil, com frequente microvacuolização e relação núcleo-plasmática favorável ao citoplasma.

5) MONÓCITOS

Sob o ponto de vista *quantitativo* estes elementos, nos casos de evolução favorável, apresentaram-se em taxas cabíveis dentro do normal; no caso letal houve acentuada monocitopenia (taxa mínima — 1,5%) na última semana.

Em 69,5% dos casos registou-se monocitose relativa (taxa máxima 22,5%). *Qualitativamente*, grande número de monócitos apresentam o núcleo com caráter histioide, multilobulado, protoplasma com prolongamentos, de coloração azul-cinzenta, hiper-granuloso, com microvacuolização protoplasmática intensa, indício de ativa fagocitose.

6) CÉLULAS PLASMÁTICAS

As células plasmáticas, que normalmente não são presentes no sangue periférico, mostram às vezes alterações morfológicas nítidas, constituídas por acidofilia ligeira do citoplasma e presença de numerosíssimas granulações azurófilas grandes, disseminadas mais particularmente nos rebordos; num caso, com tri-lobação nuclear.

Plasmoblastos — Estes elementos, que correspondem morfogenética, morfológica e funcionalmente às células de Türk e, aos pré-plasmócitos de Introzzi, apresentam-se na febre tifoide em 73,9% das observações em porcentagens oscilando de 0,4 — 2,5%, sendo mais raros nos últimos períodos da infecção tífica.

Plasmócitos — O achado de plasmócitos foi registrado em 34,7% dos casos em taxas compreendidas entre 0,4 e 4%.

7) HISTIÓCITOS

Em 21,7% das observações os histiócitos estavam presentes, comumente de caráter endotelial, mais raramente de tipo reticular, contendo aglomerados de granulações azurófilas.

8) PLAQUETAS SANGUÍNEAS

Não fizemos contagens globais das plaquetas sanguíneas; todavia, por estimativa nos esfregaços, verifica-se que há nítida trombocitose, estando as plaquetas frequentemente conglomeradas, formando grandes limbos plasmáticos.

Os trombócitos, na febre tifoide, são de tamanho variável, principalmente volumosos, com distribuição irregular de cromômero e acentuada coloração acidófila do hialômero.

2 — MIELOGRAMA

Em todos os esfregaços realizados com o material da punção medular a densidade celular foi grande, com exceção da última aspiração do caso letal (n.º 145), em que as células se encontravam em quantidade relativamente pequena.

A *contagem diferencial dos elementos mieloides* revelou intensa hiperplasia das células granuloblásticas.

Tomamos como valores normais do mielograma os citados por Fieschi.

1) HISTIÓCITOS

Os histiócitos foram encontrados em 95,6% dos casos e ausentes no último mielograma do caso letal; em 65,2% houve hiperplasia histiocitária alcançando em 1 caso o máximo de 7,5%.

A atividade fagocitária dos histiócitos revelou-se intensa, sendo às vezes o protoplasma reduzido a finos cordões limitando amplos vacúolos que continham frequentemente granulações azurófilas isoladas ou conglomeradas, mais raramente englobando granulócitos em várias fases de desintegração.

2) HEMOHISTIOBLASTOS

As chamadas *Ferratazellen*, cuja ocorrência na medula óssea do indivíduo adulto parece ter significado patológico, apareceram em 73,9% das observações, contendo no protoplasma predominantemente granulações neutrófilas, em um único caso granulações eosinófilas.

3) HEMOCITOBLASTOS

Estas células com poucas discrepâncias conservam-se dentro de taxas normais.

4) SÉRIE MEGACARIOCÍTICA

Os megacarioblastos e megacariócitos estão diminuídos numericamente, sendo em sua grande maioria reduzidos a fragmento nuclear.

5) NEUTRÓFILOS

Quantitativamente, em 91,4% dos casos nota-se hiperplasia da série granulocítica neutrófila, alcançando um máximo de 78% (média normal = 57,5%). Observa-se nítido aumento das células mais imaturas (mieloblastos, promielócitos e mielócitos) sobre as mais maduras (metamielócitos, bastonetes e segmentados), mais evidente nos períodos de convalescença, apesar dos segmentados aumentarem numericamente em relação às primeiras semanas conservam-se sempre em taxas abaixo do normal.

Esta anaplasia celular, isto é, parada da maturação celular, faz com que as taxas dos promielócitos sejam maiores que as dos elementos morfogeneticamente superiores.

Na febre tifoide os promielócitos e mielócitos deveriam ser contados conjuntamente pela dificuldade da diferenciação morfológica entre um e outro, devido à grande quantidade de granulações azurófilas, granulações estas que persistem nas últimas fases de maturação, fases estas que, em virtude de sua rápida migração da medula óssea para o sangue periférico, assumem então caráter patológico, denominando-as de granulações tóxicas.

Qualitativamente os neutrófilos mostram microvacuolização protoplasmática e nuclear desde o mieloblasto até o segmentado. Pícnose nuclear e anomalia nuclear de Pelger-Huet é de observação mais ou menos frequente.

6) EOSINÓFILOS

Os eosinófilos, mesmo quando ausentes do sangue periférico, mostram taxas relativamente altas na medula óssea, ligeiramente aumentadas em 26% dos casos, com anaesinofilia medular e periférica em 1 caso apenas no penúltimo período da moléstia. Qualitativamente, há acentuada anisocitose e poiquilocitose.

7) BASÓFILOS

Estes granulócitos são registados em 52,5% das observações.

8) SÉRIE LINFOCÍTICA

Em todos os casos há hiperplasia nítida dos prolinfócitos e dos linfócitos, assinalando-se às vezes a disposição destes elementos em pequenos nódulos linfáticos.

9) SÉRIE PLASMOCÍTICA

Os plasmoblastos e plasmócitos ocorrem na quasi totalidade dos casos em taxas altas, com acidofilia protoplasmática e granulações azurófilas.

10) MONÓCITOS

Há ligeiro aumento dos monócitos em 34,7% dos casos, com valores baixos nos restantes. A micro-vacuolização protoplasmática é intensa.

11) ERITROBLASTOS

Em nenhum caso a taxa eritroblástica alcançou o valor normal (24,46%); esta série atinge na 2.^a semana o valor máximo de 20,5% decrescendo nas últimas semanas (6.^a e 7.^a) à taxa de 3-5%.

Esta queda vai-se acentuando à medida que progride a moléstia; concomitantemente há diminuição da taxa de hemoglobina, pois no sangue periférico há nítida hipocromia das hematias.

Reproduz-se, também, nos eritroblastos certo grau de anaplasia. Como alterações estruturais, estas células, na grande maioria dos casos, apresentam granulações basófilas indício de regeneração patológica, além de mitoses atípicas, resultando eritroblastos mitóticos com 3 núcleos.

12) CARIOCINESES

As mitoses dos elementos mieloides processaram-se predominantemente quando a mielocultura foi positiva para o bacilo tífico, numa percentagem de 81,3%.

Como se depreende do esquema abaixo, as taxas dos neutrófilos e dos eritroblastos em cariocinese são inferiores aos valores normais.

Os processos cariocinéticos são a expressão principal da função proliferativa; normalmente nos elementos da série eritroblástica o número de cariocineses é muito mais elevado do que nos granulócitos, correspondendo a atividade proliferativa, sem dúvida muito

mais intensa para compensar o menor desenvolvimento do parênquima eritroblástico.

Não observamos eritroblastos basófilos em mitose, apesar das cariocineses nestes elementos serem normalmente em taxas elevadas.

CARIOCINESES

Porcentagens relativas

Número de ordem	71	190	130	95	71	145	102	177	133	130	107	145	71	95	133	145
Dias de moléstia	8°	8°	13°	13°	15°	15°	16°	16°	20°	21°	23°	23°	24°	30°	31°	31°
Temperatura	39°2	38°8	39°	37°4	38°8	39°	38°8	38°4	38°6	37°	38°8	38°2	36°5	36°8	36°9	36°9
Mielocultura	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+
Neutrófilos:																
Promielocito	0,2	-	1	-	0,5	0,25	0,3	0,25	-	0,5	0,5	0,75	0,25	0,5	0,25	0,2
Eritroblastos:																
Policromatófilos	-	0,25	-	0,3	-	0,25	-	-	0,25	-	-	-	-	-	0,25	-

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Antes de encerrarmos estas considerações sobre o estudo hematológico da febre tifoide, devemos recapitular que os nossos achados não coincidem com os obtidos por numerosos autores estrangeiros.

Assim a nossa febre tifoide não acarreta a intensa leucopenia, como é observada na forma européa.

Em contraposição à quasi constante linfocitose registada nos tratados como existente no decorrer da moléstia, observamos neutrofilia relativa, instalando-se preponderantemente a linfocitose somente na 4.^a semana.

Quanto ao comportamento dos eosinófilos, correspondem as nossas taxas às dos demais autores.

No confronto entre a medula óssea e o sangue periférico é importante citar a discordância patente entre a taxa da série linfocítica, aumentada na medula óssea, e sua diminuição no início da moléstia, mostrando inter-dependência topográfica entre estes constituintes celulares.

A plaquetose intensa (por estimativa) observada na nossa febre tifoide no sangue periférico e a taxa baixa dos negacariócitos estão a demonstrar, como pensam Rohr & Schulten, uma destruição rápida destes últimos, fornecendo um número alto de plaquetas sanguíneas circulantes.

Não podemos deixar de agradecer ao Dr. José Augusto Arantes, diretor do Hospital de Isolamento Emilio Ribas, que nos facilitou a obtenção do material necessário ao nosso trabalho, fornecendo também todos os dados de que necessitamos e ao Snr. Antonio Amorosino, técnico do Instituto Adolfo Lutz, que nos auxiliou na parte técnica.

SUMÁRIO

A mielocultura é de valor inestimável no diagnóstico da febre tifoide. Durante o período febril a sua sensibilidade mostrou-se absoluta.

Nas primeiras semanas de moléstia a sua positividade foi sempre superior a 80%.

Obtivemos mieloculturas positivas desde o 8.º até o 48.º dia de moléstia. A mielocultura mostrou ser um processo diagnóstico bastante mais sensível que a simples hemocultura.

A reação de Widal deve ser praticada sempre com os antígenos "O" e "H". Os autores apresentam dois casos em que o diagnóstico de febre tifoide não pode ser confirmado, embora apresentassem um teor em aglutininas "H" elevado.

A febre tifoide produz ligeira leucopenia, considerando-se 7.077 leucócitos por mmc. como taxa média durante os vários períodos da moléstia.

À medida que a moléstia progride sem complicações, nota-se diminuição quantitativa leucocitária, ascendendo nas últimas semanas às taxas normais e mesmo ultrapassando-as; nos casos acompanhados de complicações, as taxas globais são leucopênicas.

Os bacilos típicos acarretam inibição da maturação mieloide: quando a medula óssea é isenta de bacilos, há contagens globais altas.

Em geral há neutrofilia relativa, ocorrendo no sangue periférico a presença de elementos imaturos, como mielócitos e metamielócitos, bastonetose acentuada e diminuição dos segmentados. Regista-se a presença de granulações tóxicas, microvacuolização citoplasmática e nuclear, basofilia protoplasmática, picnose nuclear, anomalia nuclear de Pelger-huet, aniso e poikilocitose dos granulócitos.

O índice degenerativo diminui à medida que a cura clínica se processa.

Paralelamente à neutrofilia relativa, há hiperplasia dos mesmos na medula óssea, predominando os elementos mais imaturos (promielócitos), com quadro ligeiramente anaplástico.

Observa-se eosinopenia absoluta periférica nos primeiros períodos da moléstia, reaparecendo os eosinófilos nas últimas semanas; na medula óssea os eosinófilos foram presentes em taxas normais ou ligeiramente aumentados em todo o decurso da moléstia.

No início da infecção tífica há linfopenia, começando a se registrar, na 4.^a semana, linfocitose, com ligeira predominância, que persiste na convalescença. Nos casos com complicações a linfopenia perdura até os últimos períodos da moléstia. Há a ocorrência de prolinfócitos, alterações citoplasmáticas e nucleares dos linfócitos; na medula óssea ha hiperplasia da série linfocítica.

Nota-se monocitose relativa, com acentuada microvacuolização citoplasmática.

Os plasmoblastos e plasmócitos circulantes existem nos varios períodos da moléstia.

É registada a presença de histiócitos nos sangue periférico, tradução da histiocitose mieloide.

SUMMARY

The bone-marrow culture is of the greatest value to the diagnosis of typhoid-fever, its sensibility during the feverish periods being absolute.

In the first weeks of the disease, it showed positive results in more than 80% of the cases.

We obtained positive results from the 8th to the 48th day of the disease. As a method for diagnosis, the bone-marrow culture proved to be much more sensible than the simple blood-culture.

The Widal reaction must always be made with "O" and "H" antigens. The authors present two cases where the diagnosis of typhoid fever could not be ascertained, although their "H" agglutinin rate was high.

Typhoid fever produces slight leucopenia, considering 7.077 leucocytes per cmm. as the medium rate during the diferent stages of the disease.

When the disease evolves with no complications, we may observe at first a quantitative decrease of the leucocytic rate, while in the last weeks, this rate rises to normal and even higher value; when complications occur, total rates are leucopenic.

Typhoid bacilli inhibit myeloid maturation: when no germs are present in the bone-marrow, global counts are high.

Generally there is a relative neutrophilia; in peripheric blood the presence of immature elements as myelocytes and metamyelocy-

tes occurs; also there is a remarkable number of stab and a decrease of segmented neutrophils. In addition we may observe the presence of toxic granulations, cytoplasmic and nuclear microvacuolation, protoplasmic basophilia, nuclear picnosis, Pelger-Huet nuclear anomaly, anisocytosis and poikilocytosis of the granulocytes.

The degenerative index falls with the advancing of the clinical course.

Parallel to the relative neutrophilia there is neutrophile hyperplasia in the bone-marrow, with preponderance of the more immature elements (promyelocytes) and a slightly anaplastic picture.

An absolute peripheral eosinopenia is observed in the first stages of the disease, with reappearance of the eosinophils in the last weeks; in the bone-marrow the eosinophile rate was normal or slightly increased during the whole course of the illness.

In the beginning of typhoid there is lymphopenia; from the 4th week on there is slightly prevailing lymphocytosis which persists during convalescence. In complicated cases lymphopenia persists to the last stages of the disease. Pro-lymphocytes appear and nuclear and cytoplasmic alterations of lymphocytes take place; in the bone-marrow there is hyperplasia of the lymphocytic line.

A relative monocytosis is observed, with marked cytoplasmic microvacuolation.

Plasmoblasts and plasmocytes appear in the various stages of the disease.

Histiocytes appear in peripheral blood as a result of myeloid histiocytosis.

ZUSAMMENFASSUNG

Die Knochenmarkskultur ist für die Diagnose des Typhus abdominalis von unschätzbarem Werte, da ihre Empfindlichkeit während der Fieberperiode sichergestellt ist.

Während der ersten Wochen der Krankheit zeigte die Knochenmarkskultur in mehr als 80% der Fälle ein positives Ergebnis.

Wir erhielten positive Ergebnisse vom 8-ten bis zum 48-ten Tage nach Beginn der Erkrankung. Die Knochenmarkskultur erwies sich als diagnostisches Mittel bedeutend empfindlicher als die einfache Blutkultur.

Die Widal-Reaktion soll stets mit den Antigenen O und H ausgeführt werden. Die Autoren beschreiben zwei Fälle, in denen die Diagnose des Typhus abdominalis nicht sichergestellt werden

konnte, obwohl beide einen erhöhten Wert an Agglutininen H aufwiesen.

Die Krankheit ist in ihren verschiedenen Perioden von einer leichten Leukopenie begleitet, ausgehend von 7077 als Mittelwert.

In dem Masze, als die Krankheit ohne Komplikationen fortschreitet, kann man zuerst eine Verminderung der Leukozyten feststellen, während in den letzten Wochen Normalwerte erreicht oder sogar überschritten werden. In Fällen mit Komplikationen ergeben sich Leukopenien.

Die Typhus-Bazillen behindern die Reifung des Knochenmarks. Wenn das Knochenmark frei von Bazillen ist, ergibt die Zählung hohe Werte.

Im allgemeinen findet man relative Neutrophilie mit Vorkommen von unreifen Elementen im peripheren Blute, wie: Meyelozyten und Metamyelozyten, Vermehrung der Stabförmigen und Verminderung der Segmentierten. Ferner findet man: toxische Granulationen, cytoplasmatische und nukleäre Mikrovakuolisierung, protoplasmatische Basophilie, nukleäre Piknose, Pelger-Huet-sche Kermanomalie und Aniso— und Poikilozytose der Granulozyten.

Der degenerative Index nimmt in dem Masze ab als die klinische Heilung fortschreitet.

Parallel mit der relativen Neutrophilie läuft Hyperplasie der Neutrophilen im Knochenmark mit Vorherrschen der unreifsten Elemente (Promyelozyten), bei leicht anaplastischem Bilde.

In den ersten Phasen der Erkrankung beobachtet man absolute periphere Eosinopenie, in den letzten Wochen der Krankheit Wiedererscheinen der Eosinophilen. Im Knochenmark findet man während des ganzen Krankheitsverlaufes Normalwerte oder leichte Erhöhung der Eosinophilen.

Zu Beginn der Typhus-Infektion herrscht Lymphopenie, von der 4-ten Woche an predominiert im allgemeinen eine leichte Lymphozytose, die auch in der Rekonvaleszens anhält. In den Fällen mit Komplikationen hält die Lymphopenie bis in die letzten Phasen der Krankheit an. Man findet Prolymphozyten und zytoplasmatische und nukleäre Veränderungen der Lymphozyten. Im Knochenmark herrscht Hyperplasie der Lymphozyten-Serie.

Es lässt sich eine relative Monozytose mit betonter cytoplasmatischer Mikrovakuolisierung feststellen.

Während der ganzen Krankheit finden sich Plasmoblasten und Plasmozyten.

Die Gegenwart von Histozyten im peripheren Blute ist als eine Auswirkung der Histozytose im Knochenmark anzusehen und als solche festgestellt.

BIBLIOGRAFIA

- 1 — SACKS & HACHTEL — 1941 — J. Lab. e Clin. Med. XXVI, 71.
- 2 — KAHN — 1941 — J. Lab. Cl. Med., XXVI, 139.
- 3 — CARVALHO LIMA — 1938 — Brasil Médico, LII — 1184.
- 4 — BIEN — 1924 — Cent. f. Bakt., XLIII, 196.
- 5 — CARVALHO LIMA — 1936 — Publicações Médicas, LXXXV, 6.
- 6 — ALESCA & MANOLIU — 1935 — Arch. Roum. Path. e Microb., VIII, 189. Cirur. XXXIX, 87.
- 6 — ALESCA & MANOLIU — 1935 — Arch. Roum. Path. e Microb. — VIII, 189.
- 7 — GILBERT, COLEMANN & LAVIANO — 1934 — J. Lab. e Clin. Med., XIX, 225.
- 8 — LEON C. HAVENS — 1935 — The bacteriology of Typhoid, salmonella and dysentery infectius, New York, The commonwealth, Fund.
- 9 — LANDAU & BAUER — 1940 — Presse Médicale, n.º 6, 71.
- 10 — NAEGELI, O. — 1921 — Blutkrank und Blutdiagnostik, Berlin, Spinger.
- 11 — SCHLLING — El cuadro Hematico y su valor en la clinica Labr. Barcelona.
- 12 — FIESCHI — 1938 — Semeiologia del midollo osseo Cooperativa, Pavia.
- 13 — FERRATA — 1938 — Le Emopatie — Soc. Ed. Lemb. Milano.
- 14 — ORIA, J. — 1934 — Comentaríos e observações sobre Plasmócitos e Elementos Plasmocitóides no sangue circulante. Rev. Assoc. Paul. de Med., 4,64-67.
- 15 — STORTI e DE FILIPPI — Ricerche morfologiche e batteriologiche sul midollo osseo dei malatti di ileotifo. Policlinico, Sez. Pratica, n.º 19, pg. 937.

BRUCELAS

Ação sobre nitrato

LÚCIA DE QUEIROZ TELES

Biologista do Instituto Adolfo Lutz

Não são desconhecidas dos que trabalham em Bacteriologia as controvérsias suscitadas pela prova da redução de nitrato pelas bactérias desde que, a partir das investigações de Maassen¹, em 1902, se tem empregado tal reação para a identificação bacteriana.

Tem variado os meios de cultura usados não só quanto à consistência, mas quanto à qualidade e quantidade dos ingredientes; tem sofrido certa variação os reagentes, qualitativa e quantitativamente; variadas tem sido as proporções entre reagentes e cultura; diferentes também tem sido os períodos de incubação do germe. É natural que, a tal diversidade de condições experimentais, tenham correspondido, conseqüentemente, diferentes resultados.

A maior confusão procede do fato que vamos expor, já considerado por Conn & Breed². A Comissão de Métodos Padrões de Exames de Água, da Saude Pública Americana, no relatório de 1905³ dava as seguintes instruções para o preparo do meio de cultura destinado à prova da redução de nitrato:

“Dissolver 1 gr. de peptona em 1 litro de água e juntar 2 grs. de nitrato de potássio isento de nitrito. É conveniente preparar solução estoque de nitrato de potássio dissolvendo 4 grs. de nitrato em 100 cc. de água destilada e usar 5 cc. desta solução na fórmula acima.”

A solução de nitrato na 1.^a sentença era, pois, a 0,2%; na 2.^a, a 0,02%. O relatório de 1912⁴, tentando corrigir tal discordância, ajustou a 1.^a sentença substituindo 2 grs. por 0,2 grs.. Por um lapso, entretanto, foi a 2.^a sentença também alterada: 4 grs. mudadas para 0,4 grs., dando uma solução a 0,002%. Daí a possibilidade de três diversas interpretações e, em consequência, a variação dos caldos-nitrato “standard” usados pelos diferentes bacte-

riologistas; apesar de descritos como "standard" ñem sempre se correspondem, acarretando, entãõ, resultados desencontrados.

Estabelecidas as razões dos divergentes resultados obtidos quanto à capacidade das bactérias reduzirem nitrato, passemos ao que, a respeito de tal ação redutora, se tem descrito sobre Brucelas. Bastante contraditórias são as publicações. Eyre⁵, Duncan & Whitby⁶ descrevem as Brucelas como não redutoras de nitrato. Para Meyer & Shaw⁷, Lustig & Vernoni⁸, Gay e colaboradores⁹, há ocasional redução. Segundo ZoBell & Meyer¹⁰ todas as amostras examinadas, num total aproximado de 400, reduziãõ nitrato vigorosamente. Evans¹¹ regista algumas amostras de *Br. abortus* e de *Br. melitensis* levemente redutoras e a maioria de *Br. bronchisepticus* negativa. Bergey¹², em 1930 e 1934, descreve as Brucelas como não redutoras mas, em 1939, diz que a *Br. melitensis* reduz nitrato, muitas vezes com completo desaparecimento de nitrito, acrescentando que, devido ao desaparecimento de nitrito, são aparentemente contraditórios os informes da literatura; *Br. abortus* e *Br. suis*, caracteres idênticos; *Br. bronchisepticus* muitas vezes positiva. Topley & Wilson¹³, em 1929, registam redução ocasional; porem, em 1936, baseando-se no trabalho de ZoBell e Meyer, consideram redutores todos os tipos. Hauduroy¹⁴ cita *Br. abortus* como inativa sobre nitrato e *Br. melitensis* redutora em meio semi-sólido. Em síntese: a confusão parece dissipar-se, aos poucos, após as publicações de ZoBell e Meyer, assentando-se como definitiva a redução de nitrato pelas Brucelas.

Verificando, em 1939, as amostras de Brucela da coleção do Instituto Bacteriológico, hoje Instituto Adolfo Lutz, seguimos as diretrizes do Manual de Métodos da Sociedade de Bacteriologistas Americanos¹⁵, quanto a meio de cultura, reagentes e técnica. Estabelecemos, preliminarmente, que cresciam muito bem em o caldo-nitrato alí recomendado; depois, realizando a prova, observamos que todas acusavam forte redução de nitrato a nitrito em culturas de 24 horas, salvo a *Br. melitensis*. Lembrando-nos da afirmativa de Topley e Wilson, que nitrito é também rapidamente reduzido pelas Brucelas de forma que a sua pesquisa em culturas em caldo-nitrato pode ser negativa, tentamos investigar a redução de nitrato a nitrito em culturas de 8 horas apenas, para os casos negativos acima. Foram, entãõ, todos positivos. Os nossos resultados eram, assim, concordes com os de ZoBell e Meyer no tocante à capacidade de as Brucelas reduzirem nitrato a nitrito; concluíamos, entretanto, não

ser indispensavel o emprego do agar semi-sólido por eles recomendado. O caldo-nitrato "standard" da Sociedade de Bacteriologistas Americanos satisfazia plenamente.

Recomeçando, há pouco, as observações feitas naquela ocasião, procuramos acompanhar, de hora em hora, o comportamento das Brucelas relativamente ao nitrato. Interessantes certos pontos notados e que passamos a relatar.

AMOSTRAS ESTUDADAS

Demos preferência a amostras conhecidas, de que no momento dispúnhamos.

Br. abortus procedente de Michigan, Estados-Unidos, Laboratório de Huddleson.

Br. abortus procedente de Buenos-Aires, Laboratório do Ministério de Agricultura.

Br. abortus 26.291, procedente do Instituto Butantã.

Br. abortus 26.131, procedente do Instituto Butantã.

Br. abortus procedente do Departamento de Indústria Animal e isolada por Alexandre Melo.

Br. melitensis 267, procedente da Argentina e isolada por Mazza na província de Catamarca.

Br. melitensis 236, procedente da Argentina e isolada por Mazza na província de Catamarca.

Br. suis procedente de Michigan, Estados-Unidos, Laboratório de Huddleson.

Br. suis procedente do Laboratório do Professor Carini.

TÉCNICA

Meio de cultura: caldo-nitrato recomendado pela Sociedade de Bacteriologistas Americanos.

Reagentes: soluções de ácido sulfanílico e de naftilamina alfa, ali recomendadas.

Proporção entre reagentes e cultura, idem.

Semeadura em diversos tubos, com alça de 2 mms. para que, sendo aproximadamente igual a quantidade de células, pudessem os resultados ser comparaveis. Incubação a 37°C..Pesquisa de nitrito de hora em hora.

Controle: tubos de caldo-nitrato não semeados, conservados em condições idênticas.

RESULTADOS

Por circunstâncias imprevistas precisamos interromper algumas vezes nossas observações, como se vê no quadro adiante. Mesmo assim, os resultados obtidos nos permitem estabelecer como definidos certos pontos:

1 — As *Br. abortus* e *Br. suis* reduziram fortemente nitrato a nitrito.

2 — As *Br. melitensis* deram reações mais fracas.

3 — A redução foi acusada por algumas amostras de Brucelas após 1 hora, apenas, de incubação.

4 — Após 5 horas de incubação todas as amostras revelaram redução.

5 — Até 18 horas os resultados assim se conservaram.

6 — A partir de 18 horas começou, para diversas amostras, o desaparecimento do nitrito formado, mas a prova do zinco revelava, ainda, quantidade mínima de nitrato.

7 — Antes de 48 horas as reações acusando desaparecimento de nitrito (salvo 1 de *Br. melitensis*) já não revelavam presença de nitrato.

8 — Três amostras de *Br. abortus* não mostraram desaparecimento do nitrito até 120 horas.

Os tubos-controle deram reação negativa com os reagentes para nitrito, provando ser o meio usado isento desse composto, e o seu aparecimento nos tubos da reação devido, portanto, à ação redutora do germe sobre o nitrato.

DISCUSSÃO

Quando se investiga a ação redutora bacteriana sobre nitrato, uma reação positiva com os reagentes para nitrito é de fácil conclusão. Trata-se de germe redutor de nitrato a nitrito, desde que se tenha empregado meio de cultura contendo nitrato e isento de nitrito.

A dificuldade consiste na interpretação das reações negativas; não autorizam conclusão imediata de não-redução de nitrato a nitrito.

Em face de reação negativa para nitrito procura-se, pela prova do zinco, evidenciar a presença de nitrato para se inferir se não houve redução ou se ela foi além de nitrito.

Se, ao lado de reação nitrito-negativa, tem-se reação positiva com o zinco provando não ter sido o nitrato reduzido, considera-se não-redutor de nitrato o germe. Certas ressalvas devem ser consideradas, entretanto: há a hipótese aventada por Conn¹⁶, fundamentada em observações pessoais, da perda temporária de capacidade redutora, do germe; há a hipótese de redução parcial de nitrato sem acumulação de nitrito, no caso de o germe ser capaz de reduzir ou consumir pequenas quantidades de nitrito; resta, ainda, a possibilidade de ser o meio de cultura impróprio ao crescimento do germe.

Sendo, ao contrário, negativa a reação do zinco ao lado de reação nitrito-negativa, diversas possibilidades se admitem: produção de hidroxilamina, segundo Lindsey & Rhines¹⁷, assimilação direta do nitrato sem prévia redução, redução do nitrato a nitrito seguida de assimilação deste sem se acumular em quantidades verificáveis, redução do nitrato a nitrito mas conversão rápida em amônia e nitrogênio, enfim uma série de alternativas possíveis.

É certo que tem sido propostos processos para decidirem algumas das dúvidas acima. Passagens sucessivas do germe em meio-nitrato para o caso de incapacidade redutora temporária. Determinação quantitativa do nitrato para a suspeita de redução parcial de nitrato sem acumulação de nitrito. Se o meio é impróprio, aumento de peptona quando o germe exige muita matéria orgânica, substituição por alguma forma inorgânica de nitrogênio em caso oposto, emprego de meio semi-sólido para germe microaerófilo ou agar inclinado para germe absolutamente aeróbio, ajuste da reação, etc.. Oxidação da hidroxilamina com iodo antes de se pesquisar nitrito, quando se suspeita ter sido produzida. No caso de redução de nitrato a nitrito e conversão rápida em amônia, pesquisa da mesma o que só teria valor em meio sintético porque em meio comum ela pode provir da peptona e não do nitrato; prova, portanto, só aplicável a germes que crescem em meio sintético. Há, ainda, o processo de Bronfenbrenner & Schlesinger¹⁸, consistindo no emprego, em conjunto, de meio com nitrato e meio com nitrito.

Apesar de todos estes recursos para eficiência da prova, não podemos deixar de reconhecer que só não traz complicações de técnica e dificuldades de interpretação a reação positiva com reagentes para nitrito. isto é, a do germe que imediatamente se revela redutor de nitrato. Conn e Breed dizem, categoricamente, que nenhum microorganismo pode seguramente ser chamado não-redutor

REDUÇÃO DE NITRATO A NITRITO

Horas	<i>Br. abortus</i> Michigan	<i>Br. abortus</i> B. Aires	<i>Br. abortus</i> 26.291	<i>Br. abortus</i> 26.131	<i>Br. abortus</i> I. Animal	<i>Br. melit.</i> 267	<i>Br. melit.</i> 236	<i>Br. suis</i> Michigan	<i>Br. suis</i> Carini
1	++	+	-	-	-	-	-	-	+
2	+++	++	±	-	-	-	-	±	+
3	++++	+++	+	±	±	-	±	+	++
4	++++	+++	++	+	+	-	±	++	+++
5	++++	+++	++	+++	++	+	+	++++	++++
6	++++	+++	+++	++	++	+	+	+++	++++
7	++++	+++	+++	+++	+++	++	+	++++	++++
8	++++	+++	+++	++	+++	+	+	+++	++++
9	++++	+++	+++	++	++++	++	+	+++	++++
10	+++	+++	+++	++	++++	+	+	++	++++
11	+++	+++	+++	++	++++	+	+	++	++++
12	+++	+++	+++	++	+++	+	+	++	+++
13	++++	++++	++++	++	+++	+	++	++	++++
14	++++	++++	++++	++	+++	+	++	++	++++
15	++++	++++	++++	++	+	+	++	+	++++
16	++++	++++	++++	++	+++	++	+	++	++++
17	++++	++++	++++	++	+++	++	++	++	++++
18	++++	++++	++++	+++	+	+	+	+	++++
19	++++	++++	++++	+++	nitrito - +	nitrito ± +	nitrito ± +	+	++++
20	++++	++++	++++	+++	nitrito - +	nitrito ± +	nitrito - +	nitrito ± +	++++
21	++++	++++	++++	+++	nitrito - +	nitrito - +	nitrito - +	nitrito ± +	++++
22	+++	++	++++	+++	nitrito - +	+	nitrito ± +	nitrito ± +	+++
23	++++	++++	++++	+++	nitrito - +	nitrito ± +	nitrito - +	nitrito - +	+++
24	+++	++	++++	+	nitrito ± +	nitrito - +	nitrito - +	nitrito - +	+++
25	++++	+	++++	+	nitrito - +	nitrito - +	nitrito - +	nitrito - +	++++
26	++++	++++	++++	++++	nitrito ± +	nitrito - +	nitrito - +	nitrito - +	++++
27	++++	++++	++++	++++	+	nitrito - +	nitrito - +	nitrito - +	++++
INTERRUPÇÃO									
43	++++	++++	++++	nitrito -	nitrito -	nitrito - +	nitrito - +	nitrito -	nitrito -
44	++++	++++	++++	nitrito -	nitrito -	nitrito - +	nitrito - +	nitrito -	nitrito -
45	+++	+++	+++	nitrito -	nitrito -	nitrito - +	nitrito - +	nitrito -	nitrito -
46	++++	++++	++++	nitrito -	nitrito -	nitrito - +	nitrito - +	nitrito -	nitrito -
47	++++	++++	++++	nitrito -	nitrito -	nitrito - +	nitrito -	nitrito -	nitrito -
48	++++	++++	++++	nitrito -	nitrito -	nitrito - +	nitrito -	nitrito -	nitrito -
INTERRUPÇÃO									
91	++++	++++	++++	nitrito -	nitrito -	nitrito -	nitrito -	nitrito -	nitrito -
92	++++	++++	++++	nitrito -	nitrito -	nitrito -	nitrito -	nitrito -	nitrito -
INTERRUPÇÃO									
120	++++	++++	++++	nitrito -	nitrito -	nitrito -	nitrito -	nitrito -	nitrito -

O número de cruzeiros indica a intensidade da reação.

± resultado duvidoso.

Nitrato + ou - indica presença ou ausência de nitrato evidenciada pelo zinco adicionado às reações nitrito-negativas.

de nitrato, exceto após exaustivas provas exigindo tempo demais para serem praticadas nas investigações bacteriológicas de rotina.

Parece-nos que se previniriam, em parte, tais inconvenientes, se fosse evitada a ocorrência das reações nitrito-negativas que, verificadas em prazo mais curto, teriam sido positivas. Pesquisa de nitrito, portanto, não em prova única em culturas de 24 e 48 horas e até de 5 dias, como se lê em muitos autores, mas em provas intercaladas com intervalos de poucas horas, a partir de algumas horas após a sementeira.

A Sociedade de Bacteriologistas Americanos já recomendou quatro determinações: após 1, 2, 4 e 7 dias. Julgamos, aliás, conveniente a verificação antes de 24 horas, conforme dissemos acima, em razão das observações que fizemos pesquisando nitrito, de hora em hora, em culturas de Brucelas em caldo-nitrato. Queremos justificá-la comentando o que observamos, conforme resumo atrás, sob o título RESULTADOS.

Primeiramente, concordaram as nossas observações com as de ZoBell e Meyer quanto à decidida capacidade redutora de nitrato a nitrito, das Brucelas.

Concordaram, também, quanto ao desaparecimento de nitrito, por eles considerado como redução; não averiguamos se corria por conta de assimilação ou de redução.

Quanto ao emprego do meio semi-sólido que propuseram como processo "standard" para a prova da redução de nitrato pelas Brucelas, devemos evidenciar que se prestou perfeitamente à nossa prova o caldo-nitrato recomendado pela Sociedade de Bacteriologistas Americanos.

É rápida a redução de nitrato a nitrito, pelas Brucelas, como indicam os resultados positivos para algumas amostras, após 1 hora, apenas, de incubação e, para todas, após 5 horas. De 5 até 18 horas todas as reações conservaram-se positivas pelas provas feitas de hora em hora, isto é, acusaram presença de nitrito. A partir daí começaram diversas a não mais revelar este composto. Vê-se, então, a vantagem em se efetuar a prova com menos horas de incubação do que se costuma. ZoBell¹⁹, por exemplo, diz que a *Br. suis* destrói o nitrito quando formado e que só em intervalos irregulares a sua concentração é suficientemente alta para dar prova positiva, mesmo com reagentes sensíveis. Entretanto, parece-nos que a determinação em prazo mais curto nos permitiu precisar mais exatamente o que se passa: nossas reações com *Br. suis*

acusaram redução do nitrato a nitrito a partir da 1.^a ou 2.^a hora de incubação, *sem desaparecimento do nitrito durante as primeiras 18 horas*. Só então uma das amostras começou a dar reação duvidosa e, finalmente, negativa em 23 horas; a outra deve ter sido negativa ao fim de 36 horas, aproximadamente, a julgar-se pelos resultados de 27 e de 43 horas.

Verificamos, também, que as reações não mais revelando presença de nitrito após 18 horas, acusavam, ainda, nitrato, pela prova do zinco, durante muitas horas, em quantidade mínima, conforme o evidenciava a intensidade fraquíssima da reação. Mais tarde, já não revelavam nitrito nem nitrato. Tal fato sugere que a mínima porção de nitrato ainda existente era assimilada diretamente, sem redução, ou que o nitrito formado não se acumulava em quantidades verificáveis, quer fosse assimilado, quer reduzido. Somente provas suplementares, muitas vezes complicadas, poderiam dar a tais reações interpretação exata. Delas se prescindiria fazendo-se as determinações propostas, isto é, em mais curto prazo, quando nitrito ainda presente.

Outro ponto relatamos: ZoBell e Meyer mencionam redução de nitrato a nitrito, mais forte para a *Br. abortus* do que para a *Br. melitensis*, justificando-a como sendo a última espécie mais ativa redutora do nitrito formado. Também as nossas reações foram, indiscutivelmente, mais fracas com as *Br. melitensis* do que com as *Br. abortus* e *Br. suis*. Contudo, notamos que, quando as demais Brucelas já não acusavam nitrito nem nitrato, as *Br. melitensis* não acusavam nitrito porém não haviam, ainda, esgotado a fonte de nitrato. Esta observação permite admitir-se a *Br. melitensis* como menos intensa redutora de nitrato do que a *Br. abortus* e a *Br. suis*, mas não autoriza considerá-la mais ativa redutora de nitrito.

Ainda uma chamada: Três amostras de *Br. abortus*, entre as 5 experimentadas, conservaram-se positivas até 5 dias de observação, isto é, não acusaram desaparecimento do nitrito formado. Não nos foi possível continuar a observação. Seriam de ação redutora de nitrito nula ou lenta, ou teria o fato relação com o efeito tóxico de altas concentrações de nitrito sobre a *Br. abortus*, referido por ZoBell e Meyer? Não é impossível a última hipótese, porquanto se trata exatamente das amostras que apresentaram reações mais fortes de redução de nitrato. Talvez tenham sido posteriormente impedidas pelo nitrito acumulado.

CONCLUSÕES

1 — *Br. abortus*, *Br. melitensis* e *Br. suis* reduzem nitrato a nitrito em o caldo-nitrato recomendado pela Sociedade de Bacteriologistas Americanos.

2 — *Br. abortus* e *Br. suis* dão reações fortes de redução de nitrato; *Br. melitensis*, fracas.

3 — A redução do nitrato a nitrito pelas Brucelas é rápida, tendo se manifestado, para algumas amostras, após 1 hora de incubação e, para todas, após 5 horas.

4 — Há desaparecimento do nitrito formado a partir, em diversos casos, de 18 horas. Contudo, três amostras de *Br. abortus* reduzindo fortemente nitrato a nitrito, não acusaram desaparecimento posterior de nitrito, durante 5 dias de observação.

5 — Considerando as complicações de técnica e dificuldades de interpretação de resultados decorrentes das reações nitrito-negativas dos germes, em meio com nitrato; considerando, ainda, que muitas dessas reações seriam positivas se verificadas em mais curto prazo, propõe-se, para germes que crescem bem em o caldo-nitrato acima referido, a verificação da redução de nitrato diversas vezes, com intervalos de poucas horas, a partir de algumas horas após a semeadura.

RESUMO

Estudando a A. amostras de *Br. abortus*, *Br. melitensis* e *Br. suis*, relativamente à sua ação sobre nitrato, conclue que todas reduzem, rapidamente, nitrato a nitrito em o caldo-nitrato recomendado pela Sociedade de Bacteriologistas Americanos. Observou redução após 1 hora de incubação para algumas amostras e, para todas, após 5 horas.

Verifica que as *Br. abortus* e *Br. suis* dão reações fortes de redução de nitrato a nitrito que, ao contrário, são fracas com as *Br. melitensis*.

Verifica, também, que há desaparecimento do nitrito formado, a partir, para diversos casos, de 18 horas, o que não se deu, entretanto, durante 5 dias de observação, com três amostras de *Br. abortus* fortemente redutoras de nitrato a nitrito.

Considerando as complicações de técnica e dificuldades de interpretação de resultados decorrentes das reações nitrito-negativas dos germes, em meio com nitrato; considerando, ainda, que muitas dessas reações seriam positivas se verificadas em mais curto

prazo, propõe, para germes que crescem bem em o caldo-nitrato acima referido, a pesquisa de nitrito em provas repetidas, com intervalos de poucas horas, a partir de algumas horas após a semeadura.

SUMMARY

A number of strains of *Br. abortus*, *Br. melitensis* and *Br. suis* has been tested concerning the nitrate reduction.

According to the author, nitrate is rapidly reduced to nitrite by all of them when tested in the nitrate-broth recommended by the Society of American Bacteriologists. Reduction has been noted after one hour's incubation with some strains, but after five hours' incubation they all showed reduction.

The reactions given by the abortus and suis types are much stronger than by the melitensis strains.

Further analyses show that the nitrite disappears; this begins after 18 hours' incubation with some strains. However, three strains of *Br. abortus*, which reduced vigorously nitrate to nitrite, did not exhibit disappearance of nitrite under identical conditions, for the five days during which they were under observation.

Because of the complicated technic and the difficulty in interpreting results when the nitrite reaction given by the microorganism in a medium with nitrate is negative; also, because many of these reactions would be positive if they were verified earlier, the following is suggested by the author. If the microorganism grows well in the above-mentioned nitrate-broth, testing for nitrite would begin some hours after the inoculation. Furthermore several tests would be made, at intervals of some hours.

REFERÊNCIAS

- 1 — MAASSEN, A. — 1902 — *Arb. a. d. kaiserlichen Gsndhtsamte*, 18, 20.
- 2 — CONN, H. J. & BREED, R. S. — 1919 — *Jour. Bact.*, 4, 267-290.
- 3 — AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION — 1905 — Cit. em Conn. H. J. e Breed, R. S. — 1919 — *Jour. Bact.*, 4, 267-290.
- 4 — AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION — 1912 — "Standard Methods for the Examination of Water and Sewage", 2a. ed., 135.
- 5 — EYRE, J. W. H. — 1912 — "Handb. d. path. Mikroorg.", Kolle, W. e Wassermann, A., 4, 423.
- 6 — DUNCAN, J. T. & WHITBY, L. E. H. — 1930 — "A System of Bacteriology", Medical Research Council, 5, 397.

- 7 — MEYER, K. F. & SHAW, E. B. — 1920 — *Jour. Inf. Dis.*, 27, 173-184.
- 8 — LUSTIG, A. P. & VERNONI, G. — 1928 — “Handb. d. path. Mikroorg.”, Kolle, W. e Wassermann, A., 4, 520.
- 9 — GAY, F. P. & COLABORADORES — 1935 — “Agents of Disease and Host Resistance”, 712.
- 10 — ZOBELL, C. E. & MEYER, K. F. — 1932 — *Jour. Inf. Dis.*, 51, 99-108.
- 11 — EVANS, A. C. — 1918 — *Jour. Inf. Dis.*, 22, 580-593.
- 12 — BERGEY, D. H. — 1930 — “Manual of Determinative Bacteriology”, 3.a ed., 366; 1934 — 4.a ed., 398; 1939 — 5.^a ed., 302.
- 13 — TOPLEY, W. W. C. & WILSON, G. S. — 1932 — “The Principles of Bacteriology and Immunity”, 1, 513; 1936 — 2.a ed., 639.
- 14 — HAUDUROY, P. — 1937 — “Dictionnaire des Bactéries Pathogènes”, 84.
- 15 — SOCIETY OF AMERICAN BACTERIOLOGISTS — 1936 — “Manual of Methods for Pure Culture Study of Bacteria”, v₃₄ 16.
- 16 — CONN, H. J. — 1936 — *Jour. Bact.*, 31, 225-233.
- 17 — LINDSEY, G. A. & RHINES, C. M. — 1932 — *Jour. Bact.*, 24, 489-492.
- 18 — BRONFENBRENNER, J. & SCHLESINGER, M. J. — 1920 — *Abstracts of Bacteriology*, 4, 2-3.
- 19 — ZOBELL, C. E. — 1932 — *Jour. Bact.*, 24, 273-281.

CULTURA DE LEISHMÂNIAS (*)

ETTORE RUGAI

Biologista do Instituto Adolfo Lutz

A finalidade deste trabalho é propôr um meio e descrever a técnica que usamos para cultura de leishmânias patogênicas para o homem.

Os protozoários patogênicos para os animais, quando fóra do organismo hospedeiro, exigem, para subsistir, condições muito mais precisas do que as bactérias. Porisso, sua cultura IN VITRO é sempre mais difícil.

Em 1904, Rogers, pela primeira vez, obteve cultura de leishmânias partindo de material obtido por punção do baço de doentes de kala-azar.

O meio era constituído pelo próprio sangue resultante da punção, adicionado de citrato de sódio como anti-coagulante. Resultados inconstantes e sub-culturas negativas. Posteriormente, acidificando o meio com ácido cítrico e determinando a temperatura ótima para desenvolvimento (22°C.), Rogers conseguiu culturas com mais facilidade. Christophers, Chatterjee, MacKenzie, Leishman e Stathan confirmam os trabalhos de Rogers.

Nicolle, em 1908, estudando o kala-azar, empregou o meio que Novy e Novy e McNeal empregavam para a cultura de tripanosomas (agar nutritivo com um terço de sangue). Os resultados foram superiores aos de Rogers. Sub-culturas positivas.

Eliminando a carne e a peptona do meio de Novy e McNeal, Nicolle, em estudos ulteriores, preparou um meio que, pela sua simplicidade e eficiência chegou incólume até nossos dias. Este meio, conhecido universalmente como meio N. N. N., é largamente empregado em primo-culturas, conservação e estudos biológicos das diversas espécies de leishmânias.

Com a dupla finalidade de fixar os elementos constituintes e afastar contaminações eventuais, Mathis propôs o aquecimento do

(*) Este trabalho foi realizado com raças de leishmânias fornecidas pelo Dr. Luis de Sales Gomes.

meio. Legroux, Salle e Schmidt, Berrebi e nossas próprias pesquisas demonstraram a nocividade do aquecimento.

Parrot e Donatien, Nattan e Grimard, adicionando solução isotônica de cloreto de sódio à água de condensação do meio de Nicolle, conseguem aumentar a longevidade das culturas. Este fato também constatamos.

Kliger, substituindo o soro do meio de Noguchi (para leptospira) por sangue desfibrinado de coelho, obteve bons resultados em primo-culturas. Usa o meio de Noguchi original para conservação, obtendo repiques positivos mesmo depois de seis meses, cobrindo o meio com parafina líquida. Noguchi, Noguchi e Lindenberg, Buss, confirmam os trabalhos de Kliger.

Os meios acima mencionados, satisfatório para primo-culturas e entretenimento das espécies, não o são para produção de abundantes culturas como é necessário para a preparação de grandes quantidades de antígenos e vacinas. Para preencher a lacuna e para estudos bio-morfológicos, muitos meios foram propostos. Alguns líquidos: Laveran e Pettit, Row, Salle, Salle e Schmidt, Lwoff. Outros sólidos: Tanabe, Mayer e Ray, Row, Senekje, Salle, Noeller.

Bianchi, Berrebi, Anderson, tentaram culturas em soro-leite com resultados negativos. O leite, segundo Barraud, Christophers e Barraud, Anderson, por si só ou como substituto do sangue na base N. N. N. é medíocre. Entretanto, segundo Bianchi, Laurin-sich, é de valor como adjuvante nos meios com sangue.

Dos trabalhos consultados deduz-se que o sangue total é imprescindível para se conseguirem culturas abundantes. Qualquer elemento do sangue, isoladamente empregado, é inútil. A riqueza das culturas aumenta proporcionalmente à porcentagem do sangue. Entretanto, há um limite que varia, segundo os autores, entre 15 e 30% — Pedroso, Salle, Salle e Schmidt. Estes últimos autores concluem que acima de 15% as culturas empobrecem e que o impedimento corre por conta do soro.

Ray, Leiva, constataram que a porcentagem ótima de sangue varia com a concentração do agar. Assim, com 0,5% de gelose o ótimo de sangue é 5% e com 2% de gelose é necessário aumentar o sangue para 25%.

Ray, Kliger, Salle e Schmidt, Lwoff, Senekje, estabeleceram o pH ótimo entre 7,0 e 7,4. Berrebi entre 6,0 e 6,5. Napier estabeleceu 5,7 como ótimo na zona ácida e 7,3 na alcalina e sugere o

uso do meio N.N.N. com pH 5,7 como seletivo para isolamento de leishmânias, uma vez que sejam feitos estudos de confirmação.

Com relação à pressão osmótica do meio Barraud, Christophers e Barraud, Pedroso, são partidários da hipotonia. Berrebi conclue, contrariamente, que a hipertonia é favorável, apontando 15_{0/00} como porcentagem ótima de NaCl. Este autor, porém, não fez estudos com porcentagens de NaCl entre 7,5 e 15 _{0/00}.

PARTE TÉCNICA. MEIO DE CULTURA

Constituintes:

1 — Infusão de carne	250 cc.
2 — Extrato de batatas	80 cc.
3 — Cloreto de sódio	12,0 grms.
4 — Agar	25,0 grms.
5 — Água destilada	1000 cc.
6 — Sangue desfibrinado de coelho	
7 — Sol. de cloreto de sódio a 1.2 0/00, esteril.	

I — *Preparação da infusão de carne:*

Carne de vaca sem gordura	1.000,0 grms.
Água destilada aquecida a 80°C.	1.000 cc.

Passar a carne na máquina, juntar a água e agitar imediatamente. Deixar em contacto durante 3 a 4 horas agitando várias vezes. Decantar, espremer o resíduo. Reunir os líquidos, ferver 10 minutos, filtrar e completar o volume de 1.000 cc.. Distribuir em balões e esterilizar a 110°C se não fôr usado no mesmo dia.

II — *Preparação de extrato de batatas:*

Batatas	500,0 grms.
Água destilada	1.000 cc.

Descascar as batatas, cortá-las em fatias de 3 a 4 mm. de espessura, juntar a água. Autoclavar 20 minutos a 110°C.. Decantar, lavar o resíduo com água suficiente para completar 1.000 cc. com o primeiro líquido. Filtrar enquanto quente. Distribuir em balões e esterilizar a 110°C. 20 minutos para guardar em estoque.

III — Fundir o agar com a água a 121°C. 20 minutos. Ajustar a infusão de carne, extrato de batatas e o cloreto de sódio. Ajustar ao pH 6,6 a 6,8. Não é necessário filtrar.

Distribuir 100 cc. em cada frasco de Roux de 1.000 cc. (ou em balões com 1 litro para guardar em estoque). Esterilizar a 110°C. 20 minutos.

Esfriar os frascos a 58°C.. Colocar em cada um 18 a 20 cc. de sangue. Agitar sem fazer bolhas. Deitar os frascos e deixar em repouso durante 24 horas. Em seguida, colocar em cada frasco 20 cc. de solução de cloreto de sódio a 12 o/100 (Bloch citado por Zdrodowski e Woskressenski). Deixar em repouso mais 24 horas antes de fazer a sementeira.

IV — *Sementeira*: Os próprios frascos de Roux podem fornecer culturas para as sucessivas sementeiras. Entretanto, para maior comodidade e para diminuir as contaminações, é preferível seguir a seguinte técnica:

Em balões de Erlenmeyer de 100 cc., colocar 10 a 12 cc. do meio acima descrito. Deixar 24 horas em repouso. Em seguida colocar 6 cc. de solução de cloreto de sódio a 12 o/100. Deixar em repouso mais 24 horas. Inocular e incubar a 22°C.. Após uma semana, a cultura está suficientemente desenvolvida. Com uma pipeta de 10 cc., colocar em cada balão 5 cc. de sol. de cloreto de sódio a 12 o/100, agitar, aspirar todo o líquido e transportá-lo para um frasco de Roux. Incubar a 22°C. conservando os frascos em posição horizontal. Com 24 horas de incubação, já se podem observar numerosas granulações flutuando na massa líquida, constituídas de leishmânias.

Entre 10 e 15 dias pode-se fazer a colheita. Para isso, remover a parte líquida, lavar a superfície do meio duas ou três vezes com solução fisiológica, reunir os líquidos e centrifugar. As leishmânias, de mistura com algumas hemátias e detritos do meio, podem ser separadas por centrifugação e filtração e algodão esteril.

OBSERVAÇÕES:

O pH da base oscila entre 6,6 e 6,8. Depois de adicionado o sangue, sobe a 7,2 — 7,3. A solução de cloreto de sódio adicionada, uma vez estabelecido o equilíbrio físico-químico, tem a mesma concentração hidrogeniônica da parte sólida. Este fato vem facilitar muito a determinação do pH do meio depois de preparado. Napier determina colorimetricamente o pH do meio de N. N. N., dializando a água de condensação em solução fisiológica neutra na qual faz as

pesquisas. Dispensámos a diálise e dosámos diretamente o líquido ao potenciômetro ou colorimetricamente, pois apresenta-se fracamente colorido.

Dada a ampla superfície de contacto com o meio sólido, a parte líquida recebe facilmente, por difusão, as substâncias nutritivas e, distendendo-se em fina camada, oferece condições ótimas para a multiplicação das leishmânias.

A prática mostrou-nos que os meios recentemente preparados produzem culturas mais ricas. Porisso, preferimos semear os frascos sem prévio controle de esterilidade, que exige pelo menos 48 horas de estufa a 37°C.. Quando o líquido superficial fica muito avermelhado, as culturas são mais pobres. Parece que a hemoglobina em excesso é tóxica. Recomendamos, portanto, afastar todas as causas que provocam a lise das hemátias.

Usámos 10, 15, 20 e 25% de sangue. As culturas enriquecem com o aumento do sangue.

O sangue, de gato, carneiro, galo e cão podem substituir o de coelho.

Uma leve hipertonia favorece a cultura.

A batata foi incluída no meio, porque revelou-se precioso elemento. Estimula a multiplicação, aumentando consideravelmente a riqueza das culturas.

A Comissão de estudos da Leishmaniose, eficientemente dirigida pelo prof. Dr. Samuel B. Pessôa e Dr. Bruno Rangel Pestana, usa rotineiramente o meio acima descrito, para preparar vacinas e antígenos empregados nos trabalhos de combate a essa endemia.

Os resultados, segundo a referida Comissão, são grandemente superiores aos obtidos com o meio N. N. N., inicialmente usado.

RESUMO

Foi descrito um meio e a técnica para cultura de leishmânias. O método produz culturas abundantes para preparação de antígenos e vacinas.

O pH do meio concluído pode ser determinado por intermédio da parte líquida do meio.

A batata estimula o crescimento.

SUMMARY

In the present paper a medium and the technic for the culture of leishmania are described.

This method gives abundant cultures for the preparation of vaccines and antigens.

The pH of the finished medium may be determined by means of the liquid part.

The potato stimulates de growth.

ZUSAMMENFASSUNG

Man hat einen Nährboden und die Technik für die Kultur von Leishmanie beschrieben.

Die Methode liefert üppige Kulturen für die Vorbereitung von Antigene und Vakzine.

Das pH des fertigen Nährbodens kann durch den flüssigen Teil bestimmt werden.

Die Kartoffel beschleunigt das Wachstum.

* * *

Externamos, aquí, os nossos reconhecimentos ao Snr. Dr. Bruno Rangel Pestana, pelo apoio que nos deu para a realização deste trabalho.

BIBLIOGRAFIA

- ADLER, S. — 1934 — *Trns. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.* 28, 201 (ref. no Central Blatt — 1935 — 116, 174).
- ANDERSON, C. — 1935 — *Arch. Inst. Pasteur de Tunis*, 24, 130.
- ANDERSON, C. — 1933 — *Arch. Inst. Pasteur Tunis*, 21, 294.
- ARCHETTI, I. — 1938 — *Arch. f. Schiffs-Trop-Hyg.*, 42, 547.
- BANERJEE, D. N. — 1923 — *Calcutta Med. Journ.* 18, 417.
- BARRAUD, J. P. — 1925 — *Ind. Jour. Res.* 13, 177.
- BERREBI, J. — 1936 — *Arch. Inst. Pasteur de Tunis*, 25, 89.
- BIANCHI, L. — 1936 — *Arch. f. Schiffs-Trop-Hyg.*, 40, 146.
- BUSS, G. — 1929 — *Arch. f. Schiffs-Trop.Hyg.*, 33, 65.
- CHATTERJEE, G. C. — 1905 — *The Lancet*, Janeiro, 16.
- CHRISTOPHERS, S. R. — 1905 — *Scien. Mem. Gov. of. Ind.*, n.º 15.
- CHRISTOPHERS, S. R. e BARRAUD, J. P. — 1925 — *The Ind. Jour. Med. Res.*, 13, 176.
- CRISTINA, G. e CANNATA, S. — *VTVJ — Gazz. Osp. Clin.* 48 (ref. no Bull. Inst. Pasteur 1910, 8, 682).
- FRANCHINI, G. — 1922 — *Bull. Soc. Path. Ex.*, 15, 551.
- HOFFMANN, J. M. e SCHULTZ, Th. W. — 1931 — *Arch. f. Schiffs-Trop-Hyg.*, 35, 700.
- KLIGER, J. I. — 1924 — *Am. Jour. Trop. Med.*, 4, 69.
- LAURINSICH, A. — 1937 — *Pediatrics* 45, 857 (ref. no Bull. Inst. Pasteur 1939).
- LAVERAN, A. e PETTIT — 1910 — *C. R. Soc. Biol.*, 68, 114.

- LEGRAUX, R. — 1921 — C. R. Ac. Sci. 173, 1423.
- LEISHMAN, W. B. e STATHAN, J. C. B. — 1905 — Jour. R. Army Med. Sorps. (ref. no Bull. Inst. Pasteur, 367).
- LEIVA, L. — 1922 — The Philippine Jour. of. Scien. 20, 179.
- LWOFF, M. — 1939 — C. R. Soc. Biol., 130, 406.
- LWOFF, M. — 1933 — Ann. Inst. Pasteur, 51, 55.
- MATHIS, C. — 1911 — C. R. Soc. Biol., 71, 538.
- MACKENZIE, J. — 1905 — Jour. R. Arm. Med. Corps. 5, 628 (ref. no Bull. Inst. Pasteur, 1905).
- MATHIS, C. — 1906 — C. R. Soc. Biol., 61, 550.
- MAYER, M. e RAY, J. C. — 1928 — Arch. f. Schiffs-Trop-Hyg., 32, 277.
- NAPIER, L. E. — 1924 — Ind. Jour. Med. Res. 11, 733.
- NAPIER, L. E. e MURUGESAN, P. — 1924 — Ind. Jour. Med. Res., 11, 1219.
- NATHAN, L. e GRIMARD, L. — 1934 — Bull. Soc. Path. Ex., 27, 656.
- NICOLLE, C. — 1908 — Bull. Soc. Path. Ex., I, 121.
- NICOLLE, C. — 1908 — C. R. Ac. Sci., 140, 842 (ref. no Bull. Inst. Pasteur — 1908 — 6, 421).
- NICOLLE, C. e MANCEAUX, L. — C. R. Soc. Biol., 70, 712.
- NOGUCHI, H. — 1924 — Proc. int. Conf. on Health Problems in Trop. Am. 455 (ref. no Trop. Dis. Mull. 1925, 693).
- NOGUCHI, H. e LINDENBERG, A. — 1925 — Am. Jour. Trop. Med., 5, 63.
- NÖLLER, W. — 1917 — Arch. f. Schiffs-Trop-Hyg., 21, 53.
- NOVY, F. G. — 1903 — Contr. to Med. Res., pg. 549 (ref. no Bull. Inst. Pasteur 1903, pg. 602).
- NOVY, F. G. e MACNEAL, W. J. — 1904 — Jour. of. Am. Med. Ass., 21 novembro (ref. no Inst. Pasteur Paris, 1904, 60).
- NOVY, F. G. e MACNEAL, W. J. — 1904 — Jour. Inf. Dis., 1, 2 janeiro.
- NOVY, F. G. — 1905 — Jour. Inf. Dis., 2, 256.
- PESSOA, S. B. e PESTANA, B. R. — 1940 — S. Paulo Médico, vol. II ns. 5 e 6.
- PEDROSO, A. — 1923 — Am. Jour. Trop. Med., 3, 47.
- PARROT, L. e DONATIEN, A. — 1935 — Soc. Pathol. Ex., 28, 39.
- RAY, J. C. — 1932 — Ind. Jour. Med. Res., 20, 355.
- ROW, R. — 1912 — British Med. Jour., 1119.
- ROW, R. — 1930 — Ind. Med. Gaz., 65, 319.
- ROW, R. — 1935 — Bull. Soc. Path. Exo., 28, 269.
- ROGERS, L. — 1904 — The Lancet, 215.
- ROGERS, L. — 1905 — The Lancet, I, 1484.
- ROGERS, L. — 1906 — Roy. Soc., 57, 284 (ref. no Bull. Inst. Pasteur de Paris, 1906 — 4, 349).
- SALLE, A. J. e SCHMIDT, C. L. A. — 1928 — Jour. Inf. Dis., 43, 378.
- SALLE, A. J. — 1931 — Jour. Inf. Dis., 49, 473.
- SALLE, A. J. — 1931 — Jour. Inf. Dis., 49, 481.
- SAITO, Y. — 1937 — Jour. Orient. Med., 36, 9 (ref. no Bull. Inst. Pasteur 1938, 26, 1044).
- SENEKJE, H. A. — 1939 — Tr. Roy. Soc. Trop. Med. and Hyg., 33, 267.
- SHORTT, H. E. — 1923 — Ind. Jour. Med. Res., 10, 1164.
- TANARE, M. — 1923 — Jour. of. Bact. Janeiro (ref. no Trop. Dis. Bull. pg. 723).
- YEN, A. C. H. e CHUNG — 1934 — Proc. Soc. Exp. Med., 30, 1258.
- ZDRODOWSKY, P. e WOSKRESSENSKI, B. — Bull. Soc. Path. Ex., 23, 1023.

DIAGNÓSTICO SOROLÓGICO DA MONONUCLEOSE INFECTUOSA

(FEBRE GANGLIONAR DE PFEIFFER)

MANOEL DE BRITO E SILVA

Biologista do Instituto Adolfo Lutz

A Mononucleose infectuosa observada primeiro por Filatow¹ (1885), pediatra russo, foi descrita por Pfeiffer², em 1889, que a denominou "Febre ganglionar". Moléstia infectuosa aguda, ataca de preferência crianças e jovens, caracterizando-se por febre, entumecimento dos gânglios axilares. A doença tem, sempre, evolução favorável. Nesse trabalho o autor assinala a frequência das "epidemias caseiras". Verificado um caso, raramente escapam as outras crianças da casa.

Inúmeros trabalhos confirmam essas observações e trazem novas luzes sobre o assunto, destacando-se os de Korsakoff³, Lublinsky⁴, Terflinger⁵, Schleissner⁶ e Jones⁷. Outros, como Comby⁸ na França e Neumann⁹ na Alemanha (1891), contestam-nas.

Desplats¹⁰ em 1894 verifica em primeiro lugar que os gânglios inguinais e axilares em geral também aumentam de volume. Em 1896 Park West¹¹ publica um trabalho sobre 96 casos observados em 3 anos, numa epidemia ocorrida no distrito de Ohio e que foram os primeiros estudados na América. Botschkowsky¹² relata uma epidemia, talvez a única em adultos, encontrada num batalhão de soldados. Na Inglaterra, o primeiro trabalho sobre febre ganglionar é de Dawson Williams¹³, publicado em "The Lancet" em 1897. Em 1908 Pfeiffer¹⁴ faz nova comunicação sobre a moléstia, nada porém ajuntando de novo.

Com os primeiros exames hematológicos de Deussing¹⁵, surgiu, em 1918, nova fase para um conhecimento mais perfeito da doença, que se apresenta com uma sintomatologia bastante complexa. Mais tarde, em 1920, Sprunt & Evans¹⁶ denominam "Mononucleose infectuosa" a uma afecção, cujo quadro se apresenta idêntico ao de uma infecção aguda, com ligeira reação ganglionar, discreta esplenomegalia, e quadro hematológico caracterizado por

leucocitose, com aumento dos mononucleares. Tidy & Morley¹⁷ (1921) estudam quadro idêntico, por ocasião de uma epidemia, que identificam como sendo o da Febre ganglionar de Pfeiffer.

Schultz¹⁸, Baader¹⁹ e Deussing¹⁵ descrevem casos semelhantes quanto à parte clínica e hematológica, denominando-os “Angina monocítica”.

Chevallier²⁰ que fez as primeiras observações na França (clínicas e hematológicas) deu-lhe o nome de “Adenolinfoidite aguda”.

Aparecem, então, numerosos trabalhos, salientando-se os estudos sobre as modificações provocadas no sangue e os sintomas predominantes da moléstia. Glanzmann²¹ (1930), numa exaustiva monografia, muito contribue, principalmente na parte hematológica. Lehndorff²² e Schwarz²³ (1932), além da parte hematológica, descrevem duas formas para a moléstia de Pfeiffer, segundo a predominância de sintoma: 1.º) Tipo ganglionar ou de Pfeiffer. 2.º) Tipo anginoso (angina monocítica). Tidy²⁴ (1934) ajuntou um 3.º tipo — o febril —, no qual o sintoma principal é a febre, sendo este o tipo mais frequente nas epidemias.

Entre nós, só depois de 1930, com a 1.ª observação apresentada pelo Prof. Carini²⁵, e, em seguida, a do Prof. Annes Dias²⁶, é que a classe médica teve a atenção despertada para o assunto.

Assim, em ordem cronológica, aparecem depois os trabalhos de Mário E. Souza Aranha²⁷ (1931), que, dentre as seguintes denominações: “Febre ganglionar de Pfeiffer”, “Linfocitose sub-linfêmica” de Türk, “Mononucleose infectuosa” de Sprunt & Evans, “Angina monocítica” de Schultz e Baader, “Linfoadenose aguda” de MacKinley & Downey e “Adenolinfoidite aguda” com hiperleucocitose moderada e forte mononucleose de Chevalier, propõe a denominação de “Moléstia de Pfeiffer-Türk”. Vem depois A. Nupieri²⁸ (1932). Em seguida, J. Leme Fonseca²⁹ (1932) descreve uma forma, segundo Glanzmann, rara em criança — “Forma icterica da moléstia de Pfeiffer”. Em 1933, Paulo Saes³⁰ publica um trabalho — “Febre ganglionar de Pfeiffer” — onde se refere à súmula feita por Mário Ottoni de Rezende³¹, sobre um trabalho de Schultz. Descreve os sintomas da doença e faz referência sobre o quadro hematológico característico.

Nenhum trabalho, entretanto, havia sido feito entre nós sobre a parte hematológica, até 1936. É J. Oria³² que, nesse ano, nos traz a primeira contribuição, num estudo de duas centenas de casos. Mais tarde, em 1939, o mesmo autor, em colaboração com M. Jan-

ra³³, faz o estudo aprofundado das modificações sanguíneas que caracterizam a Febre ganglionar de Pfeiffer ou Mononucleose infectuosa, designação esta preferida não só pelos autores acima mencionados como pela maioria dos autores americanos, franceses e alemães, e também por nós, neste trabalho, porque em todas as suas formas a doença apresenta um traço comum — a mononucleose sanguínea — e, como veremos mais adiante, a Reação de Paul-Bunnell positiva.

Passadas, assim, em breve revista as bases em que se assentam, até então, as características da Mononucleose infectuosa, vamos agora entrar na parte que nos interessa mais de perto e que constitui o motivo deste trabalho.

Novos horizontes se abrem para o laboratório, após os trabalhos de Paul & Bunnell³⁴ (1932) e as pesquisas de Davidsohn³⁵ (1935), que inauguram a fase sorológica da Mononucleose infectuosa. Vimos como é variada a sintomatologia desta afecção. Em sua forma típica, entretanto, apresenta características bem definidas, que a diferenciam dos outros quadros mórbidos, embora afirme Demanche³⁶ (1939), outro autor que escreveu sobre o valor da reação sorológica na Mononucleose infectuosa, “o quadro clínico está longe de apresentar esta nitidez”. Ao lado de formas sem angina, há formas onde não se verifica aumento dos gânglios e formas com adenopatia localizada: cervical, axilar, inguinal, torácica, abdominal (gânglios mesentéricos), simulando, mesmo, uma infecção aguda do abdômem. Verificam-se, outrossim, formas esplênicas, hepato-esplênicas, ictericas, com sintomas gerais, levando o clínico a pensar em infecção do grupo tifo-paratífico, num estado septicêmico, ou, si aparece algum exantema, leva-os a suspeitar de escarlatina ou rubéola.

Por outro lado vamos ver que o exame hematológico é de inestimável auxílio no esclarecimento diagnóstico desta afecção. Como acentuam Oria & Janra³³ (1939), apresenta, tal exame, características entre as quais se destacam as modificações qualitativas dos mononucleares, que valem mais que um simples aumento quantitativo destas células.

Mesmo assim, estas modificações não são patognômicas. Existem ocasionalmente outras doenças que mostram o mesmo quadro (Downey & Stasney³⁷ — 1935), particularmente, como se refere Davidsohn³⁸ (1937), as infecções agudas do faringe. É sabido também que nos casos em início a elevação da taxa dos mononu-

cleares com as suas atípias, pode falhar, dando-nos no quadro sanguíneo apenas ligeira leucocitose, com contagem diferencial normal ou salientando-se somente uma neutrocitose com discreto desvio para a esquerda (Oria & Janra³³ — 1939). E ficaríamos num impasse, com os dados do laboratório, que nos responderiam apenas por impressões.

DIAGNÓSTICO SOROLÓGICO

Vejamos agora os trabalhos sobre as reações sorológicas que muito deverão contribuir para esclarecimento do diagnóstico da Mononucleose infectuosa, reforçando os dados clínicos e hematológicos.

Os estudos preliminares são de Davidsohn³⁹ (1927), quando, apoiado na descoberta dos antígenos e anticorpos heterófilos, por Forssmann⁴⁰ (1911), fazia uma revisão do assunto. Definiu, então, esse autor — anticorpos heterófilos — os anticorpos que reagem com antígenos inteiramente diferentes e filogeneticamente sem relação com a sua produção.

O mesmo autor⁴¹⁻⁴² (1929-1930) observa que o fenômeno da produção de anticorpos heterófilos pode ocorrer no homem no qual tenham sido injetadas substâncias contendo antígeno heterófilo. Isto foi mostrado por Davidsohn⁴¹, que evidenciou a presença, em título elevado, de hemolisinas e aglutininas, no soro de doentes injetados com soro de cavalo. Acrescenta mais que esse título de hemolisinas e aglutininas é bem mais acentuado, quando nestas pessoas se desenvolve a *doença sérica*. Notou, também, que o soro da grande maioria de pessoas é capaz de aglutinar as hemátias de carneiro, em baixas diluições.

Paul & Bunnell³⁴ (1932), analisando os trabalhos de Davidsohn sobre a existência de anticorpos heterófilos na doença do soro, tiveram a idéia de pesquisar a presença desses anticorpos em um certo número de condições clínicas. Puramente por acidente, observaram que os anticorpos heterófilos, (demonstrados na forma de aglutininas anti-carneiro), existem em altas concentrações no soro dos doentes de Mononucleose infectuosa em título mais alto do que na doença do soro e, mesmo, do que em todas as outras condições estudadas. Posteriormente, têm a confirmação do achado, examinando, na fase aguda, outros casos de Mononucleose infectuosa.

A técnica é a empregada por Davidsohn⁴¹ (1929) para determinar a presença e o título de aglutininas e hemolisinas anti-car-

neiro: soro inativado durante 15' a 55°C.. As quantidades usadas são de 0,5cc. de diluições de soro, começando a 1:4; 0,5cc. de glóbulos de carneiro a 2% são ajuntados e mais 0,5cc. de solução fisiológica. Total 2cc.. Os tubos são agitados e depois colocados em banho-maria, 1 hora, a 38°C., deixados em seguida na geladeira, toda a noite. Na manhã seguinte faz-se a leitura após agitação dos tubos.

Inúmeros trabalhos confirmam as observações de Paul & Bunnell: Destaca-se o de Davidsohn³⁵ (1935) que vai além: modifica a técnica da reação de aglutinação para Mononucleose infectuosa, mostrando que os resultados são não só mais rápidos como mais precisos do que com a técnica adotada nos seus estudos sobre a doença sérica (1929)⁴¹. Baseia-se na observação que o acréscimo da taxa de aglutininas na Mononucleose infectuosa é devido a aglutininas especiais, diferentes das aglutininas dos soros normais, e não pertencentes, como aquelas, ao grupo dos anticorpos heterófilos de Forssmann. Elas não se fixam pelo extrato de rim de cobaio (antígeno de Forssmann) e são absorvidas totalmente por outro antígeno — extrato de glóbulos vermelhos de boi.

Davidsohn³⁸ (1937), estribado nessas observações, melhorou a reação de aglutinação de Paul-Bunnell, tornando-a mais precisa no diagnóstico da Mononucleose infectuosa. Porisso, muitos autores, entre eles Demanche, acham que a reação deve ser chamada de Reação de Davidsohn e não Reação de Paul-Bunnell. Achamos, porém, de justiça conservar o nome de Paul-Bunnell, pois estes autores, apesar de não terem criado a técnica de reação, foram os primeiros a verificar sua constância na Mononucleose infectuosa. Poderíamos denomina-la, então, "Reação de aglutinação de Paul-Bunnell-Davidsohn". O termo Reação de aglutinação foi proposto por Sohler & Colab.⁴³ e nós o adotamos porque define a natureza da reação.

TÉCNICA

Empregamos no nosso trabalho a técnica de Davidsohn³⁸ (1937). Ela se processa em 2 fases. Na 1.^a, pesquisa-se o poder aglutinante do soro para as hemátias de carneiro; na 2.^a, verifica-se si as aglutininas anti-carneiro são ou não absorvidas pelos dois antígenos seguintes: extrato de rim de cobaio e extrato de glóbulos vermelhos de boi.

PRIMEIRA FASE

Dosagem das aglutininas anti-carneiro — Retira-se sangue por punção venosa e o soro é inativado a 56°C., 30'.

Dispõem-se 12 tubos de hemólise numa estante. Colocam-se no 1.º tubo 0,4cc. de solução fisiológica; nos demais, 0,25cc. da mesma solução.

Ajunta-se no 1.º tubo 0,1cc. do soro a examinar e já aquecido. Com uma pipeta de 0,01, misturam-se o soro e a solução fisiológica do 1.º tubo; daí, tiram-se 0,25 cc. e colocam-se no 2.º tubo; deste, após a mistura, passam-se 0,25 cc. para o 3.º tubo e assim por diante, até o 12.º. Os 0,25 cc. que sobrem desse tubo, põem-se fora. Um 13.º tubo será acrescentado como *controle* e não levará soro, mas conterà 0,25 cc. de solução fisiológica. Temos assim diluições do soro que vão de 1:5 a 1:10.240.

Prepara-se, então, a diluição de glóbulos lavados de carneiro. Segundo Davidsohn⁴¹ (1929), os glóbulos de carneiro devem ser guardados na geladeira e preservados com formalina em diluições a 1:800. Não devem ter mais de uma semana. Comprovamos os seus resultados verificando que a aglutinabilidade dos glóbulos muito frescos é ligeiramente menor que a dos mais velhos. Por isso procuramos usar só glóbulos com 24-48 horas. Distribue-se 0,1 cc. de glóbulos de carneiro a 2% em todos os tubos. Aumenta-se, assim, o título das diluições. O quadro n.º 1, que fizemos à semelhança do apresentado por Davidsohn³⁸ (1937), esclarece toda esta 1.ª fase.

QUADRO N.º 1

Tubos	Solução fisiológica cc.	Sero, cc.	Diluições do soro	Gl. de carneiro a 2% cc.	Diluições finais do soro	Agitam-se bem os tubos; deixa-se a estante c/ os tubos à temperatura do laboratório 2 horas e faz-se a leitura.
1	0,4	0,1	1:5	0,1	1:7	
2	0,25	0,25 de 1:5	1:10	0,1	1:14	
3	0,25	0,25 de 1:10	1:20	0,1	1:28	
4	0,25	0,25 de 1:20	1:40	0,1	1:56	
5	0,25	0,25 de 1:40	1:80	0,1	1:112	
6	0,25	0,25 de 1:80	1:160	0,1	1:224	
7	0,25	0,25 de 1:160	1:320	0,1	1:448	
8	0,25	0,25 de 1:320	1:640	0,1	1:896	
9	0,25	0,25 de 1:640	1:1.280	0,1	1:1.792	
10	0,25	0,25 de 1:1.280	1:2.560	0,1	1:3.584	
11	0,25	0,25 de 1:2.560	1:5.120	0,1	1:7.168	
12	0,25	0,25 de 1:5.120	1:10.240 *	0,1	1:14.336	
Controle						
13	0,25	0,1		

* Descarregam-se 0,25 cc. do último tubo.

Deixa-se a estante com os tubos à temperatura do laboratório, 2 horas. Faz-se, então, a leitura, agitando-se os tubos e verificando-se até que tubo ainda existe a aglutinação das hematias. A olho nú o título é mais baixo do que o verificado ao microscópio, entre lâmina e lamínula. Paul e Bunnell assim classificam os resultados.

- +++ — grupo firme de hematias e líquido claro;
- ++ — grupo que se fracciona em flóculos grandes pela agitação;
- + — aglutinação fina, invisível a olho nú;
- ± — aglutinação microscópica em pequenos grupos isolados.

Os desenhos adiante dão melhor idéia dessas leituras.

Nos indivíduos sãos, sem antecedentes de Mononucleose infectuosa e sem injeção de soro de cavalo, o título de aglutininas varia segundo a maioria dos autores, de 1:3,5 a 1:56., sendo este último título encontrado apenas em 1% dos casos, e dando o título médio igual a 1:20.

Os nossos controles (1), em pessoas sãs, forneceram títulos variáveis, também, entre 1:3,5 e 1:56; a cifra média, porém, foi de 1:28 e, em 25% dos casos, foi de 1:56.

Na Mononucleose infectuosa, o título é, em geral, bem mais elevado podendo alcançar 1:14.336.

Quando encontramos nesta 1.^a fase da reação títulos acima de 1:224, podemos considerar positiva a reação para a Mononucleose infectuosa. Nestes casos uma só dúvida poderia subsistir: si o paciente estivesse em plena doença sérica, após injeção terapêutica de soro. Nestes casos o título varia de 1:56 a 1:224, dando título médio em torno de 1:100. É aqui, então, que temos de lançar mão da 2.^a fase da reação criada por Davidsohn, para interpretação positiva ou negativa para a Mononucleose infectuosa. É a fase que identifica a natureza das aglutininas encontradas. Esclarece si são normais, si são anticorpos de Forssmann desenvolvidos pelo antígeno de Forssmann (soro de cavalo) ou si pertencem ao grupo das aglutininas especiais da Mononucleose infectuosa.

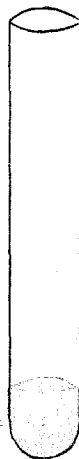
(1) Enviados pelo Instituto de Puericultura, por gentileza do seu Diretor Dr. Otavio G. Gonzaga, pelo que lhe ficamos gratos. Agradecemos também ao Dr. Pujol que examinou estes nossos casos.



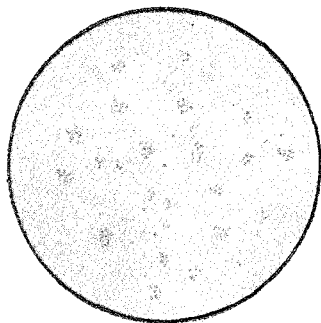
Leitura +++



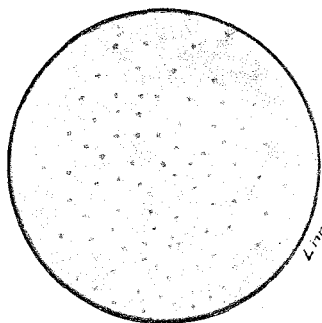
Leitura ++



Leitura +



Micr. +



Micr. -



SEGUNDA FASE

Identificação das aglutininas heterófilas — Usámos dois antígenos: emulsão de hemátias de boi e emulsão de rim de cobaio. A técnica que usamos na preparação destes antígenos é de Davidsohn (1937).

Antígeno de glóbulos vermelhos de boi — As hemátias de boi são lavadas, umas três vezes, bem sedimentadas no centrifugador, depois diluídas a 20% em solução fisiológica, e fervidas 1 hora no banho-maria.

Antígeno de rim de cobaio — Guardam-se os rins na geladeira, até que se precisem deles. São então degelados, lavados repetidas vezes em solução fisiológica até não conterem sangue. São macerados em polpa fina e usados para absorção em suspensão a 20% na solução fisiológica. Este antígeno é também coagulado e estabilizado pelo aquecimento, em banho-maria, 1 hora. A perda por evaporação é recomposta com água destilada. Guardam-se os dois antígenos em frascos na geladeira, usando-se 0,5% de fenol como preservativo, ou melhor, fechando em ampolas de 2 cc., como aconselha Durupt⁴⁵ (1937), o que permite conservar longo tempo, sem antisséptico e sem permanência na geladeira.

A reação será praticada da seguinte maneira: — Colocam-se, em 2 tubos de hemólise, 0,5 cc. dos respectivos antígenos, depois de agitados, e 0,1 cc. do soro a examinar aquecido 30' a 56°C.. Agitam-se e deixam-se à temperatura do laboratório 1 hora. Repete-se a agitação cada 10-15 minutos. Findo este tempo, centrifugam-se 10'. Colocam-se 2 séries de 6 tubos de hemólise numa estante, distribuindo-se em cada 0,25 cc. de solução fisiológica. No 1.º tubo de cada série ajuntam-se, respectivamente, 0,25 cc. do líquido sobrenadante dos tubos centrifugados, que representa uma diluição de soro + antígeno a 1:5. Como na 1.ª fase, tomam-se 0,25 cc. do 1.º tubo, depois de misturados, e passam-se para o 2.º, e assim por diante. Desprezam-se 0,25 cc. do último tubo. As diluições nos 6 tubos ficam entre 1:10 e 1:320. Ajunta-se 0,1 cc. dos glóbulos de carneiro a 2% em todos os tubos. Agitam-se os tubos. As diluições finais dão títulos a 1:14 — 1:28, etc.. Deixam-se as estantes com os tubos à temperatura do laboratório, 2 horas. Faz-se a leitura como na 1.ª fase.

Verificamos com esta leitura qual o efeito absorvente dos 2 antígenos de Forssmann em relação ao título de aglutininas, ano-

tadas na 1.^a fase da reação. Si elas desapareceram totalmente ou em parte, sob a ação deles. Avaliamos em porcentagem a absorpção verificada para cada antígeno. Si não se encontram mais aglutininas no 1.^o tubo a porcentagem de absorpção foi de 100%. Si ainda a encontramos no primeiro, segundo, etc., avaliamos esta porcentagem em relação à taxa de aglutininas encontrada na 1.^a fase da reação. Verificaremos, então, absorpção de 70 — 50 — 40%, etc..

INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS:

Normalmente, nos indivíduos sãos, as aglutininas anti-carneiro são inteiramente absorvidas pelo rim de cobaio e incompletamente pelas hemáticas de boi. Este último antígeno absorve apenas 35-50% das aglutininas normais. Segundo Durupt⁴¹ (1937), trata-se de uma propriedade biológica particular e não de um simples fenômeno de absorpção, porque o caolin empregado como antígeno nada absorve e as próprias hemáticas de carneiro, do mesmo modo, usadas como antígeno, absorvem 100% das aglutininas do soro destes mesmos indivíduos.

Ao contrário, quando se trata de aglutininas contidas no soro de pacientes de Mononucleose infectuosa, observa-se o funcionamento inverso, em relação à absorpção pelos dois antígenos: o de glóbulos de boi absorve 100% das aglutininas e o de rim de cobaio apenas 50 a 75%. Esta falha de o rim de cobaio não remover as aglutininas para as hemáticas de carneiro do soro de paciente de Mononucleose infectuosa estabelece, segundo Davidsohn³⁸, que os anticorpos heterófilos na moléstia não são do tipo Forssmann.

Podemos verificar ainda um 3.^o comportamento nesta 2.^a fase: os dois antígenos absorvem completamente as aglutininas do soro. Neste caso, trata-se de aglutininas produzidas pela injeção de soro de cavalo.

O quadro N.^o 2 mostra, comparativamente, o comportamento da Reação de Paul-Bunnell-Davidsohn nas diversas moléstias estudadas e em indivíduos normais.

Ns. dos casos	Procedência	DIAGNÓSTICO SOROLÓGICO												
		1.ª FASE Dosagem das aglutininas										2.ª FASE Identificação das aglutininas		
		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	% Absorção pelo Rim de cabaia	Globul. de boi
		7	14	28	56	112	224	448	896	1782	3684			
II — 24 CASOS COM DIAGNÓSTICOS DIVERSOS — (continuação)														
9	Dr. G. F. Silveira	++	+	±	--	--	--	--	--	--	--	--	--	
11	Sta. Casa (I.ª M. H.)	+	±	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	
29	Dr. Jairo Ramos	+++	+++	++	--	--	--	--	--	--	--	--	--	
31	Dr. A. Taunay	+++	+++	++	--	--	--	--	--	--	--	--	--	
49	Dr. G. Fleury	+++	+++	+	+	--	--	--	--	--	--	100	74	
III — 11 CASOS DE PESSOAS QUE TOMARAM SORO:														
(1) sem reação sérica						(2) com moléstia de soro								
(1) 84	Inst. Puericult.	+++	+++	++	--	--	--	--	--	--	--			
85	»	+++	+++	++	--	--	--	--	--	--				
86	»	+++	+++	++	--	--	--	--	--	--				
87	»	+++	+++	++	+	--	--	--	--	--	99	100		
88	»	+++	+++	++	+	--	--	--	--	--				
89	»	+++	+++	++	+	--	--	--	--	--				
(2) 26	H Isolamento	+++	+++	++	+	+	+	+	+	+	99	100		
42	»	+++	+++	++	+	+	+	+	+	+	99	99		
43	»	+++	+++	++	+	+	+	+	+	+	97	99		
55	»	+++	+++	++	+	+	+	+	+	+	99	99		
56	Dr. L. Sales Gomes	+++	+++	++	+	+	--	--	--	--	99	100		
IV — 26 CASOS DE MONONUCLEOSE INFECTUOSA														
(clínica e hematologicamente positivos)														
10	Dr. José Oria	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	
12	Dr. J. Ramos	+++	+++	++	+	+	--	--	--	--	87	100		
13	Dr. J. Ramos	+++	+++	++	+	+	±	--	--	--	87	100		
14	Dr. M. Brito Silva	+++	+++	++	+	+	--	--	--	--	50	100		
15	Dr. J. Ramos	+++	+++	++	+	+	+	+	+	+	85	100		
16	Dr. J. Oria	+++	+++	++	+	+	+	+	+	+	--	--		
17	Dr. J. Oria	+++	+++	++	+	+	+	+	+	+	--	--		
18	Dr. S. Jordão	+++	+++	++	+	+	+	±	--	--	--	--		
19	Dr. J. Ramos	+++	+++	++	+	+	+	+	+	+	93	93		
20	Dr. J. Ramos	+++	+++	++	+	+	--	--	--	--	100	100		
21	Dr. C. M. Barros	+++	+++	++	+	+	+	+	+	+	75	100		
22	Dr. M. Sampaio	+++	+++	++	+	+	+	+	+	+	99	99		
27	Dr. G. Fleury	+++	+++	++	+	+	+	+	+	+	87	100		
28	Dr. A. Taunay	+++	+++	++	+	+	+	+	+	+	100	100		
30	Dr. J. Ramos	+++	+++	++	+	+	+	+	+	+	100	99		
32	Dr. G. Fleury	+++	+++	++	+	+	+	+	+	+	--	--		
33	Dr. J. Ramos	+++	+++	++	+	+	+	+	+	+	--	--		
35	Dr. J. Piza	+++	+++	++	+	+	+	+	+	+	50	100		
40	Dr. Esp. Santo	+++	+++	++	+	+	+	+	+	+	--	--		
44*	Dr. L. S. Gomes	+++	+++	++	+	+	+	+	+	+	--	--		
45*	Dr. L. S. Gomes	+++	+++	++	+	+	+	+	+	+	--	--		
47	Dr. G. Fleury	+++	+++	++	+	+	+	±	--	--	87	100		
48	Dr. J. Ramos	+++	+++	++	+	+	--	--	--	--	99	100		
50	Dr. J. Ramos	+++	+++	++	+	+	--	--	--	--	99	99		
51	Dr. J. Ramos	+++	+++	++	+	+	--	--	--	--	100	100		
52	Dr. G. Fleury	+++	+++	++	+	+	±	--	--	--	74	100		

(*) Quadro hematológico inexpressivo para Mononucleose infectuosa.

OBS.: A prova de absorção das aglutininas foi feita com 0,05 e 0,1 cc. dos antígenos para 0,1 cc. da soro, que, segundo Davidsohn (1937), são as quantidades ótimas. Só quando encontramos títulos altos é que empregamos 0,5 cc. dos antígenos.

Agradecemos aos distintos colegas, que colaboraram conosco, enviando-nos material para exame.

RESULTADOS

Os resultados por nós encontrados baseiam-se no estudo de 89 casos, 26 dos quais são, com segurança, de Mononucleose infectuosa. Foram-nos enviados no decorrer de 2 anos, por ilustres colegas, uns pelo interesse que demonstraram em nossas pesquisas, outros para confirmação de um diagnóstico impreciso, tanto clínico como hematológico.

Infelizmente, porém, não conseguimos, em certos casos, dados mais completos, para estudo mais bem orientado e conclusões mais precisas.

Justifica-se essa falha pela dificuldade de verificar-se confirmação posterior dos nossos resultados, visto serem, na maioria, doentes não hospitalizados, de clínicas particulares.

Julgamos, embora sem nenhuma pretensão, ser o nosso trabalho o primeiro aparecido, entre nós, sobre o diagnóstico sorológico da Mononucleose infectuosa.

Para controle de especificidade da reação, praticamo-la em 28 casos de indivíduos sãos, e de história negativa, tanto para Mononucleose infectuosa como para injeções de soro de cavalo. Praticamo-la, ainda, em 1 caso de mal de Hodgkin, 1 caso de artrite reumática, 1 de artrite gonocócica com gonofixação positiva, 5 casos de febre tifóide com exame bacteriológico positivo, e em 6 sangues entrados para Wassermann, no Instituto, sendo dois deles fortemente positivos para sífilis.

Em todos esses casos o resultado foi negativo. Também foi negativo em 9 outros casos que nos foram encaminhados como suspeitos de Mononucleose infectuosa e que, mais tarde, a clínica e a hematologia confirmaram o resultado negativo da reação. A média da taxa de aglutininas encontrada em todos eles foi de 1:28.

Efetuamos, ainda, a reação em 11 indivíduos que tinham tomado soro de cavalo, com fim terapêutico. Esses casos, como tem sido verificado, são os que podem dar elevação da taxa de aglutininas muito acima da encontrada no soro dos indivíduos sãos, trazendo dúvida, quando nos mesmos se pratique a reação com fim diagnóstico para Mononucleose infectuosa. Em 6 que já tinham

tomado soro há alguns meses, a reação foi negativa, dando título em média de 1:28. Dos outros 5 casos, 4 eram de doentes internados no Hospital de Isolamento "Emílio Ribas", (*) acometidos de difteria e em plena moléstia sérica. Nestes, verificamos na 1.^a fase da reação um título muito elevado das aglutininas anti-carneiro, em média de 1:1.097. Extranhamos muito esses resultados, uma vez que se tem observado a elevação do título das aglutininas em pessoas que tomaram soro de cavalo e, principalmente, nas que manifestaram a *doença sérica*. Nunca, porem, encontramos referência a títulos tão altos.

Durupt⁴⁴ (1937), falando a respeito, diz: "em nenhuma outra doença, mesmo na doença sérica, se encontram títulos superiores a 1:448. Esta taxa, obtida no 1.^o tempo, dispensa o 2.^o tempo da reação — o da identificação das aglutininas para Mononucleose infectuosa".

Poderíamos pensar na possibilidade de estarmos diante de casos de pseudo-anginas diftéricas em que o clínico instituisse logo a terapêutica pelo soro, à espera do resultado bacteriológico positivo e que estes, dando positivo para bacilo diftérico, o que aconteceu, fossem casos de portadores de germes, apenas. Analisando, porem, as papeletas destes doentes, orientados pelo ilustre clínico Dr. Pereira Barreto, médico do Hospital de Isolamento e que foi quem examinou e acompanhou os doentes, verificamos ser a hipótese pouco provável. O quadro da temperatura manteve-se na média normal, tendo a doença um curso praticamente apirético. Por outro lado, pensamos numa associação com a Mononucleose infectuosa, como já há observações a respeito. Também não julgamos provável a hipótese, pois o Dr. Pereira Barreto nada encontrou nesses doentes que fizesse suspeitar a intercorrência de Mononucleose infectuosa e todos os casos reagiram especificamente à terapêutica pelo soro, o que não aconteceria com tal complicação.

Contra a hipótese ainda da interferência da Mononucleose e de estes títulos altos correrem por conta de falhas da reação de aglutinação, acha-se o fato de, ao se efetuar a 2.^a fase da reação (identificação das aglutininas), verificarmos que elas foram absorvidas 97-100% pelos 2 antígenos — comportamento normal para as aglutininas encontradas nas doenças séricas.

(*) Agradecemos ao Diretor do H. Isolamento, Dr. J. A. Arantes, por nos ter franqueado o Hospital e fornecido as papeletas dos doentes em estudo. Extendemos nossos agradecimentos ao Dr. Luis P. Barreto que nos deu esclarecimentos sobre os casos em apreço.

Vejam agora o comportamento da reação de aglutinação nos 26 casos de Mononucleose infectuosa que estudamos.

Não entraremos em suas particularidades clínicas e hematológicas. De uma maneira geral, entretanto, encontramos em todos eles o quadro hematológico característico, acompanhado de sintomatologia clínica perfeitamente idêntica à da Mononucleose infectuosa.

Segundo indagação que fizemos junto aos clínicos que nos enviaram estes materiais, sobre o curso da doença, tivemos a confirmação de se tratar, sem dúvida, de Mononucleose infectuosa.

Destes 26 casos, 21 concordaram clínica, hematológica e sorologicamente (1.^a fase da reação de aglutinação). Nestes casos a reação de aglutinação foi positiva num título que variou de 1:56 a 1:1792 (título médio 1:345). Confirmamos as observações de Bernstein⁴⁵ (1940) e Werlin & Colaboradores⁴⁶ (1941) que os soros positivos, guardados na geladeira, conservam-se inalteráveis por meses. Podemos assim mante-los em estoque para controle da reação de aglutinação em soros desconhecidos.

Dos 5 casos restantes, 3 concordaram somente sob o ponto de vista clínico e hematológico (casos 10, 16 e 17) e os outros 2, sob o ponto de vista clínico e sorológico (casos 44 e 45).

A negatividade de um dos exames nestes 5 casos não implica, entretanto, na alteração diagnóstica, pois sabe-se, por um lado, que o quadro hematológico característico pode aparecer tardiamente (Davidsohn³⁸ — 1937) e por outro lado, tem-se observado que a reação de aglutinação também pode aparecer tardiamente e até 5 semanas depois, (Demanche³⁶ — 1937) encontramos a reação de aglutinação positiva. Cabe aqui mencionar as palavras de Davidsohn³⁹, na discussão do seu trabalho de 1937, quando diz “há razão para presumir que existem 2 tipos de Mononucleose infectuosa — o soro positivo e o soro negativo”.

Passemos aos resultados obtidos com a 2.^a fase da reação: identificação das aglutininas.

Dos 23 casos sorologicamente positivos para Mononucleose infectuosa, ficamos impossibilitados de efetuar a 2.^a fase em 6 casos, devido à escassez de material que conseguimos. Em 8 casos, com título médio de 1:147, tivemos uma absorpção de, praticamente, 100% com os dois antígenos (rim de cobaio e hemátias de boi). Esta absorpção total, como já vimos, só se dá com as aglutininas provocadas pelas injeções de soro de cavalo e não com as

aglutininas anti-carneiro encontradas no soro dos doentes de Mononucleose infectuosa, como eram os casos. Com estes 8 casos deveríamos observar, como nos demais, na 2.^a fase da reação, uma absorpção parcial (50-75%) pelo rim de cobaio e total pelas hemátias de boi (casos 19, 20, 22, 28, 30, 48, 50 e 51).

Quanto tempo duram os caracteres sorológicos da doença? Segundo alguns autores, as aglutininas persistem por espaço de tempo variável. Para Davidsohn³⁸ (1937), de sua aparição (que se dá geralmente do 4.^o para o 8.^o dia) até que se encontre um título abaixo de 1:56, varia de 50 a 296 dias. Para Durupt⁴⁵, as taxas limites de 1:56 — 1:112 perduram 90-120 dias. Observa ainda este autor que “a cura sorológica precede sempre a cura hematológica porque o equilíbrio leucocitário ainda não foi restabelecido e já as aglutininas desapareceram”.

CASO A DISCUTIR

Caso 25 — R. M., 24 anos, branco. Há 2 meses teve angina e fez amidaletomia. Cerca de 20 dias atrás, apareceu-lhe um gânglio na região sub-maxilar que, dia a dia, aumentava de volume. Apresentava febre e tinha sudorese. Começou a sentir, então, leve dor de cabeça. Atualmente a febre aparece sempre à tarde (cerca de 37^o,4), a dor de cabeça é mais intensa e o gânglio, doloroso à apalpação, apresenta-se do tamanho de uma pequena laranja. Em 31-7-40, o Dr. J. Oria, da Faculdade de Medicina, envia-nos o doente com a suspeita de Mononucleose infectuosa junto com o seu exame hematológico, feito no dia anterior, e que acusava 25,8% de linfócitos e 5,9% de monócitos, concluindo por um hemograma inexpressivo.

Tirando sangue do doente nessa ocasião para a reação de aglutinação, deu esta, na 1.^a fase, um título 1:448 sendo que, na 2.^a, houve absorpção parcial das aglutininas pelos dois antígenos.

Uma outra contagem, repetida em 2-8-40, nada de extraordinário apresentou. Dias após, é feita a punção do gânglio, cujo resultado foi: gânglio compacto, trabecular, neutrofilia absoluta com eosinófilos, plasmócitos e vários monócitos. Não foram encontrados cogumelos. Achava-se o gânglio em via de supuração com granulação inespecífica. Pouco tempo depois, feita a biópsia do gânglio, encontraram-se Actinomicetos.

Estaremos aqui diante de um caso de falha da reação ou de uma associação de Febre ganglionar de Pfeiffer com Actinomicose?

Não tendo elementos clínicos suficientes para comprovação de uma associação com Mononucleose infectuosa e não tendo, também, a 2.^a fase da reação funcionado especificamente nos mostrando a natureza das aglutininas que apareceram em título tão alto, não podemos tirar uma conclusão exata. Levando-se em conta, porém, que o achado hematológico foi, por 2 vezes, inexpressivo para Pfeiffer e que a biópsia acusou — gânglio em via de supuração com granulções inespecíficas —, julgamos que a falha da reação é a hipótese mais provável neste caso.

CONCLUSÃO

Pelo exposto vemos que a reação de aglutinação comportou-se na 1.^a fase praticamente em paralelo com o diagnóstico clínico e hematológico da Mononucleose infectuosa.

Quanto à 2.^a fase, verificamos que em 8 casos, contra a expectativa, houve uma absorção total das aglutininas dos soros pelos dois antígenos, contrariando o diagnóstico. Estes casos tinham, entretanto, sido diagnosticados clínica e hematologicamente como típicos para febre ganglionar de Pfeiffer. Os doentes não tinham tomado soro. O fato vem mostrar que, provavelmente, houve influência de causas estranhas e ainda não previstas na fase de identificação das aglutininas.

Julgamos, no entanto, ser a Reação de aglutinação de Paul-Bunnell-Davidsohn ótimo elemento de comprovação diagnóstica nos casos típicos de Mononucleose infectuosa, ao lado dos dados clínicos e hematológicos. Nos casos atípicos, pode esclarecer muitos diagnósticos hesitantes.

Consideramos de valor a generalização do uso desta reação, entre nós, o que já constitui prática corrente em diversos países.

Os soros positivos conservam-se inalteráveis por meses, na geladeira. Podem ser guardados em estoque para controle da reação de aglutinação em soros desconhecidos.

RESUMO

O A. praticou a reação de aglutinação de Paul-Bunnell-Davidsohn em 89 casos e a controlou com casos normais e várias doenças — febre tifóide, artrite reumática, artrite gonocócica, mal de Hodgkin. Em todos eles a reação de aglutinação resultou negativa. Achou o título de 1:56 em 28%.

A 2.^a fase da reação também se comportou especificamente para casos normais. Os glóbulos vermelhos de boi absorveram em média 50% das aglutininas e o rim de cobaio 100%.

Dos 26 casos referentes a Mononucleose infectuosa, o A. obteve, com a 1.^a fase, 21 reações positivas, concordando 19 deles com o diagnóstico clínico e hematológico e 2 apenas com o resultado clínico. Os outros 3 foram negativos para a reação de aglutinação, discordando deste modo do resultado clínico e hematológico, positivos.

Na 2.^a fase, deixou de executar a reação em 3 casos, por negativos na 1.^a fase (1:7 — 1:14), e, em 5 mais, por falta de soro. Nos restantes observou comportamento específico das aglutininas da Mononucleose infectuosa (absorção incompleta pelo rim de cobaio e total pelos glóbulos vermelhos de boi), exceto para 8 casos em que verificou absorção total com os 2 antígenos. Julga, por este fato, possível existirem causas, ainda não determinadas, que perturbem o funcionamento específico da 2.^a fase da reação. Encontrou, num caso de Actinomicose, a reação de aglutinação positiva a 1:448. Pelos exames efetuados julga tratar-se de um caso de falha da reação.

Acha que a reação de aglutinação é um ótimo elemento diagnóstico, ao lado dos dados clínicos e hematológicos, e que pode esclarecer casos atípicos. Finalmente, preconiza o seu uso entre nós.

* * *

Somos especialmente gratos ao Dr. J. P. de Carvalho Lima, Diretor do Instituto Adolfo Lutz, que nos sugeriu o tema deste trabalho e nos orientou na confecção do mesmo.

Agradecemos também ao Dr. Luis de Sales Gomes que, não só colaborou trazendo-nos material para estudo, como dando-nos sugestões sobre algum ponto técnico do nosso trabalho; e, ao Dr. Augusto E. Taunay, que nos auxiliou na parte hematológica.

Ao Sr. Antonio Amorosino, técnico do Instituto, os nossos agradecimentos pela sua ajuda na execução das reações.

SUMMARY

The A. made de Paul-Bunnell-Davidsohn agglutination test in 89 cases, and controled it with normal cases and several diseases as typhoid fever, rheumatic arthritis, gonococal arthritis, Hodgkin

disease. In all these cases the agglutination was negative. The titer 1:56 was obtained in 28%.

The second part of the reaction showed also a specific behaviour in normal cases. Ox erythrocytes absorbed in medium 50% of the agglutinins, and the guinea-pig kidney 100%.

Out of the 26 cases of Infectious Mononucleosis, the A. has obtained, in the first part of the test, 21 positive reactions, 19 of which in accordance with the clinical and haematological diagnosis, and 2 of them in accordance with the clinical results only. The three others were negative to the agglutination test, therefore in disaccordance with the clinical and haematological results, which were positive.

In the second phase, the A. did not try the reaction in three cases, as they were negative in the first phase (1:7 — 1:14) and, in five others, because the serum was not sufficient. In the other cases he observed a specific behaviour of the agglutinins to Infectious Mononucleosis (incomplete absorption by guinea-pig kidney and total absorption by ox erythrocytes), except for 8 cases in which he verified total absorption by the 2 antigens. The A. believes that there may be yet undetermined causes which hinder the specific function of the second part of the reaction. In an Actinomycosis case a positive agglutination test 1:448 was obtained. By the performed examinations he thinks that this is due to a failure in the reaction.

The A. thinks that the reaction is a very good diagnostical factor aside the clinical and haematological results, and that it may be useful in atypical cases. Finally, he preconizes its use among us.

BIBLIOGRAFIA

- 1 — FILATOW, N. — 1885 — Infektionskrankheiten d. Kindesalters.
- 2 — PFEIFFER, E. — 1889 — Jahrb. f. Kinderh., XXIX, 257.
- 3 — KORSAKOFF, N. S. — 1905 — Arch. f. Kinderh., XLI, 321; XLII, 193.
- 4 — LUBLINSKY, W. — 1907 — Ztschr. f. klin. Med., 62, 170.
- 5 — TERFLINGER, F. W. — 1908 — Journ. Am. Ass., 50, 765.
- 6 — SCHDEISSNER, F. — 1911 — Wien klin. Wehuschr., 24, 310.
- 7 — JONES, G. I. — 1908 — Am. Jour. Med. Sci., 135, 346.
- 8 — COMBY, J. — 1894 — Med. Infant., 1, 15.
- 9 — NEUMANN, H. 1891 — Berl. klin. Woch., p. 1227.
- 10 — DESPLATS, H. — 1894 — Jour. Des Sci. Méd. de Lille, 31, 71.
- 11 — PARK WEST — 1896 — Arch. of Pediatrics, 189, XIII, 889.
- 12 — BOTSCHKOWSKY — 1900 — Wojenni Med. Jour., p. 2383.

- 13 — DAWSON WILLIAMS — 1897 — *The Lancet*, 1, 160.
- 14 — PFEIFFER, E. — 1908 — *Kahrb. f. Kinderh.* 29, 257.
- 15 — DEUSSING, R. — 1918 — *Deut. med. Woch.*, 44, 513.
- 16 — SPRUNT & EVANS — 1920 — *Johns Hopkins Hosp. Bull.*, 31, 410.
- 17 — TIDY & MORLEY — 1921 — *Brit. Med. Jour.*, 1, 452.
- 18 — SCHULTZ, W. — 1922 — *Deut. med. Woch.*, p. 1495.
- 19 — BAADER, E. — 1922 — *Deut. Arch. f. klin. Med.*
- 20 — CHEVALLIER, P. — 1928 — *Sang*, 2, 166.
- 21 — GLANZMANN, E. — 1930 — *Das lymphaemoide Drüsenfieber*, Berlin, edição v. Korger.
- 22 — LEHNDORFF, H. — 1932 — *Ergebn. d. inn. Med. u. Kinderh.* 42, 775.
- 23 — SCHWARZ, E. — 1932 — *Ergebn. d. inn. Med. u. Kinderh.* 43, 1.
- 24 — TIDY, H. LETHEBY — 1934 — *The Lancet*, 2, 180-186 e 236-240.
- 25 — CARINI, A. — 1930 — *Fol. clinica et Biol.*, 2, 166.
- 26 — ANNES DIAS — cit. por Mário E. Souza Aranha (27).
- 27 — SOUZA ARANHA, M. E. — 1931 — *Fol. clin. et Biol.*, 3, 1, 1-13.
- 28 — NUPIERI, A. — 1932 — *Rev. Ass. Paul. med.*, 1, 2, 142-145.
- 29 — FONSECA, J. L. — 1932 — *Pediat. prat. S. Paulo*, 4, 6, 275-282.
- 30 — SAES, P. — 1933 — *Rev. Ass. Paul. med.*, 7, 1, 43-49.
- 31 — REZENDE, M. O. — cit. por Paulo Saes (30).
- 32 — ORIA, J. — 1936 — *Lat. med.*, 2, 5, 94-97.
- 33 — ORIA, J. & JANRA, M. — 1939 — *Ann. Fac. Med. Univ. S. Paulo*, 15, 53.
- 34 — PAUL & BUNNELL — 1932 — *The Amer. Jour. of the Med. Sci.*, 183, 90-104.
- 35 — DAVIDSOHN, I. — 1935 — *Arch. Path.*, 19, 841-880.
- 36 — DEMANCHE, R. — 1939 — *La Presse Medicale*, 92-93, 1614-1615.
- 37 — DOWNEY, H. & STASNEY, J. — 1935 — *Jour. of the Am. Med. Ass.*, 105, 764-768.
- 38 — DAVIDSOHN, I. — 1937 — *Jour. Am. Med. Ass.*, 108., 4, 289-295.
- 39 — DAVIDSOHN, I. — 1927 — *Arch. of Path.*, 4, 776-806.
- 40 — FORSSMANN, J. — 1911 — *Biochemische Zeitschrift*, 37, 78.
- 41 — DAVIDSOHN, I. — 1929 — *The Jour. of Immunology*, 16, 259-273.
- 42 — DAVIDSOHN, I. — 1930 — *The Jour. of Immunology*, 18, 31.
- 43 — SOHIER, J., BARNET & BERNIER, G. — 1939 — *Bull. et Mém. de la Soc. med. des Hôp. de Paris*, 5 Juin, n.º 13, 846.
- 44 — DURUPT, A. — 1937 — *La Presse Medicale*, 68, 1219-1220.
- 45 — BERSTEIN, — 1940 — *Medicine Baltimore*, 19, 85.
- 46 — WERLIN, S. J. & COLABORADORES — 1941 — *Am. Jour. of Med. Sci.*, 201, 4, 474.

“PRIMERA REUNIÓN ARGENTINA DE AGRONOMÍA” (*)

A. BÜLLER SOUTO

Biologista do Instituto Adolfo Lutz

A Sociedade Argentina de Agronomia resolveu convocar, com caráter permanente, reuniões anuais de Agronomia. Essas reuniões de pesquisadores e experimentadores que se ocupam da ciência agrônômica e dos problemas correlacionados, terão por finalidade estimular e orientar as atividades agrônômicas no campo da investigação e da técnica. As reuniões terão lugar, de preferência, na cidade de Buenos Aires e dar-se-ão durante o mês de Abril. Para elas foram convidados os técnicos de toda América.

A Primeira Reunião Argentina de Agronomia realizou-se na cidade de Buenos Aires de 2 a 6 de Abril do corrente ano. Concorreram as seguintes instituições:

- Dirección de Agronomía do Ministério de Ganaderia y Agricultura (R. O. del Uruguay);
- Dirección de Ganaderia idem;
- Instituto Fitotécnico y Semillero Nacional “La Estanzuela” de Colônia (R. O. del Uruguay);
- Facultad de Agronomía-Universidad de la República (R. O. del Uruguay);
- Comisión Nacional de Estudio del Problema Forrajero (R. O. del Uruguay);
- Instituto Adolfo Lutz-Laboratorio Central de Saude Pública do Estado de São Paulo (Brasil);
- Instituto Agrônômico do Estado de São Paulo-Campinas (Brasil);
- Facultad de Agronomía-Universidad de Chile;
- Sociedad Nacional de Agricultura-Santiago (Chile);
- Ministério de Agricultura de la Nación (Argentina);
- Academia Nacional de Agronomía y Veterinária;
- Centro Argentino de Ingenieros Agrônomo;
- Centro de Viticultores Enólogos;
- Comisión Nacional de Granos y Elevadores;
- Comisión de Agrônomo Ferrovíarios;

(*) O Dr. A. Büller Souto foi o delegado oficial do Instituto Adolfo Lutz junto à “Primera Reunión Argentina de Agronomía”.

- Compañía General de Ferrocarriles de la Provincia de Buenos Aires;
- Dirección de Defensa Agrícola;
- Dirección de Economía Rural y Estadística;
- Dirección de Enseñanza Agrícola;
- Dirección de Fruta y Hortalizas;
- Dirección de Ganadería;
- Dirección de la Industria Lechera;
- Dirección de Meteorología, Geofísica E Hidrología;
- Dirección de Sanidad Vegetal;
- Dirección de Agricultura, Ganadería E Industrias de la Provincia de Buenos Aires;
- Dirección General de Irrigación de la Nación;
- Dirección Nacional de Vialidad;
- Dirección General de Hidráulica;
- Facultad de Agronomía y Veterinaria;
- Facultad de Agronomía-Universidad de la Plata;
- Facultad de Ciencias Físico-Matemáticas-Universidad de la Plata;
- Instituto de Botánica Darwinion-Academia Nacional de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales;
- Instituto de Botánica "Miguel Lillo" — Tucumán;
- Instituto Fitotécnico de Santa Catalina — Universidad Nacional de la Plata;
- Instituto Experimental de Investigación y Fomento Agrícola — Ganadero — Santa Fé;
- Junta Nacional del Algodón;
- Junta Nacional de Carnes;
- Junta Reguladora de Vinos;
- Sociedad Argentina de Horticultura;
- Sociedad Argentina de Estudios Geográficos;
- Sociedad Rural Argentina;
- Sociedad Científica Argentina;
- Sociedad Entomológica Argentina;
- Sociedad de Ingenieros Agrónomos (Montevideo);
- Instituto de Química Industrial (Montevideo);
- Facultad de Agronomía (Montevideo);
- Centro de la Industria Lechera;
- Facultad de Química e Farmacia;
- Dirección de Industria y Fomento Agrícola;
- Asociación Química Argentina;
- Estación Experimental Agrícola — Tucumán;
- Escuela de Agricultura y Sacarotenia — Tucumán;
- Centro Estudiantes de Agronomía — Facultad de Agronomía y Veterinaria de Buenos Aires;
- Ferrocarril Central Argentino;
- Ferrocarril Oeste;
- Ferrocarril Pacífico;
- Ferrocarril Provincial de Buenos Aires;
- Ferrocarril Sud;

- Compañía General de Ferrocarriles de la Provincia de Buenos Aires;
- Compañía Swift de la Plata;
- Banco Hipotecario Nacional;
- Banco de la Nación Argentina.

A Comissão organizadora era constituída pelos Srs. Ing. Agronomos

Juan B. Marchionatto,
Salomon Horovitz,
Santos S. Soriano,
Teofilo Barañao,
Arturo Burkart,
Antonio Arena,
Leon Grodsinsky,
Raul Ramella,
Enrique C. Clos.

SESSÃO PREPARATÓRIA

Dia 2 de Abril pela manhã, no salão nobre da Sociedad Científica Argentina, foram iniciadas as deliberações com a presença de um extraordinário número de delegados argentinos, chilenos, uruguaios e do delegado do Brasil, sob a presidencia do Eng. Agron. J. B. Marchionatto. Foram eleitos presidente honorário o Ministro da Agricultura e Vice-presidente honorário o Eng. Agron. Sócrates Rodrigues, diretor de "Agronomía" e representante do Uruguai. Foram aprovadas as credenciais apresentadas, organizadas as listas dos delegados oficiais e constituídas as comissões direti-vas de cada secção. Foram eleitos os seguintes presidentes:

Srs. Alexandre Botto da comissão de tema oficial;
Enrique Klein, da produção vegetal;
Juan Carlos Speroni, da produção animal e
Santos S. Soriano, das Indústrias Agropecuárias.

SESSÃO INAUGURAL

No mesmo local se efetuou, às 18 horas, a sessão inaugural. A ela compareceram o Ministro da Agricultura, o embaixador do Uruguai, Dr. Martinez Thédy; diretores e chefes de numerosas dependências oficiais, funcionários do Ministério da Agricultura, presidentes de Sociedades Científicas, Deputados, Senadores e um público tão numeroso que encheu completamente o vasto salão.

A sessão foi aberta pelo presidente da Sociedade Argentina de Agronomía, Eng. Agron. Juan B. Marchionatto, que começou re-

ferindo-se aos antecedentes sobre as reuniões dos experimentadores agrícolas. Referiu-se minuciosamente ao programa da "Primera Reunión Argentina de Agronomía", da influência decisiva que exerce a técnica agrícola no progresso da Nação, na exploração científica do solo, no melhoramento de alguns cereais e sobre os numerosos trabalhos apresentados.

Lembrou que como tema oficial se havia escolhido a "Organización de la experimentación agrícola", cuja importância era desnecessário acentuar. Mostrou da conveniência de uma política a seguir sobre o incremento desta experimentação agrícola, que deve ser uma das preocupações dos poderes públicos.

Em seguida S. Exa., o sr. Daniel Amadeo y Videla, Ministro da Agricultura, usou da palavra. Após saudar os delegados dos demais países da América em nome do Governo Nacional, se referiu às investigações realizadas sobre genética animal e vegetal e sobre o tratamento e prevenção das doenças que atacam a agricultura e a pecuária. Assinalou que muitas espécies vegetais e não poucas animais chegaram a ser, graças ao trabalho dos investigadores, argilas modeláveis pelo tenaz esforço da inteligência. Acrescentou:

"Porem a vida se desenvolve em um meio determinado e o sólo e o clima exercem sobre ela influência muito considerável. Disto provem que na investigação agrícola, resultados universais são muito difíceis de alcançar, havendo a necessidade de localizar em cada país, em cada zona e em cada meio ecológico diferente, os trabalhos experimentais respectivos. É esta uma das características mais notáveis da investigação agrícola. Por isso mesmo, todo país que dela se descuide, pensando que de qualquer modo sempre poderá usufruir as conquistas de outras nações, está condenado a ficar atrás, ou a deter-se na marcha do progresso agropecuário.

Os grandes estados modernos compreenderam a importância das funções de investigação dos serviços técnicos oficiais, relacionados com a agricultura e a pecuária e lhes fornecem os recursos necessários para que tenham o desenvolvimento compatível com a sua transcendência econômica. Como exemplo a este respeito, podem ser citados os Estados Unidos. Quatro leis de grande importância, a lei Hatch, que data de 1887, a lei Adams, sancionada em 1906, a lei Purnell de 1925 e a lei de Bankhead-Jones, de 1935, regem organicamente a investigação e fornecem extraordinários

recursos para custeá-la; só a última lei citada autoriza a empregar na investigação agrícola, durante o ano de 1940, a quantia de 45.000.000 de pesos. No momento mais grave da depressão agrícola, os norte-americanos aumentaram os fundos destinados às experimentações, com o conceito de que a investigação é uma das grandes fontes de que podem surgir soluções para as dificuldades dos produtores rurais”.

Destacou a importância dos gastos destinados a este fim:

“É preciso — disse depois — ampliar e melhorar as instituições dedicadas à investigação, já que disso depende em grande parte o maior rendimento das espécies e a obtenção de variedades cada vez mais resistentes às adversidades de origem parasitária ou atmosférica. O melhoramento das nossas forragens, plantas industriais e hortaliças, desde que sejam resolvidos alguns dos problemas fitotécnicos que os atingem, nos permitirá produzir sementes no país e nos tornarmos independentes da importação periódica que fazemos de muitas delas. Existem alguns problemas que, si nós não investigarmos, tão pouco serão objeto de estudo nos centros clássicos de experimentação, porque aos outros países não lhes interessa sua solução técnica; tal é o caso da destruição do vírus aftoso por determinados processos e o seu perecimento a certas temperaturas muito altas ou muito baixas; daí a transcendência singular das funções que deve cumprir o Instituto da Febre Aftosa, dependente da Dirección de Ganaderia. Grande produtora de alimentos que se alteram, à Argentina interessa, como a poucas nações, o progresso dos métodos de conservação; atualmente necessitamos, como consequência da restrição das exportações, conservar os nossos próprios grãos e adquirem uma importância inesperada os processos para defende-los das pragas. A ciência, prolongando a vida dos artigos, tornando-os menos deterioráveis, evita a destruição da riqueza, torna mais fácil a comercialização e facilita a defesa econômica dos interesses dos produtores e consumidores”.

Finalmente acentuou o Ministro da Agricultura a necessidade de que a investigação se especialize sempre e cada vez mais.

Em seguida o Eng. Agron. Juan Lindquist, decano da Faculdade de Agronomía da Universidade Nacional de la Plata, expressou a necessidade de serem coordenados os esforços de todas as instituições dedicadas à Agronomia, para alcançar resultados mais eficazes e rápidos, acentuando que atualmente não existe conexão nem coordenação entre os diversos institutos dedicados à investi-

gação agrícola e, que existe um divórcio quasi que absoluto entre as dependências provinciais e nacionais e entre estas e as Universidades, com enorme prejuizo para o tesouro e com grande dispersão de energias. Acrescentando:

“Deve ser considerado o problema da centralização da experimentação unindo debaixo de uma só direção todas as instituições que se ocupam desta atividade. É por isso que eu acredito muito acertada e oportuna a consideração como tema desta reunião da organização da experimentação agrícola, o qual não duvido que, dada a qualidade dos componentes dela, será discutido de maneira que trará grande beneficio para o progresso da agronomia argentina”.

A noite, reunião de comunicações e leitura de trabalhos apresentados. A Secção Vegetal se dividiu em várias sub-comissões.

Dia 3, pela manhã, visita ao notável, sob todos os pontos de vista, Instituto Fitotécnico de Santa Catalina, situado em Llavallol e dependência da Faculdade de Agronomia da Universidade Nacional de la Plata. Recepção pelo decano Eng. Agron. Juan Lindquist e pelo Eng. Agron. Salomon Horowitz, diretor do estabelecimento. São muito interessantes os trabalhos sobre genética do milho que se estão realizando nesse Instituto. Sobretudo relacionados com a obtenção de variedades resistentes às várias doenças e pragas que periodicamente atacam essa cultura, uma das mais importantes da Rep. Argentina.

Após percorrer todas as dependências, foi servido no Bosque do Instituto, um almoço aos delegados.

As 16 horas, reunião para tratar dos temas apresentados à discussão.

A Secção de Produção Vegetal, presidida pelo Eng. Agron. Enrique Klein, aprovou os seguintes trabalhos: “La uniformidad de las variedades seleccionadas”, J. B. Dellazoppa; “Cinco trigos argentinos; area de difusión de la zona de influencia del ferrocarril del Sud, con relación a su zona de origen; fomento rural de los ferrocarriles Sud y Oeste”, L. Ferenzena; “Ensayos cooperativos en la provincia de Santa Fé”, Bruno Santini.

A Sub-Secção de Solo e Clima aprovou os seguintes trabalhos: “Contribución al conocimiento del suelo de los “blaqueales” de Uruguay” e “Estudio edafologico y agricola de los perfiles de “la Estanzuela”, A. Arena, O. Bentanocur e R. Ribeiro; “Reconocimiento agronómico del departamento Vera (parte occidental) y del de-

partamento Nueve de Julio (parte oriental), de la provincia de Santa Fé", N. Lachaga e A. Dámaso; "Dinamica fisicoquímica y balance de iones en suelos y agua del Valle superior del Rio Negro"; "Porosidad y relaciones volumétricas estructurales de perfiles de suelos típicos del Valle superior del Rio Negro"; "Nuevas observaciones sobre un método tonométrico para investigar el coeficiente del agua aprovechable de suelos bajo riego"; "La estructura y estabilidad física de los suelos en la zona pampeana en erosión", A. Arena; "Estudio de algunas bacterias de azufre aislada de aguas y tierras", Lydia Sylvia Spain; "Sobre la presencia de algunas actinomicetales en el suelo", Celina Iacozis; "Comparación de métodos para determinación del poder nitrificador de los suelos", L. A. Garassini; "Presencia de *azotobacter agilis* en Norte y Sud America", Santos Soriano; "Aislamiento de las bacterias específicas de la nitrificación", Santos Soriano e L. Garassini.

A Sub-Secção de doenças e pragas aprovou os seguintes trabalhos: "Nuevos estudios sobre la evaluación de insecticidas para combatir la araña roja (*Pryobia praetiosa*, Koch), R. Cooper; "Sobre algunos acridios argentinos dañinos a las industrias agropecuarias del país", por J. Lieberman"; "La quemazón bacteriana del tabaco (*Phytopomonas tabaci*, Wolf e Foster, Bergey)", L. Halperin; "Los noctuidas argentinos, la subfamilia agrotinae, sección *Heliothinae*", P. Kuhler; "Nota crítica sobre las especies de *Urocystis* en Argentina", E. Hirschorn; "El Verdi" del maíz", J. B. Marchionatto; "La sílice en la conservación de los cereales", A. Rodrigues Jurado; "La langosta y los nuevos procedimientos de lucha", J. F. Tomasello.

As comunicações da secção agropecuária serão motivo de uma nota à parte com o resumo dos trabalhos.

Dia 4 de Abril — Pela manhã, reunião das varias comissões.

A Secção de Produção Vegetal aprovou os seguintes trabalhos:

"Ensayos sobre la lucha contra las malezas, ejecutadas en La Estanzuela, Uruguay", W. Noll; "Herencia de la resistencia a la langosta en el maíz amargo", S. Horowitz e A. Marchioni; "Demonstración del contenido de vitamina C de la Yerba mate por el método biológico" e "Sobre a presença de vitamina C de la Yerba mate por el método biológico" e "Sobre a presença de vitamina C en el mastuerzo", M. L. Henaiz e Escudero; "Mejoramiento del maíz dulce para la industria del envasado", S. Horovitz, A. Marchioni e N. Fischer; "Relación de épocas de siembra con rendimientos en

distintas variedades de maíces cultivadas en la estación experimental de Pergamino”, J. A. Etchecopar; “Observaciones sobre portainjerto”, “Ensayo sobre poda de mazanos”, Observaciones sobre poda en el sauce à lamo”, “Observaciones sobre el comportamiento de variedades de mimbres”, “Observaciones sobre la influencia de la poda en el saucèalamo”, “Observaciones sobre el comportamiento de algunas variedades de alámo recogidas en la Estación Experimental del Delta”, E. Amos e J. Barañao.

A Secção de sólo e clima aprovou os seguintes trabalhos:

“Determinación rapida del calcio e del fósforo en el suelo”, C. A. Fynn; “Determinación del fosfórico facilmente soluble y de la existencia en abonos de los suelos uruguayos”, D. Burdenski; “La produccion y calidad de la pasturas naturales en relación a tierras y clima”, G. Spangenberg, G. Nores, L. Montedonico e C. Fynn.

A Secção Agropecuária aprovou os seguintes trabalhos:

“Tipificaión y ensayo de clasificación de los tipos de queso más comunes para la exportación”, C. Luchesini e J. L. de Lóizaga; “Polplides obtenidos en Gallardia pulchella, Long, por a acción de la colchicina”, B. J. Senák; “Sorghum sudanense (Piper) Stpf., obtenipo por colchicina”, E. Salomón; “Aislamiento en cultivo puro de cianofíceas y algas monocelulares”, M. S. Cataldi; “Numero de cromosomas de algunas especies de Hordeum, expontaneas en la Argentina”, J. D. Perak; “Nota sobre los cromosomas de coryacris angusti pennis”, Alonso Castronovo; “La estruutura de las espiiguillas de arroz”, L. Parodi; “Nota sobre la citologia del genero Hippochoeris”, A. Saéñz; “Aislamiento, estudio y selección de levaduras para la elaboración industrial de hidromiel”, L. A. Garasini; “Algunas modificaciones quimicas que experimenta la “Mezcla lactéa Escudero” durante su conservación a distintas temperaturas”, G. Waismann e A. L. Pestazze; “Consideraciones sobre algunas técnicas microscopicas aplicables a los vegetales que intervienen en la alimentación humana, el estudio de la harinas y féculas por medio de la inclusión en parafina”, P. Escudero, D. Mosto e M. Polak; “Estudio sobre la presencia de bacterias esporuladas termófilas en los azúcares blancos molidos que es expendem en el comercio”, por A. M. Soriano e L. Garasini; “Escala de puntos aplicables à classificaión de caseinas lacticas”, I. Benchetrit, E. A. Mortstedt e A. A. Schnak.

Foram aprovadas as seguintes moções: do Eng. Agron. Fynn: “A Primeira Reunião Argentina de Agronomia resolve fazer chegar ao Ministerio da Agricultura da Nação um voto de aplauso pela cria-

ção da divisão de solos, o qual se fez extensivo ao pessoal da mesma, pela eficiência evidenciada nos trabalhos submetidos à consideração".

À tarde, visita à Faculdade de Agronomia e Veterinaria da Universidade Nacional de Buenos Aires, sob a direção do Eng. Agron. Juan B. Marchionatto. Recebidos pelo decano Dr. Ernesto Cánepa a Faculdade foi demoradamente visitada.

À noite, recepção oferecida no Centro Argentino de Engenheiros Agronomos na séde: Arenales — 1678. Discursos pelo presidente Eng. Agron. Luis A. Polledo e pelo embaixador do Uruguai, Sua Exa. Martinez Thedy.

Dia 5, pela manhã, visita à estação de quarentena de plantas do Ministério da Agricultura em José C. Paz. Recepção pelo Dr. A. A. Oglobin e pelo pessoal técnico desse estabelecimento. Visita demorada na qual se pôde apreciar os grandes estudos que se vem realizando sobre o gafanhoto, e, outros insetos prejudiciais à agricultura e investigações sobre doenças das plantas. Em seguida foi servido um almoço.

As 16 horas, reunião de comunicação. Sob a presidência do Eng. Agro. Alejandro Botto se realizou a sessão para votar sobre o tema oficial: "Organización de la experimentación agrícola"; foi relator o Eng. Agron. Lorenzo D. Parodi.

Na Secção de Produção Animal, foram aprovados os seguintes trabalhos:

"Algunas referencias sobre la osteomalacia "mal de paletas" ou "Chichada "de los bovinos de Corrientes", M. Morales Gomes e J. M. Quevedo; "Determinacion de la superficie corporal de la rata blanca", A. Escudero e M. L. Herráiz; "Modificaciones de la estructura de las carnes de consumo tratadas por ebulición y por fritura", B. Rothman e J. Radice; "Noticia sobre chloris distichophylla", por Juan R. Báez; "Dos aspectos de la vegetación del norte de San Luis, 2.^a parte: "Forrajes y malejas", por J. R. Báez; "Censo de praderas por el metodo de los puntos de Levy e Madden", por A. Burkart.

Secção de Plantas e seus melhoramentos: "Lutéomaculata, nuevo gen. del cuarto cromozoma del maiz", A. Horovitz; "La reaccion foloperiodica de las plantas y su aplicación a la Fitotécnica", M. Cavel; "Estudio de los tipos de las especies de gramineas del género Trisetum", L. R. Parodi e J. I. Valencia; "Especies citricas de Trisetum Pers que debera passar al genero "Deschampsia";

B. Rothman e Polak M.; "Producción experimental de alternaciones en los cromosomas por la acción de gravedad en *Schistocerca paranensis*" A. Sáez.

A Sub-Secção de doenças pragas e conservação das colheitas, aprovou os trabalhos: "Lista de los parásitos vegetales determinados en las mercadorias de importación", A. Pascucci; "Seccion antifiloxérica y de patologia viticola, Mendonza", Juan R. Christensen; "Nómina de los insectos y otros animales perjudiciales en los productos vegetales importados", J. A. Pastrana; "Lista de Meniracidae encontrados en la República Argentina y algunos países limítrofes", J. E. Christensen; "Algunas observaciones sobre las moscas de las fructas en la Argentina", K. Y. Hayvard.

Dia 6, pela manhã no salão Ameghino da Sociedade Científica Argentina e com a assistência dos delegados argentinos e estrangeiros foi realizada a sessão plenária. Foram lidos os títulos e o nome dos autores dos trabalhos apresentados. Esses foram aprovados na sua grande maioria, outros só foram aprovados em parte e de alguns o plenário se limitou a tomar conhecimento, e poucos outros não foram aceitos.

À tarde, sessão de encerramento no mesmo local. Discursou o Eng. Agron. Santos Soriano, vice-presidente da Sociedade, que disse entre outras cousas o seguinte:

"Um conjunto seléto de investigadores do país e do estrangeiro, que cultivam os distintos ramos das ciências agrícolas, participaram da reunião apresentando trabalhos que foram debatidos em fórma ampla de acordo com os propósitos iniciais da mesma.

"Alguns dos participantes tiveram, talvez, ocasião de receber sugestões derivadas do exame de seus trabalhos, feitos com amplo espírito de crítica construtiva. Outros, tiveram a satisfação de ver reconhecido publicamente o esforço silencioso e contínuo realizado com a modéstia que caracteriza o verdadeiro investigador.

"Todos ficámos com a satisfação de haver participado da execução de uma obra útil, para o futuro desenvolvimento das diversas disciplinas que formam a agronomia.

"Foi debatido, também, o mais transcendental problema que temos ainda sem resolver em nosso país, que é o da organização da experimentação agrícola e que constituiu o tema oficial da reunião. A esse respeito ouvimos a palavra autorizada dos diversos experimentadores que participaram da exposição do tema".

Expressou o orador o seu reconhecimento às delegações do Uruguai e do Brasil e aos demais delegados de instituições, aos autores dos trabalhos apresentados, propondo um voto de aplauso ao presidente Juan B. Marchionatto.

Usou da palavra, em seguida o Eng. Agron. Alejandro Botto expressando: “A agricultura européa deu ao universo suas normas e processos e os povos novos do mundo, dentre os quais se destacam os Estados Unidos, souberam frutificar seus benefícios e constituir, com a sua contribuição, o expoente que hoje representa. Os países da América Latina a esse respeito não ficaram atrás, e, embora em algumas partes sua consolidação não tenha conseguido o valor utilitário que da mesma se espera, não deixou contudo de produzir os seus frutos.”

“Assim como conseguimos que o agricultor alcançasse em toda a sua extensão o valor da experimentação, teremos que conseguir que esse critério chegue até ao legislador, e que este, uma vez penetrado do que possa representar para a agricultura nacional a sanção das leis que a estabeleçam definitivamente, que a amparem e a custeiem, não deixe de fazê-lo.”

Falou em nome da delegação Uruguaia o Eng. Agron. Sócrates Rodrigues, expressando conceitos altamente elogiosos para o labor da reunião e agradeceu a hospitalidade argentina.

À noite, banquete no Alvear Palace. Vários oradores se fizeram ouvir.

SOBRE O TEOR DE VITAMINA "C" NO LEITE DE SÃO PAULO

RENATO FONSECA RIBEIRO

Químico chefe do Instituto Adolfo Lutz

LÚCIA ACHÉ

Química do Instituto Adolfo Lutz

Os recentes progressos na química das vitaminas têm permitido refazer com mais precisão o doseamento dos diferentes fatores nas substâncias alimentares, corrigindo as cifras anteriormente obtidas. Cada vez mais, os processos químicos substituem as dosagens biológicas, principalmente porque estas são de muito mais difícil realização que aquelas e porque, via de regra, o curto espaço de tempo exigido por um método químico torna realizável a pesquisa em série no mesmo substrato ou em substâncias diferentes.

Os métodos químicos anteriormente utilizados para doseamento da vitamina "C", fosse o do iodo ou do azul de metileno ou do 2-6 diclorofenolindofenol, etc., estavam sujeitos a grandes causas de erros, quer por excesso, quer por omissão.

Erros por excesso, porque os reativos, não sendo específicos, doseavam, juntamente com a vitamina "C", outras substâncias não anti-escorbúticas, tais como a cistina, a glutathiona, etc. e erros por omissão, visto que a vitamina "C" se encontra na natureza sob três formas conhecidas (ácido ascórbico, ácido dehidroascórbico e ascorbinógeno) das quais uma — o ácido ascórbico — reage com os reativos habituais da vitamina "C".

Foi principalmente a descoberta de um fermento agindo especialmente sobre o ácido ascórbico — a ascorbinase — que veio assegurar uma garantia de êxito no doseamento mais preciso da vitamina "C".

O método se baseia na determinação inicial do conjunto de substâncias capazes de agir como vitamina "C", em face dos reativos, principalmente o de Tillmans, e na doseagem ulterior, no mesmo substrato, depois de ter sido destruído pelo fermento o ácido cevitâmico; é evidente que a diferença entre essas duas titulações dará o valor real do ácido cevitâmico.

E' de grande conveniência que tenhamos os valores das diferentes vitaminas nos nossos alimentos e o pouco que se tem feito até o presente com respeito ao fator anti-escorbútico em nosso meio, precisa ser inteiramente revisto em outras bases de processos de investigação adotando-se o método específico da ascorbinase.

Nas linhas que se seguem daremos os primeiros resultados de uma série de investigações adotando-se o método da ascorbinase Tauber e Kleiner modificado por Leser.

MÉTODO PARA O LEITE

a) *Reativos:*

1 — Reativo de Tillmans. Extraem-se aproximadamente 200 mg. de 2-6 di-clorofenolindofenol (Merck ou Kodak) em H₂O aquecida a $\pm 60^{\circ}\text{C}$. passando-se o extraído em filtro até o esgotamento completo do corante. E' recomendavel este modo de operar porque certos reativos de Tillmans não sendo absolutamente puros deixam resíduos que ficam sobre o filtro. Completa-se o volume de um litro e junta-se uma ponta de faca de bicarbonato de sódio (aproximadamente 1,5 gr.). Assim preparado, o reativo conserva-se sem perder o título, na geladeira, por mais de 30 dias, sendo, não obstante, conveniente titular semanalmente. A titulação pôde ser feita pelo método de Pimenta, devendo esse título corresponder a 5 cc. do reativo para 1 mg. de ácido ascórbico.

2 — Ácido metafosfórico a 3%.

3 — Gás sulfídrico, que pôde ser preparado em aparelho de Kipp.

4 — Gás carbônico. Usar-se-á um torpedo de CO₂ ou um aparelho de Kipp.

5 — Solução tampão aceto-acética, 0,2M, de pH = 6; medem-se 51 cc. da solução 0,2M de ácido acético em um balão de um litro e completa-se o volume de 0,2M de acetato de sódio.

6 — Solução de fermento. Técnica de Fujita e Sakamoto com a modificação de Leser: rala-se, em ralador comum de cozinha, a parte cortical do pepino (*Cucumis sativus*) e expreme-se em pano. A cada 10 cc. do caldo obtido juntam-se 4 gotas de solução molar de acetato de bário e filtra-se; adicionam-se, então, 0,5 cc. de solução saturada de sulfato de amônio e separa-se por centrifugação ou em filtro o depósito formado; satura-se com sulfato de amônio, centrifuga-se para separar o precipitado de ascorbinase e lava-se esse precipitado 4-5 vezes com solução saturada de sulfato

de amônio. Suspende-se o depósito com água e dializa-se por 24 horas em saco de papel celofane, contra água corrente, se possível em câmara fria, adicionando-se previamente algumas gotas de toluol. Filtra-se e conserva-se em geladeira. A estabilidade é satisfatória por 30 dias. A atividade do fermento é determinada fazendo-se agir quantidades variáveis desta solução em uma quantidade fixa de ácido ascórbico durante 15 minutos, em pH 6 e a 38°C.. A atividade do fermento é interrompida no momento desejado pela junção de 1-2 cc. de ácido metafosfórico a 3%.

b) *Técnica:*

1.º tempo — A 5 cc. de leite juntam-se 2-4 cc. de ácido metafosfórico a 3% e titula-se pelo Tillmans contido em uma microbureta. Cerca de 3 gotas ou seja, 0,10 cc. equivalem-se ao "blank" e por isso essa cifra deve ser deduzida da leitura da bureta. *Nota:* a coloração rósea da viragem fica absorvida no precipitado de caseína facilitando a leitura.

2.º tempo — Passar uma corrente SH_2 em 15 cc. de leite por 5 minutos, arrolhar o recipiente e deixá-lo na obscuridade por 12 horas. Normalmente o máximo de eficiência do SH_2 só se manifesta em pH maior que 4 o qual é sempre o caso do leite não fermentado, razão por que não há necessidade de correção.

3.º tempo — Passar uma corrente de CO_2 no leite anteriormente tratado até prova negativa no papel de acetato de chumbo e dosear em 5 cc. pelo Tillmans como no tempo 1.º. A outros 5 cc. junta-se a quantidade calculada do fermento, "x" cc. do tampão de pH 6 e incubar 30 minutos a 38°C.. Juntam-se 2-4 cc. de PO^3H^2 e titula-se pelo Tillmans.

CÁLCULO

A primeira titulação dá unicamente indicação da quantidade total de ácido ascórbico e de outras substâncias Tillmans-redutoras existentes. *Nota:* Em todos os nossos exames (leite pasteurizado) o resultado foi sistematicamente — zero.

A segunda titulação indica o valor do ácido ascórbico existente mais as substâncias interferentes que se encontram no substrato, assim como as que apareceram mercê dos agentes redutores SH_2 e somadas ao ácido ascórbico que se formou pela hidrogenação do ácido dehidroascórbico.

A terceira titulação dosa tođas as substâncias anteriores, menos o ácido ascórbico.

A diferença entre a 2.^a e a 3.^a titulações indica, portanto, o valor da vitamina "C" do substrato. O número em cc. que indica esse valor, multiplicado pelo fator de Tillmans e por 20 dará o resultado percentual da vitamina "C".

RESULTADO

Para demonstração da eficiência dos métodos fizemos os dois tipos de prova seguintes:

1.º — *Doseamento repetido no mesmo substrato.*

Número	Resultado mgrs. %
1	0,7056
2	0,7448
3	0,7448
4	0,7056
5	0,7056
6	0,6654
7	0,7056
8	0,7448
9	0,7056
10	0,7056
11	0,7056
12	0,7448
13	0,7056
14	0,6654
15	0,7056
16	0,7448

2.º — *Prova de recuperação* — Fizemos vários ensaios sobre um mesmo leite ao qual juntámos quantidades variáveis de ácido ascórbico e constatámos que os resultados encontrados eram sensivelmente iguais ao teor vitamínico do leite adicionado da quantidade juntada.

AMOSTRAS DE LEITE DE SÃO PAULO

Em conjunto de diferentes amostras do leite do consumo da cidade de São Paulo, foram encontrados resultados da pagina imediata importando notar-se que as doseagens antes da passagem do H₂S foram sempre negativas, demonstrando que todo o ácido ascórbido se encontra sob fórmula oxidada.

As amostras por nós utilizadas para a determinação da vitamina "C" foram aquelas mesmas colhidas pelo Serviço de Policiamento da Alimentação Pública em sua fiscalização quotidiana. Isto quer dizer que são amostras do leite tal qual é entregue ao consumo.

E afim de se julgarem possíveis diferenças entre leites de procedências diversas, damos a seguir os resultados da análise de leites de duas uniões distribuidoras:

A 1.^a coluna significa a quantidade de ácido ascórbico após a passagem do SH₂ e CO₂ em mg. %;

A 2.^a coluna significa o resto da oxidação em mg. %;

A 3.^a coluna significa a quantidade de ácido ascórbico verdadeiro em mg. %.

UMA USINA DISTRIBUIDORA

Mgrs. de ácido ascórbico %, depois da passagem de SH ₂ e CO ₂	Resíduo de oxidação	Ácido ascórbico real em mgrs. %.
3,42	2,59	0,8208
3,55	2,59	0,9234
3,48	2,63	0,8550
3,48	2,59	0,8550
3,83	2,90	0,9234
3,45	2,87	0,5814
2,66	2,01	0,6498
3,33	2,73	0,5940
3,33	2,73	0,5940
3,55	2,56	0,9918
3,48	2,53	0,9576
3,59	2,80	0,7860
3,62	2,66	0,9576
3,32	2,62	0,7040
3,29	2,62	0,6720
3,29	2,52	0,7680
3,12	2,38	0,5780
3,26	2,38	0,8840
3,33	2,38	0,9520
4,08	3,10	0,5792
4,16	3,06	0,1000
4,32	3,34	0,9792
4,16	3,26	0,8975
4,19	3,17	1,0192

(*) Nota — Conservamos os valores de ácido ascórbico real obtidos com as 4 decimais, nas outras duas colunas fizemos a aproximação. O mesmo critério adotamos na página seguinte.

OUTRA USINA DISTRIBUIDORA

Mgrs. de ácido as- córbico %, depois da passagem de SH ₂ e CO ₂	Resíduo de oxidação	Ácido ascórbico real em mgrs. %.
3,55	2,59	0,9576
3,48	2,46	1,0602
3,52	2,59	0,8234
3,48	2,59	0,8892
3,45	2,77	0,6840
3,48	2,87	0,6156
3,20	2,37	0,8250
3,26	2,44	0,8250
3,20	2,40	0,8780
3,28	2,56	0,7182
3,48	2,39	1,0944
3,48	2,59	0,8892
3,48	2,80	0,6840
3,52	2,83	0,6840
3,52	2,83	0,6840
3,69	2,81	0,8760
3,28	2,56	0,7182
3,28	2,40	0,8892
3,48	2,80	0,6840
3,59	2,80	0,7866
3,69	3,00	0,6840
3,69	3,00	0,6840
3,69	3,00	0,6840
3,61	3,52	0,9600
3,45	2,49	0,9800
3,52	2,72	0,8000
3,26	2,46	0,8000
3,26	2,56	0,7040
3,26	2,56	0,7040
3,32	2,68	0,6400
3,36	2,68	0,6720

Conforme era previsto o teor em vitamina "C" no leite é muito reduzido, não podendo esse alimento ser considerado como fonte útil de ácido ascórbico; os nossos resultados concordam razoavelmente com os referidos por Drose e Bramsel que apresentam com valores para o leite cru 1,65%, para o leite fervido, 1,2%, para o leite

pasteurizado por curto tempo, 1,50%, e, para o pasteurizado por longo tempo, 0,99%.

Seja dito que muito mais altos são os valores apresentados no livro de Rudolph onde o teor de vitamina "C" para o leite cru é expresso pela cifra de 5,28% e de 4,15% para o leite fervido uma vez.

Agradecemos a colaboração prestada por DD. Candida Fonseca, Catarina Libonatti Mormano, Lygia Arantes e Snr. Nelson Cagno, todos da Secção de Química Aplicada.

RESUMO

Em um conjunto de 57 amostras de leite de consumo da cidade de São Paulo, a doseagem do ácido ascórbido pelo método específico da ascorbinase revelou valores colocados entre 1,0944 e 0,5780 com média de 0,7881.

BIBLIOGRAFIA

- DROSE, W. e BRAMSEL, H. — 1941 — Vitamin — Tabellen der gebräuchlichsten Nahrungsmittel — ed. Von Johann Ambrosius Barth — Leipsig.
- RUDOLPH, Willi — 1939 — Vitamin C und Ernährung — ed. Ferdinand Enke — Stuttgart.
- TAUBER, H. e KLEINER, I. — 1935 — Jour. Biol. Chem. 110, 559.
- LESEER, W. P. — informação pessoal do autor.

FARINHA DE CEBOLA

(Nota prévia)

LÚCIA ACHÉ

Química do Instituto Adolfo Lutz

Em Janeiro de 1940, quando à testa da secção de condimentos, conservas salgadas e gorduras, do Serviço do Policiamento da Alimentação Pública, tivemos a oportunidade de receber uma amostra de farinha de cebola. Desconhecíamos, até então, produtos semelhantes, apesar dos nossos 15 anos de serviços prestados em bromatologia.

Chamou-nos desde logo a atenção o fato da originalidade da idéia, uma vez que o produto apresentado parecia-nos conservar as características da cebola, condimento conveniente ao bom sabor dos alimentos e ao qual, ultimamente, se têm emprestado certas virtudes, como, por exemplo, contribuir para a normalização da tensão arterial quando elevada, etc..

Era natural que, em se tratando de assunto completamente novo e de escassa literatura, fossemos obrigados a nos valer dos próprios recursos para levar a bom termo a empreitada. Atendendo a estas circunstâncias, foi que recorremos à amostra de cebola em natureza e realizámos sobre este material várias determinações com o intuito de nos orientarmos e determinar o ponto de partida.

Uma vez estabelecida a marcha para as experiências, demos início então ao verdadeiro trabalho de laboratório, obedecendo como critério o valor estimativo das seguintes determinações: água, cinzas, lipídios, protídios, acidês, matérias redutoras e essência; determinações estas que foram feitas, não simplesmente na amostra em ensaio, mas também nas cebolas frescas, secas a 60°C. e secas a vácuo.

Estabelecido o critério inicial para a análise química, dedicámo-nos à observação dos caracteres organoléticos da farinha de cebola, que se apresentava como um pó grosso, granulado, sabor característico, cheiro *sui-generis*, côr amarelada, aspecto agradável, dando

ao tacto uma ligeira impressão de humidade. Estes caracteres apresentados pela amostra em ensáio são idênticos aos das farinhas por nós preparadas, secando a cebola a vácuo e a 60°C..

Passámos então ao exame químico propriamente dito. Realizadas as várias determinações, obtivemos como média de resultados concordantes o quadro que abaixo transcrevemos:

	<i>Água</i>	<i>Cinzas</i>	<i>Lípidios</i>	<i>Protídios</i>	<i>Acidés</i> (H_2SO_4)	<i>Mat. red.</i>	<i>Essências</i>
	%	%	%	%	%	%	%
Cebola em fôrma de farinha	12,30	3,30	1,84	11,92	0,294	12,388	0,0783
Cebola fresca	85,50	0,65	0,336	0,041	0,170	6,01	0,0876
Cebola seca a 60°C.	14,34	4,10	0,430	9,218	0,245	29,122	0,0944
Cebola seca a vácuo	18,24	3,44	1,888	10,718	0,235	12,14	0,4380

Da observação deste quadro resultam dois fatos essenciais que estudaremos em detalhe:

1.º) A farinha em questão era de fato proveniente de cebolas secas e trituradas.

2.º) O processo aconselhavel para obtenção da farinha é a secagem a vácuo.

A primeira questão pôde ser facilmente demonstrada pela semelhança dos resultados encontrados, como se vê no quadro acima, resultados estes que naturalmente têm que se apresentar ligeiramente divergentes, quer pela qualidade do material, quer pela maturidade, quer pela região onde foi cultivada e outros muitos fatores que não nos cabia estudar no momento. De todas as determinações a mais importante é indiscutivelmente a dosagem da essência.

As médias encontradas foram:

Essência encontrada na cebola em fôrma de farinha	0,0783
" " em cebolas secas a 60°C.	0,0949
" " em cebolas secas a vácuo	0,4380
" " em cebolas frescas, calculada em mat. seca	0,4993

Por estes dados se infere que a farinha original foi obtida por secagem em estufa, pois que o resultado obtido foi muito próximo àquele alcançado com a amostra por nós preparada.

Quanto ao segundo fato, isto é, à vantagem da obtenção de farinhas de cebolas por secagem a vácuo, ressalta da diferença das

cifras encontradas nas dosagens acima, pois, tomando para média do teor em água de 15%, vemos que cebola fresca, reduzida a farinha, deveria dar 0,4993% de essência, e, no entanto, seca a 60°C., teve uma perda de 0,4044. Na farinha de cebola em análise a perda foi de 0,4210 e a seca no vácuo somente de 0,0613.

Ora, o valor da cebola como condimento é dado principalmente pela quantidade de essência que ela contem. E' assim que, quanto maior o teor em essência, menor quantidade será exigida para obtenção do bom paladar do alimento.

Examinando os resultados por nós obtidos, não somente na amostra examinada, mas também naquelas por nós preparadas, verificamos que a perda de essência é insignificante, tomando-se por base a porcentagem da essência, considerando-se a cebola fresca e a farinha obtida em estufa. Mas, se considerarmos o valor da essência contida na farinha de cebolas obtida pela simples secagem em estufa e o da farinha obtida pela secagem a vácuo, constatamos que o teor de essência é aumentado consideravelmente: cerca de 5 vezes maior. A porcentagem de essência da farinha de cebolas obtida a vácuo é praticamente a mesma que a calculada tomando como base a porcentagem de essência na cebola fresca, reduzida a substância seca. Daí se infere que, pela secagem a vácuo, apenas a água se volatiliza, deixando a essência (tambem volátil, porem a maior temperatura) praticamente em sua totalidade.

Outro fato não menos importante é que a cebola fresca tem a sua duração limitada pelo apodrecimento, ao passo que a farinha de cebolas, dado o seu pequeno teor em água, tem praticamente duração ilimitada.

Finalizando essa rápida nota, achamos conveniente uma pequena crítica quanto à porcentagem de água, que deve ser a mais reduzida possível. Na amostra original encontramos apenas 12,50%. É claro que, quanto menor fôr a quantidade de humidade contida na farinha, tanto mais facil será sua conservação. Este fato indicaria, talvez, que o melhor modo de proceder é, ou prolongada secagem a vácuo, ou a associação do vácuo ao calor, operando possivelmente entre 40° a 45°C..

Não tivemos oportunidade de fazer tal verificação. Nestas condições, é nosso pensamento continuar a estudar a cebola sob a fôrma de farinha, não só com relação ao teor em essência, como também sob outros aspectos, como, por exemplo, a presença e quantidade das várias vitaminas.

CONCLUSÃO

a) A cebola presta-se para ser consumida sob a forma de farinha, razoavelmente seca.

b) No estado de farinha a cebola seca satisfaz plenamente as condições que lhe são peculiares como condimento.