

Estudos sobre a lepra

II. TENTATIVAS DE CULTURA DO *MYCOBACTERIUM LEPRAE* (*COCCOTHRIX LEPRAE* LUTZ, 1886). ISOLAMENTO DE UM *ACTINOMYCES* DE UM LEPROMA. O *ACTINOMYCES LEPROMATIS*, n. sp.

(Nota prévia com 11 figuras)

Pelo Dr. H. C. de SOUZA-ARAÚJO.

Depois de varias tentativas infructiferas para cultivar o bacillo da lepra, consegui isolar, de leproma, um actinomyces a que dei o nome de *Actinomyces lepromatis*.

Extirpando, por enucleação, lepromas floridos da doente H. S., que o Dr. OSWINO PENNA teve a bondade de me recommendar, utilizei-os para inoculações e sementeiras.

Os meios sementeados com emulsão de bacillos permaneceram aparentemente estereis até o 15º dia, quando o caldo glicerinado começou a mostrar ligeiro grumo, no fundo do tubo, sem turvação do meio, o mesmo acontecendo, muitos dias após, com o caldo simples. Esfregaços desse material, colhido no fundo do tubo, com pipeta, e corados pelo ZIEHL-NEELSEN revelaram uma cultura mixta de bacillos acido-alcool-resistentes e filamentos, ramificados alternadamente, impregnados pelo corante de fundo. Subculturas em agar, caldo e batata, glicerinados a 5 0/0, revelaram, ao microscopio, menor quantidade de bacillos e maior riqueza de filamentos.

Culturas subseqüentes apresentaram apenas filamentos com os caracteres typicos de um actinomyces, que estudei em collaboração com o Dr. OLYMPIO da FONSECA filho, chefe da Secção de Mycologia do Instituto Oswaldo Cruz.

No mesmo dia em que semeei emulsão, depositei, sobre agar glicerinado, fragmentos de lepromas da mesma procedencia, nos quaes o bacillo de HANSEN se multiplicou, sem, comtudo, se adaptar ao meio, resultando negativas as repicagens.

Esfregaços desse tecido leproso, depois de 60 e até 120 dias, revelaram grande abundancia de bacillos acido-resistentes, sem nenhum outro germen. Já verifiquei este facto com material de quatro doentes, e isto é uma repetição dos resultados das pesquisas de NEISSER, BE'ZANÇON, EMILE-WEIL e CHARLES NICOLLE, dentre os antigos. Modernamente HERMANN de SCHROETTER, de Vienna, sementeando emulsão de leproma em meios com sôro de leproso, e SUSVIELA GUARCH, de Montevidéo, cultivando lepromas em meio de CARREL para tecidos, obtiveram a proliferação do bacillo de HANSEN, sem obter subculturas. O que vi no Japão, nos laboratorios de HARADA e de KUJO (Osaka) é mais significativo: os fragmentos de lepromas servem de alimento natural aos bacil-

los, que, se multiplicando sempre, chegam a se adaptar ao meio artificial, dando subculturas pathogenicas para os animaes de laboratorio.

O *A. lepromatis* desenvolve-se bem tanto nos meios solidos communs como nos meios liquidos. Não se multiplica, ou se multiplica mal, nos meios de SABOURAUD e não funde a gelatina. Só coagulou o leite depois do 15º dia. E' no agar simples que produz os aspectos mais typicos, porém no agar glycerinado produz colonias mais exuberantes, de côr amarello-alaranjada. O cogumelo produz nestes dous meios colonias com sulcos radiados, e forte pigmentação. Tanto no agar como na batata glycerinados reveste-se duma camada branca, cretacea, característica da esporulação dos actinomycetos. As culturas são fortemente adherentes ao substratum. No agar com manteiga e com oleo de olivas, aconselhados por LIESKE, em poucos dias forma-se uma camada lusidia que cobre todo o meio. Ahí a pigmentação é menos accentuada e a cultura menos chromogenea, produzindo, ás vezes, formas bacillares acido-alcool-resistentes. Nos meios de LOEFFLER e de PETROFF produz colonias grandes, cerebriformes, de cor amarella-viva.

Desenvolve-se bem nos caldos simples e glycerinado, na agua peptonada, formando colonias globosas, no fundo do tubo, sem turvar o meio, mas pigmentando-o fortemente.

Ao exame microscopico o cogumelo apresenta a morphologia característica dum actinomyces do 1º typo: thallo rudimentar com ramificações verdadeiras, em direcções alternadas, não bacilliformes. E' GRAM-positivo e não acido-resistente, como a maioria dos actinomyces. Esfregaços da camada cretacea de esporulação mostram esporos coccoides, ligeiramente alongados, GRAM-positivos. Esfregaços de culturas em agar-manteiga e agar-oleo de olivas, mostram mycelios degenerados, não acido-resistentes e filamentos e bastonetes acido-resistentes, propriedade esta que poderá ser mantida com maior numero de passagens em meios gordurosos. Proseguiremos nos estudos biologicos e experimentaes do cogumelo ora descrito.

CONCLUSÕES:

1. Não sei, ainda, que relação tem o *Actinomyces lepromatis* com a lepra. O seu isolamento é a repetição, em parte, dos resultados das pesquisas de DEYCKE e RESCHAD, WILLIAMS, ROST, KEDROWSKI, HERMAMN de SCHROETTER, e outros.

2. O Prof. W. J. KEDROWSKI, de Moscou, após longos annos de estudos, chegou á conclusão de que os bacillos da lepra e da tuberculose pertencem a um grupo de actinomycetos.

3. Rec entemente KEDROWSKI, BRULOWA, PLATONOV, etc., conseguiram mutações de culturas velhas de bacillos da lepra e da tuberculose em actinomyces.

4. Culturas de *Actinomyces lepromatis* produziram, em meios gordurosos, formas bacillares acido-alcool-resistentes.



Fig. 1



Fig. 2



Fig. 3



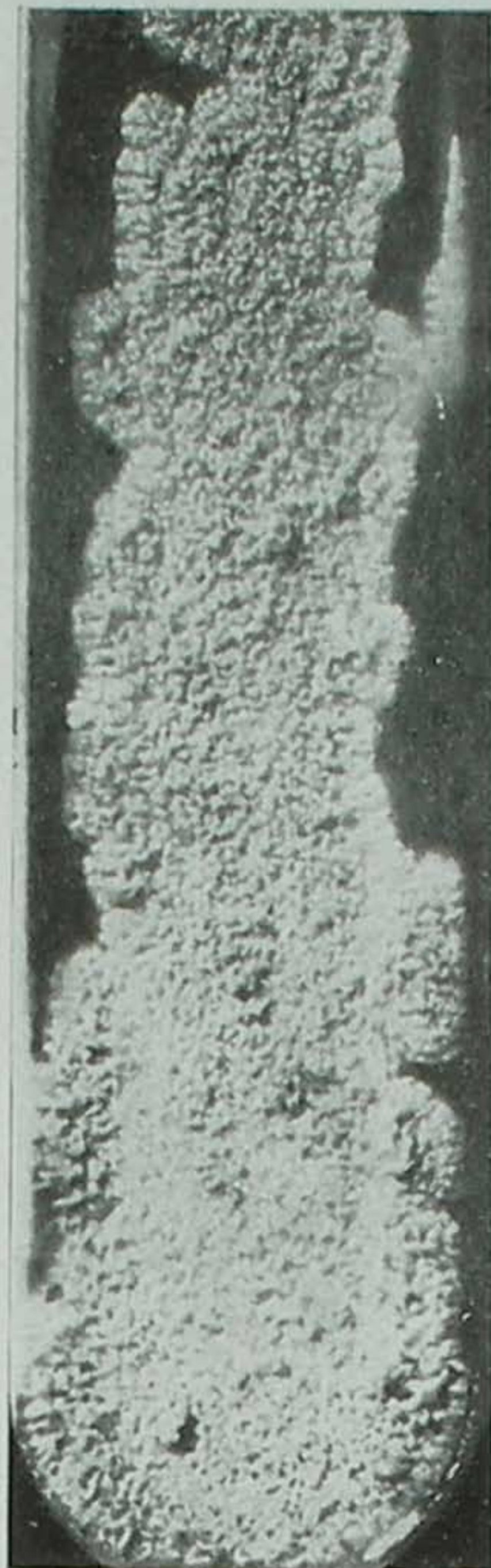
Fig. 4

Fig. 1. A doente H. S. que forneceu material para as culturas (lepromas *a* e *b*). Fig. 2. Cultura mixta: bacillos acido-resistentes e filamentos. Fig. 3. Uma globia entre os mycelios do *Actinomyces lepromatis*. Fig. 4. Esfregaço da cultura de leproma em agar glicerinado (105 dias): só bacillos acido-resistentes.

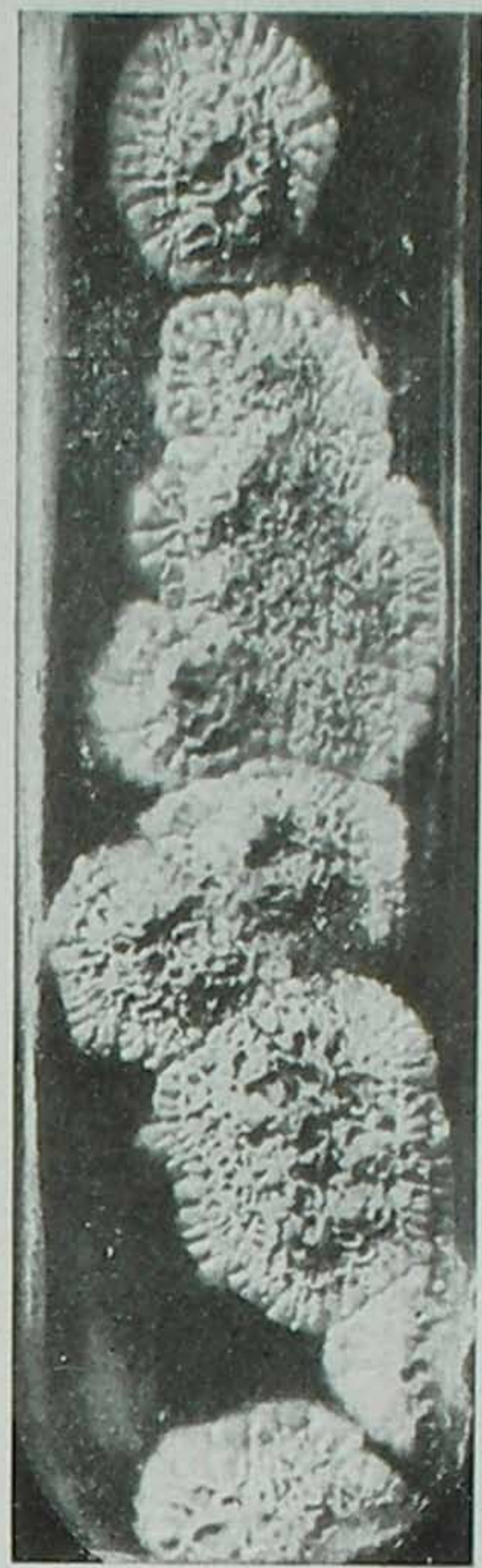
Fig. 1. The patient H. S. who provided material for the cultures (lepromata *a* & *b*). Fig. 2. Mixed culture: acid-fast bacilli and filaments. Fig. 3. A "globie" among the mycelia of the *Actinomyces lepromatis*. Fig. 4. A scraping of a leproma culture in glycerine agar (105 days): acid-fast bacilli only.



a

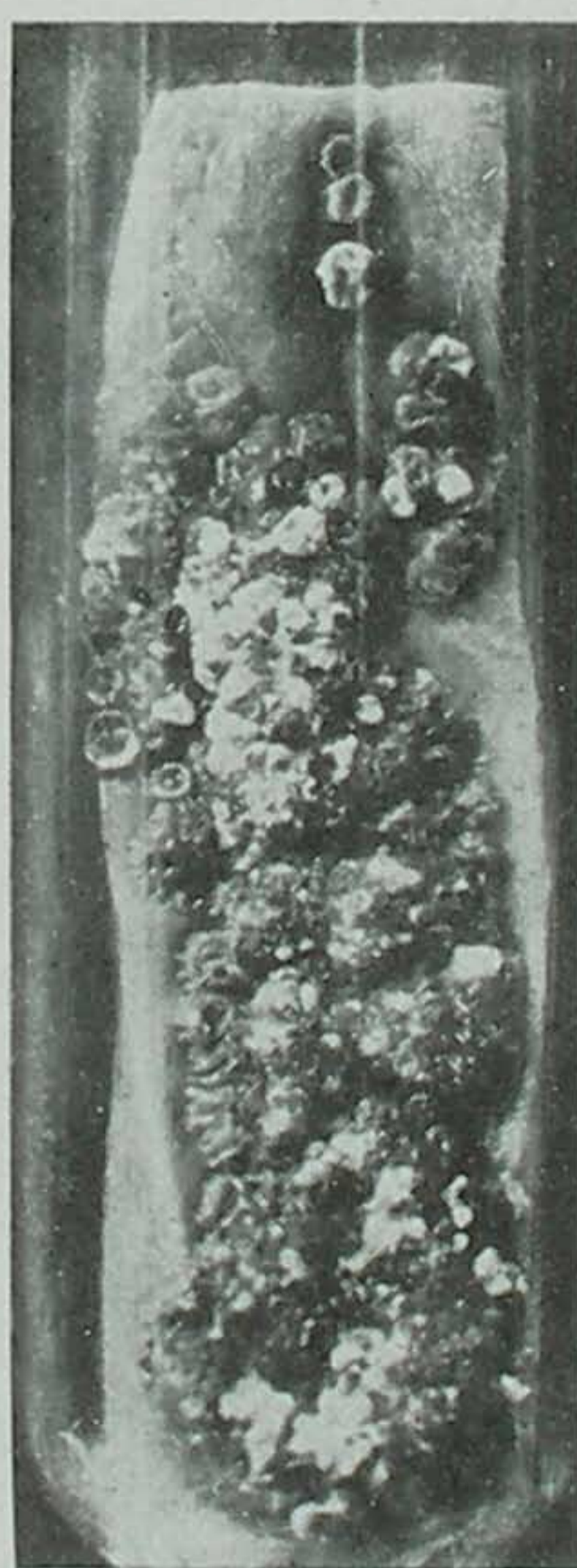
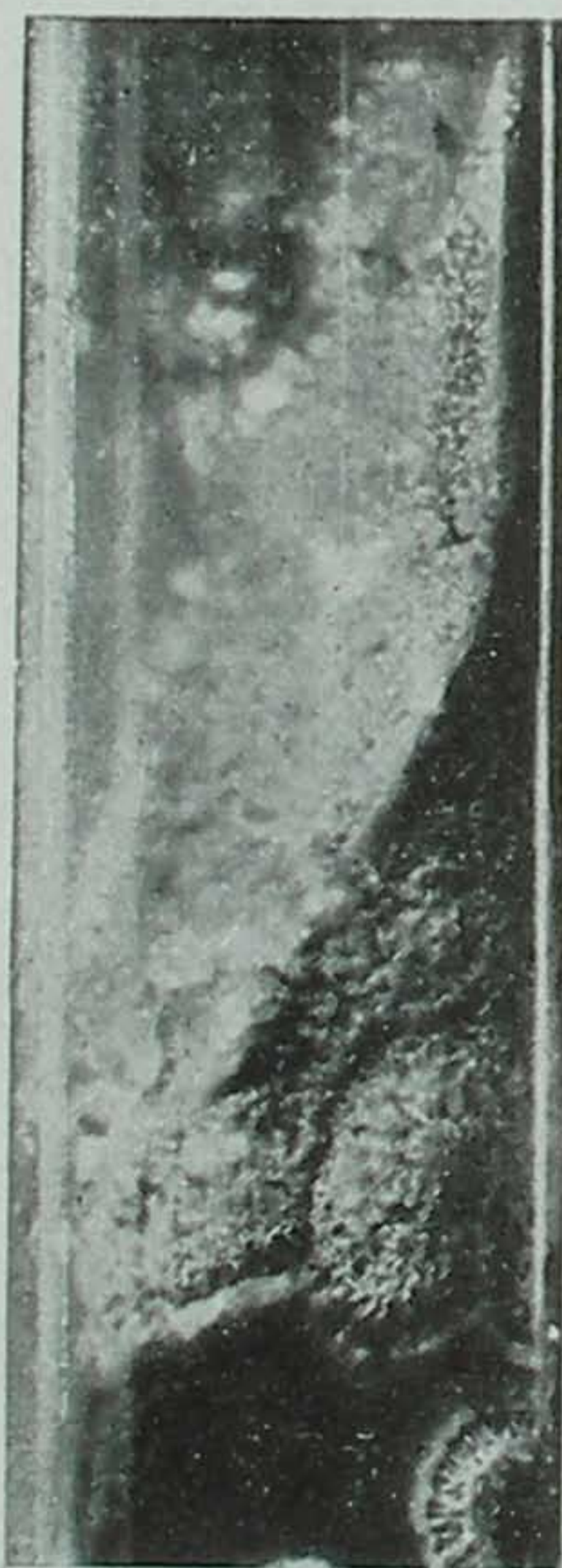


b

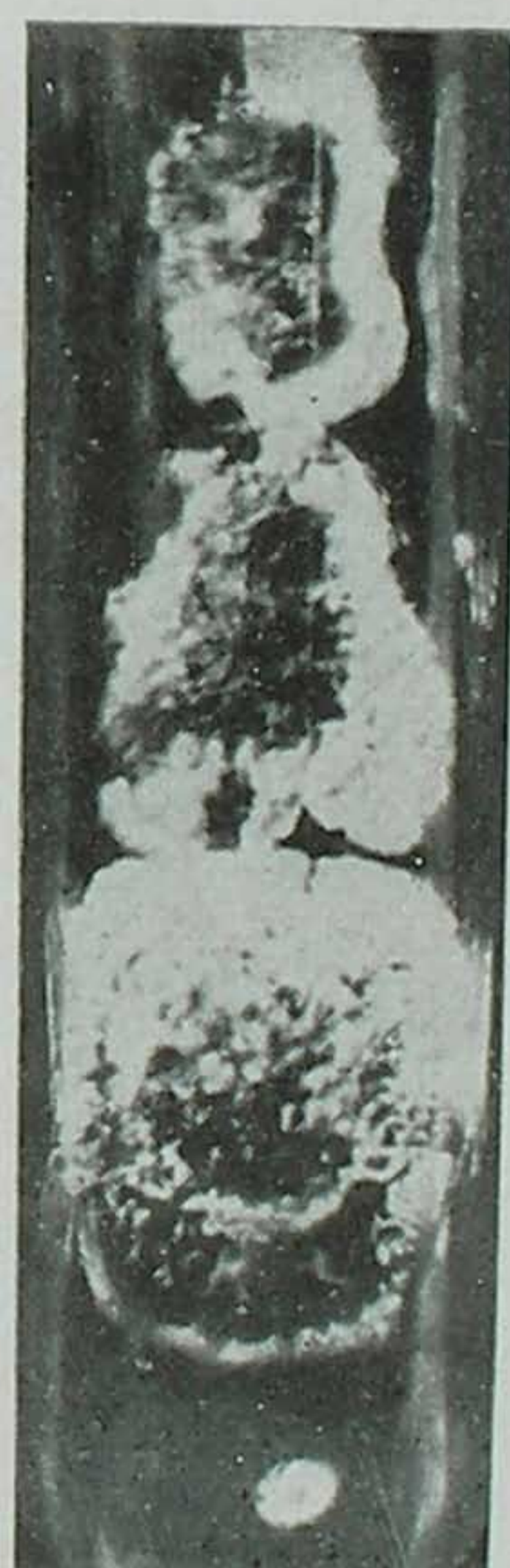


c

Fig. 5



a



b

Fig. 6

Fig. 7

Fig. 5. (a) Cultura do *Actinomyces lepromatis*, de 60 dias, em agar simples. Culturas em agar glicerinado, de 17 dias (b) e de 60 dias (c). Fig. 6. Culturas em agar-glicerinado, de 75 dias. Fig. 7. Culturas de 10 dias em batata glicerinada (a) e de 60 dias em agar glicerinado (b), coberta duma camada branca, cretacea, de esporulação.

Fig. 5. (a) A 60 days' culture of *Actinomyces lepromatis* in plain agar, 17 (b) and 60 days' (c) cultures in glycerine agar. Fig. 6. Cultures in glycerine agar old 75 days. Fig. 7. Culture of 10 days in glycerine potato (a) and 60 days in glycerine agar (b) covered with a white cretaceous coating of sporulation.

Photos J. Pinto



Fig. 8

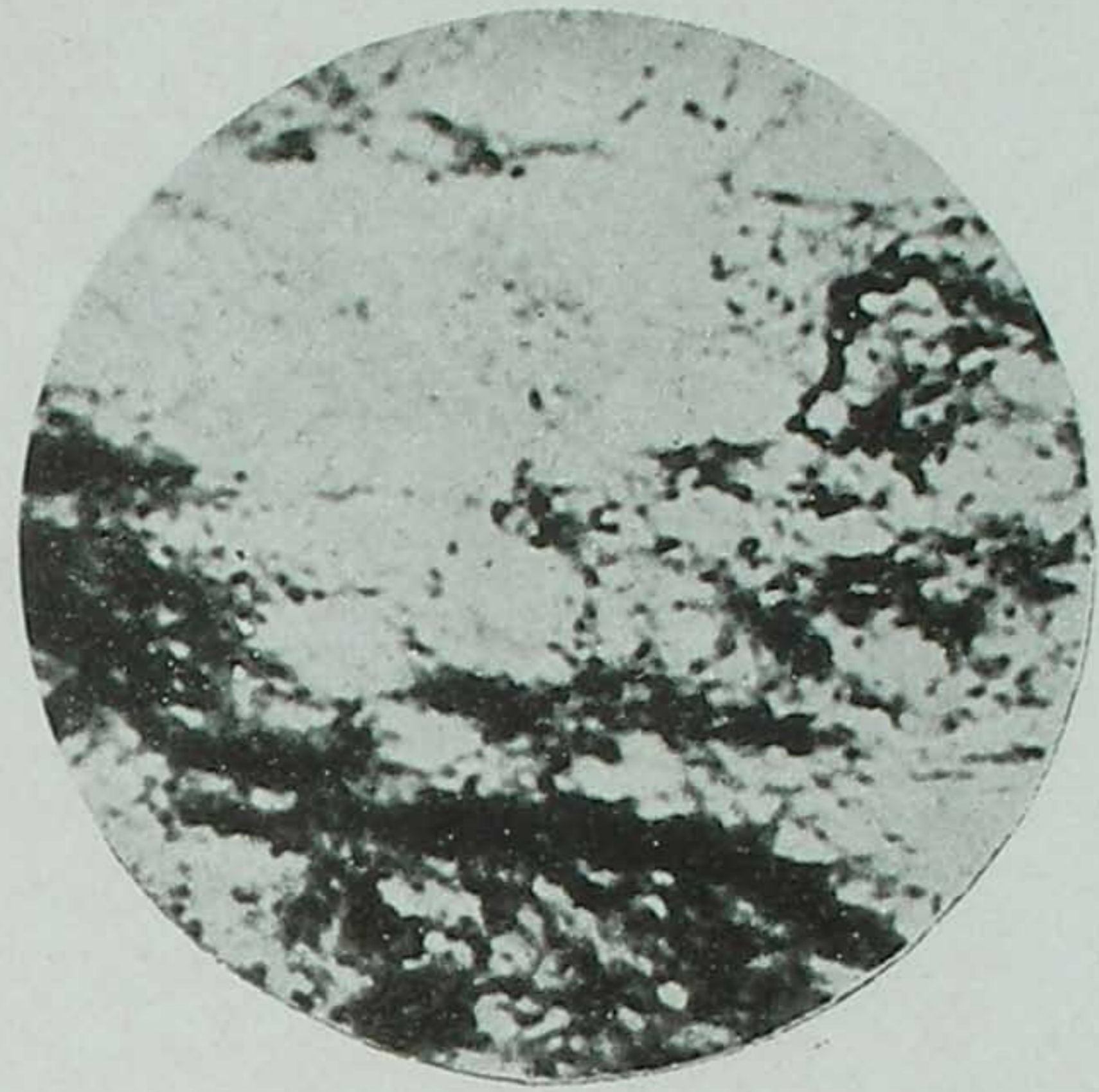


Fig. 9



Fig. 10



Fig. 11

Fig. 8. Esporos do *A. lepromatis* de cultura de 17 dias em agar glicerinado. Fig. 9 Cultura em agar manteiga de 22 dias (2^a geração): mycelios em degeneração. Figs. 10 e 11. Esfregaços da mesma cultura em agar manteiga mostrando filamentos e bacilos acido-alcool-resistentes.

Fig. 8. Spores of *A. lepromatis* of a 17 days culture in glycerine agar. Fig. 9. Culture in agar butter with 22 days, [2nd generation]: mycelia in degeneration. Figs. 10 and 11. Scrapings of the same culture in agar butter showing filaments and acid-alcohol-fast bacilli.