

Sobre a pesquisa do bacilo da tuberculose nos escarros, contagem de bacilos referindo-os a um determinado peso de material.

pelo

DR. A. FONTES.

(Assistente.)

De la recherche du bacille de la tuberculose dans les crachats, et du calcul des bacilles, en les rapportant à un poids déterminé de matériel.

par

le DR. A. FONTES.

(Assistent.)

No numero 22 do "Brazil - Medico", de 8 de Junho de 1913, apresentei um metodo de homojeneização de escarros ao qual attribuia as seguintes vantagens:

- a) homojeneização perfeita.
- b) rapidez na homojeneização.
- c) ausencia de sedimento mineral.
- d) inalterabilidade dos bacterios.
- e) liquido resultante menos denso que os bacilos, permitindo uma centrifugação facil.
- f) liquido resultante perfeitamente fluido (ausencia de viscosidade).

Empregava para isso as seguintes soluções:

- A) Solução centinormal de acido chlorhydrico.
- B) Solução decinormal de soda.

Dans le numéro 22 du «Brazil Medico», du 8 juin 1913, j'ai exposé une méthode pour l'homogénéisation des crachats, à laquelle j'attribuais les avantages suivants:

- a) homogénéisation parfaite.
- b) rapidité de l'homogénéisation.
- c) absence de sédiment minéral.
- d) inaltérabilité des bactéries.
- e) liquide résultant, moins dense que les bacilles et permettant une centrifugation facile.
- f) liquide résultant complètement fluide (absence de viscosité).

J'employais pour cela les solutions suivantes:

- A) Solution centinormale d'acide chlorhydrique.
- B) Solution décinormale de soude.

C) Agua oxijenada a 12 volumes.

A tecnica aconselhada era a seguinte:

Para cada centimeto cubico de escarro empregava 10cc de soluçao acida, ajitando em um provete de pé com um bastão para que os grumos ficassem bem separados. Observa-se assim procedendo que o escarro perde a viscosidade.

Juntar, ajitando fortemente, para cada cc. de escarro a seguinte mistura:

Soluçao decinormal de soda. . . . 10 cc.

Agua oxijenada 10 cc.

Fazer desaparecer a espuma, juntando alcool ás gotas.

Si houver alguma viscosidade ainda juntar alguns cc. de agua.

A pratica desse processo pelo espaço de um ano mostrou-me que nem todas as condiçoes de vantajem poderiam ser consideradas como rigorosamente exatas.

É assim que em alguns escarros a viscosidade permanece, sendo necessario diluir o material a tal ponto que o volume obtido perturba o processo de centrifugaçao, e isso é tanto mais de receiar quanto o metodo pelas suas primeiras manipulaçoes já fornece um volume excessivo (1 cc. de escarro para 30 de veiculo homojeneizador).

Um outro inconveniente é a demora em ser inteiramente eliminado o oxijeno desprendido, que o sendo em pequenas bolhas, muitas vezes acarreta após a centrifugaçao do liquido o sedimento para a superficie.

Esses inconvenientes desaparecem operando do seguinte modo:

Para cada cc. ou gr. de escarro juntar 5 cc. de soda decinormal e ajitar fortemente para dissolver o material, tratando de separar bem mecanicamente os grumos acaso existentes.

Juntar 5 cc. de agua oxijenada a 12 volumes. Ajitar até que a homojeneizaçao pareça completa. Colocar em estufa entre 45 e 50°, ou aquecer em B. M. nas proximidades dessa temperatura até que não se desprenda mais oxijeno, o que se facilita ajitando de vez em quando. Isso tambem pode ser conseguido pela aspiraçao por uma trompa qualquer. Não é imprescindivel o aquecimento do material.

C) Eau oxygénée à 12 volumes.

La technique conseillée était la suivante:

Employer pour chaque cc. de crachat 10 cc. de solution acide dans une éprouvette à pied, en agitant avec un bâton pour bien séparer les grumeaux. On observe alors que le crachat perd sa viscosité. Ajouter, en agitant avec force pour chaque cc. de crachat le mélange suivant:

Solution décinormale de soude 10 cc.

Eau oxygénée 10 cc.

Faire disparaître l'écume en ajoutant de l'alcool aux gouttes.

Si le liquide est encore visqueux, ajouter quelques cc. d'eau.

La pratique de ce procédé pendant un an m'a prouvé que tous les avantages préconisés ne peuvent être considérés comme rigoureusement exacts.

C'est ainsi que la viscosité subsiste dans certains crachats; il faut alors dissoudre le matériel à un tel point que le volume obtenu vient troubler le procédé de centrifugation, et cela est d'autant plus à craindre que la méthode, par ses premières manipulations fournit déjà un volume excessif (1 cc. de crachat pour 30 de véhicule homogénéisateur).

Un autre inconvénient est la lenteur que met l'oxygène produit à être complètement éliminé. L'élimination au moyen de petites bulles, fait souvent, après la centrifugation du liquide, monter le sédiment à la surface.

Ces inconvénients disparaissent en procédant comme suit: Ajouter à chaque cc. ou gr. de crachat, 5 cc. de soude décinormale et agiter fortement pour dissoudre le matériel, en veillant à bien séparer les grumeaux qui pourrait s'y trouver. Ajouter 5 cc. d'eau oxygénée à 12 volumes. Agiter jusqu'à ce que l'homogénéisation semble parfaite. Mettre dans une étuve entre 45 et 50° ou chauffer au bain-marie, plus ou moins à cette température jusqu'à ce qu'il ne se dégage plus d'oxygène, ce qu'on facilite en agitant de temps en temps. Ce résultat peut s'obtenir par l'aspiration avec une trompe. Il n'est pas indispensable de chauffer le matériel; mais l'effet de la chaleur rend l'homogénéisation plus rapide. Les deux reagents peuvent être employés dans une seule fois.

On peut ajouter de l'alcool si l'on observe de l'écume, ou même pour garantir l'abaissement de la densité du liquide, ce qui évitera l'obligation de vérifier la densité

Em todo caso a ação do calor apressa a homojeneização. Os dous reagentes podem ser empregados em um unico tempo. Pode-se juntar alcool caso exista alguma espuma, ou mesmo como garantia do abaixamento da densidade do liquido, o que evita a necessidade de verificar a densidade antes da centrifugação.

Centrifugar durante 15 minutos a 1200 voltas.

A verificação bacteriológica dos sedimentos obtidos de escarros tuberculosos, após homojeneização por esse metodo, *feita porém a frio, sem permanencia do material na estufa*, mostrou sempre que os bacilos da tuberculose achavam-se mortos, pois os animais injectados com esses sedimentos não se infetavam, o que obriga para a verificação dos casos negativos a inoculação de animais com o material em natureza. Dai decorre não haver inconveniente no uso do calor para facilitar a homojeneização.

O exame microscopio do sedimento mostrava a integridade morfológica das celulas bacterianas (microbios de associação e bacilos da tuberculose) que conservavam suas afinidades corantes.

Esses sedimentos inoculados em cobaias não determinaram formação de abcesso, nem de cancro ou tampouco reação ganglionar aparente, (os animais não se tuberculizaram no prazo de 6 mezes).

Para o exame microscopico o sedimento obtido pela centrifugação do material deve ser espalhado em laminas, na relação de 1 ou 2 laminas para cada cc. do material em natureza, empregado para a homojeneização, ou 10 cc. do material homojeneizado.

Sobre essas laminas deve-se proceder a contagem.

A contagem dos bacilos assim feita referirá o numero medio de bacilos por campo de observação do sedimento correspondente a 1 cc ou gr. do escarro.

Manguinhos, Julho — 1914.

du liquide avant la centrifugation.

Centrifuger pendant 15 minutes à 1.200 tours.

La verification bacteriologique des sédiments obtenus de crachats de tuberculeux, après l'homogénéisation par cette méthode, *mais faite à froid et sans la permanence du matériel dans l'étuve*, a toujours démontré que les bacilles de la tuberculose étaient morts. En effet, les animaux auxquels on injectait ces sédiments n'étaient pas infectés, ce qui nous obligeait pour vérifier les cas négatifs, à inoculer des animaux avec le matériel à l'état naturel. D'ou il s'ensuit qu'il n'y a d'inconvénient à employer la chaleur pour faciliter l'homogénéisation. L'examen microscopique du sédiment révélait l'intégrité morphologique des cellules bactériennes (microbes d'association et bacilles de la tuberculose) qui gardaient leurs affinités colorantes.

Ces sédiments, inoculés à des cobayes n'ont pas déterminé la formation d'abcès, ni de chancre ni même de une réaction ganglionaire apparente (les animaux, au bout de six mois, ne présentaient aucun symptome de tuberculose).

Pour l'examen microscopique le sédiment obtenu par la centrifugation du matériel doit être répandu sur des lamelles (1 ou 2 lamelles par cc. du matériel en état naturel) employés pour l'homogénéisation, ou 10 cc. de la matière homogénéisée.

Sur ces lamelles on doit calculer le nombre de bacilles par champ d'observation du sédiment correspondant à 1 cc. ou gr. de crachat.

Manguinhos, Juillet — 1914.