

Estudos sobre a Lepra

III. Transmissão da lepra humana ao camundongo branco (*)

(2a Nota com 6 figuras)

Pelo Dr. H. C. de SOUZA-ARAÚJO.

Tenho a honra de apresentar á Academia a minha segunda nota sobre a lepra experimental. Ella é o resumo dos protocollos das inoculações de 33 camundongos brancos, com material leproso virulento. Serão objecto de outra nota os resultados das inoculações de camundongos com material leproso avirulento, assim como as inoculações de outros animaes de laboratorio, menos sensiveis á infecção.

Technica. Os lepromas, extirpados sem pelle, são triturados em grál esterilizado, com areia e sôro physiologico. A emulsão obtida é diluida no mesmo sôro, até uma concentração conveniente, verificada ao microscopio, filtrada em algodão e inoculada o mais cedo possivel. A via preferida foi a intraperitoneal e a dose para cada camundongo de 1/2 c.c., podendo ser repetida a inoculação com o intervallo de duas a trez semanas.

Protocollos. Os trez camundongos referidos na 1a. nota (2-8-928) pertenciam aos lotes 3, 4 e 5.

Do lote 4 constam 9 camundongos inoculados, em 3-7-928, com material de ANDRADE. Subtrahido o No. 2 da 1a. nota ficaram 8. Destes, 4 foram reinoculados em 26-7, com igual dose de material do mesmo doente.

A sorte dos 4 camundongos primitivos foi a seguinte: 1 morreu a 9-8, (com 37 dias de inoculado), apresentando *micro-abcessos nos pulmões*, ricos em bacillos acido-alcool-resistentes e *ganglios mesentericos caseificados*, com raros bacillos. Os esfregaços do figado, dos rins e do baço foram negativos.

Outro morreu a 21-8 (49 dias) apresentando apenas raros bacillos no rim e uma globia no liquido peritoneal.

O 3º, sacrificado quando agonizava, em 26-9 (53 dias), apresentava *nodulos brancos*, como grãos de areia ou semelhantes ás granulações de mycetoma, adherentes ao mesenterio, ao epiploon e ás visceras abdominaes, resistentes ao esmagamento e formados de massas de bacillos acido-alcool-resistentes e raros detricos cellulares.

O 4º, sacrificado e necropsiado em 15-12 (165 dias), apresentava 3 *micro-abcessos* no figado, identicos aos do 3º. camundongo da nota prévia, 2 *nodulos brancos* eguaes aos descriptos acima, entre o pancreas e o baço e 1 terceiro adherente ao epiploon.

(*) Trabalho lido na Academia Nacional de Medicina, em 31-5-929.

Esfregaços desses nodulos revelaram *massas de bacillos* acido-alcool-resistentes. Os esfregaços do figado, do rim e do pulmão, foram negativos.

Parecendo-me de grande interesse a presença de taes nodulos desejei que os collegas do Instituto de Manguinhos os vissem *in loco* e assim a meu convite estiveram no meu laboratorio os Drs. CHAGAS, GODOY, FARIA, FONSECA e outros. D'ahi em diante o Dr. LUTZ começou a se interessar pelas minhas experiencias e os seus conselhos me tãem sido de grande valia.

Dos 4 camondongos reinoculados, 1 morreu 114 dias após a inoculação (25-10), não apresentando lesões nem bacillos.

Outro, morto em 5-12 (154 dias), apesar de não apresentar lesões macroscopicas, tinha grande abundancia de bacillos em feixes e globias, nos esfregaços das visceras.

O 3º, sacrificado no mesmo dia 5-12, apresentava *nodulos minusculos* no figado, entre os lobos quadrado e o de SPIEGEL, 1 *nodulo maior* (pequeno tumor) adherente ao lobo direito (V. photos 2 e 3) e outros de tamanhos varios adherentes ás dobras mesentericas e ao epiploon. Córtes desse figado revelaram granulomas de origem peripherica.

Os córtes do tumor mostram focos de necrose com espaços deixados por *crystaes de cholesterina*.

Um dos nodulos maiores, do figado, cortado e esmagado sobre lamina, parecia um *kvsto* cheio de massas bacillares, especies de *globias gigantes*, nunca vistas em material humano ou experimental.

O 4º, sacrificado e necropsiado em 15-12 (164 dias), apresentava tambem taes *granulos* no figado, debaixo do lobo quadrado. Os esfregaços das visceras abdominaes destes dous ultimos animaes, a um exame microscopico rapido, não revelaram bacillos acido-alcool-resistentes.

Estes bellos resultados mostram a conveniencia das reinoculações, assumpto muito discutido na 3ª Conferencia Internacional da Lepra (Rapport, 1924, p. 117).

Do lote 5 constam 6 camondongos inoculados, em 5-7-928, com material de HILDA, 1 dos quaes figura sob o nº. 3, na Nota prévia. O 2º, morto em 12-8 (38 dias) e o 3º, em 19-9 (76 dias), apresentavam *bacillos acido-alcool-resistentes* em esfregaços dos principaes órgãos abdominaes e tambem nos ganglios mesentericos do ultimo.

O 4º, sacrificado agonizante e necropsiado em 9-10 (97 dias), apresentava *pequeno tumor* entre o figado e o pancreas, e *micro-abcessos* no baço. Os esfregaços desse tumor, do figado, do baço e do pulmão eram ricos em bacillos acido-alcool-resistentes.

O 5º, morto em 24-11 (172 dias) apresentava *pequeno tumor no pancreas* (V. photo 4 e 8 *minusculos nodulos* adherentes ás alças mesentericas e ao epiploon.

A sementeira desses nodulos em agar-manteiga deu resultado negativo.

O 6º, sacrificado e necropsiado em 23-1-929 (com 202 dias de inoculado), apresentava pontos de *necrose* no figado, *nodulos brancos* adherentes á capsula dessa glandula, e outros espalhados na cavidade abdominal. Esses nodulos foram pescados, triturados em geral e a emulsão inoculada em 2 camondongos. O resultado foi negativo.

O tumor do pancreas, acima referido, foi examinado e descripto pelo Dr. MAGARINOS TORRES, que o achou muito interessante pela presença de espaços deixados por *crystaes* de cholesterina. O Dr. AMADEU FIALHO, consultado tambem sobre isso, é de opinião que esse achado é uma curiosidade histopathologica.

Os 6 camondongos do *lote* 7 foram inoculados em 26-7-928 com material de ANDRADE. Um delles morreu no 1º. mez e não foi examinado; outro morreu em 15-11 (112 dias) apresentando *1 nodulo* no figado, com grandes massas de bacillos acido-alcool-resistentes, e no baço zonas de necrose, com raros bacillos.

Os 4 restantes foram sacrificados e necropsiados em 15-11 (142 dias) apresentando estado normal. 3 delles tinham *nodulos* em tudo eguaes aos já descriptos.

Todos os esfregaços das visceras abdominaes foram negativos.

Os 3 *camondongos* do *lote* 13 foram inoculados em 23-10-928, com material de F. LOPES. Como a emulsão era pouco concentrada augmentei a dose para 1 c.c., para a injeccão intraperitoneal e 1/4 c.c. da do foi por via subcutanea.

Para uma demonstração ao Dr. BORZONE, director do Instituto Bacteriologico de Santa Fé, Argentina, sacrifiquei esses 3 animaes em 24-1-929 (com 92 dias).

O 1º. autopsiado apresentava *innumeros granulos* espalhados e adherentes ao mesenterio, ao epiploon e ao figado.

Esta glandula apresentava *micro-abcessos* generalizados.

Os esfregaços dos granulos, do figado e do baço revelaram uma formidavel abundancia de bacillos acido-alcool-resistentes em feixes, em globias typicas e em massas. O Dr. BORZONE levou todo o material deste camondongo para estudar na Argentina.

O 2º. autopsiado apresentava: alguns *nodulos*, *1 tumor* adherente ao baço e á parede abdominal, *1 abcesso* no lobo esquerdo do figado e *innumeros pequenos nodulos* debaixo deste orgão, adherente ás dobras do mesenterio, e outros espalhados sobre os intestinos, etc.

Tanto os esfregaços como os córtes desse tumor são ricos em bacillos da lepra.

O 3º. e ultimo apresentava tambem *granulos*, em menor numero, espalhados pela cavidade abdominal. Os esfregaços dos granulos, do baço e do figado foram positivos.

Os 6 camondongos do *lote* 14 foram inoculados, em 27-11-928, com 1 c.c. de material de A. PARIS. 2 delles morreram a 1 e 4-12 e não foram examinados. Outros 2 morreram em 6-12 (9 dias) apresentando poucos bacillos acido-alcool-resistentes no baço de um, e no baço, rim, testiculo e liquido peritoneal do outro. Nenhum nodulo ou ganglio visivel a olho nú. O 5º, morto em 10-12 (13 dias), apresentava *1 ganglio mesenterico* bastante augmentado. Macroscopicamente as visceras pareciam normaes. Os esfregaços do ganglio, do baço, dos rins e do figado eram ricos em bacillos acido-alcool-resistentes, provavelmente producto de absorpção (?). Ausencia de nodulos.

O 6º. e ultimo, sacrificado em 25-1-929 (59 dias), apresentava raros *granulos parasitarios* e 1 *ganglio mesenterico* tumefacto e com alguns bacillos acido-alcool-resistentes.

O lote 17 consta de 5 camondongos inoculados, em 22-2-929, com emulsão fresca e filtrada de lepromas que extrahi de 5 doentes do Hospital de S. Sebastião. A dose foi de 1/2 c.c.

O 1º. delles morreu em 10-3-929 (16 dias) apresentando um pequeno *tumor* junto ao figado e adherente á musculatura da parede anterior do abdomen (V. photos 5 e 6), o figado descorado, 1 *ganglio mesenterico* e outro inguinal augmentados.

Os córtes do tumor são muito ricos em bacillos acido-alcool-resistentes, intra e extracellulares. Os esfregaços do figado, do rim, do pulmão e de um *ganglio inguinal* foram positivos. Os do baço foram negativos. Córtes seriados provaram que esse tumor interessava tambem o figado.

O 2º. foi sacrificado em 15-5 (52 dias) por apresentar vasta *ulceração* crostosa nas ancas. Apresentava *nodulos abdominaes* e bacillos nas visceras.

Os 3 ultimos camondongos foram sacrificados e necropsiados em 27-5-929 (91 dias). O 1º. apresentava varios *granulos brancos* nas alças do mesenterio e debaixo do figado, entre os lobos quadrado e de SPIEGEL, e um pequeno abcesso nesse orgão. O exame microscopico dos granulos e orgãos deu resultado positivo identico ao descripto tantas vezes acima. O 2º. camondongo tinha alguns *nodulos*, 1 delles adherente e ligando 2 lobos do figado, este orgão e o baço congestos e augmentados. Os esfregaços do figado são ricos em *missas bacillares* de enorme grandeza. O 3º e ultimo apresentava apenas *raros* bacillos no figado.

A nova serie de inoculações consta de 35 animaes injectados em 28 do expirante com emulsão de lepromas de varios doentes do Leprosario de Curupaity, Jacarépaguá, gentilmente obtidos por intermedio do Dr. THEOPHILO DE ALMEIDA.

Como se vê as experiencias continuam com maior escala.

Resumo. Dos 33 camondongos inoculados 3 não foram examinados por terem morrido muito cedo ou em dias feriados; 2 foram negativos e 28 positivos, isto é, apresentavam bacillos acido-alcool-resistentes num orgão qualquer.

Dos 28 positivos 17 apresentavam *nodulos*, 5, tumores e 4, microabcessos. Alguns tinham tumores e microabcessos, outros *nodulos* e tumores. Facto significante é a coincidência de resultados em lotes de animaes inoculados com material de doentes varios (ao todo 9) de diferentes procedencias.

Passagens. As inoculações de camondongos com emulsões de orgãos bacilliferos e de *nodulos* e *ganglios*, retirados de camondongos infectados teem sido negativas. Devo informar, entretanto, que essas passagens foram poucas (11 animaes) por economia do material, ora reservado para o musêo, sempre gasto em córtes, esfregaços e tentativas de culturas.

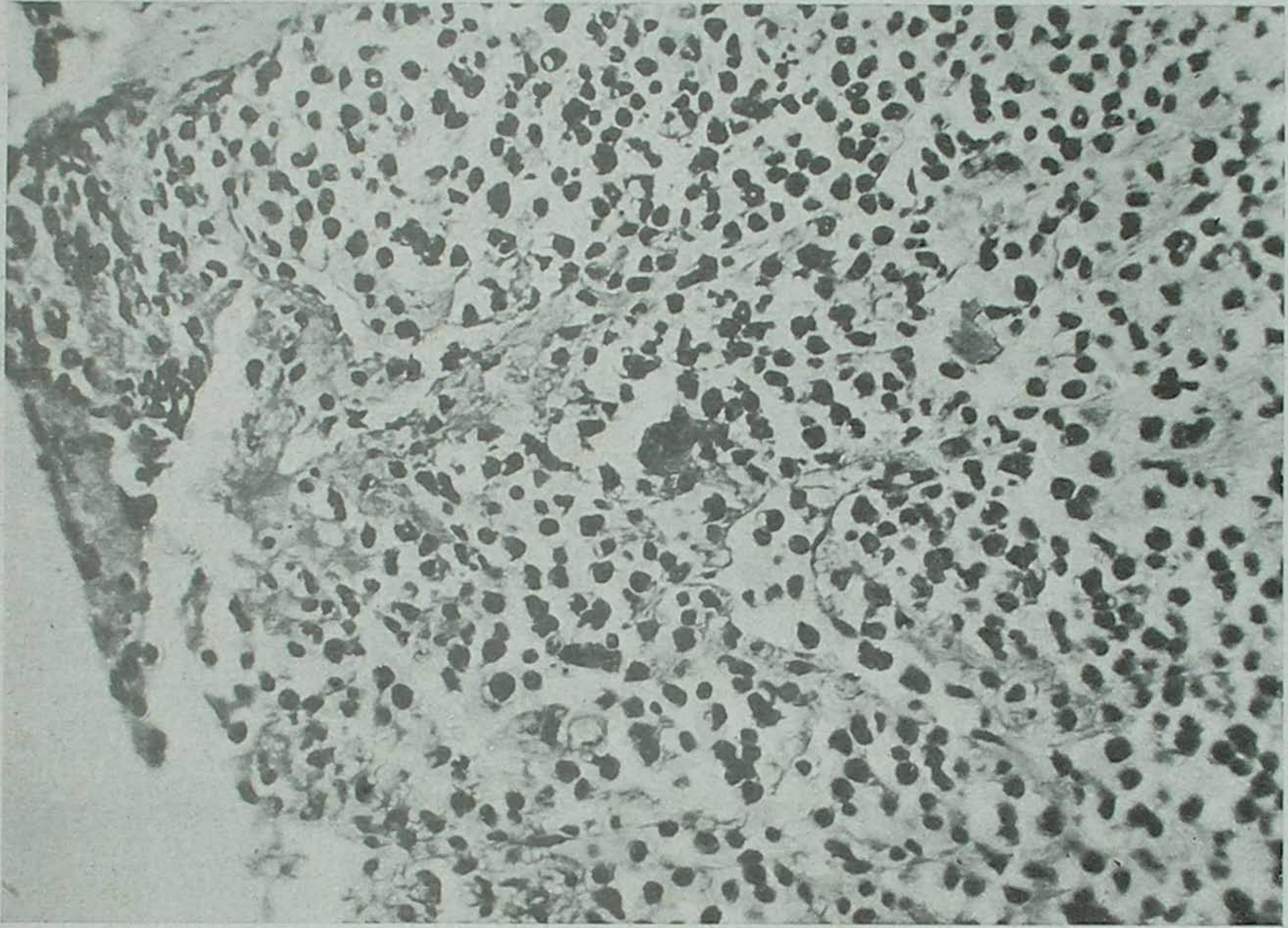


Photo J. Pinto

Photomicrographia N. 1. *Camondongo*. Lote 3.

Córte do tumor lymphoide encontrado adherente ao baço e á musculatura lombar. Corado pela hematoxylina-eosina.

Os esfregaços e córtes deste tumor, corados pelo ZIEHL-NEESEN, revelaram grande riqueza de bacillos acido-alcool-resistentes.

Nota : Camondongo inoculado em 6-6-928 com 1/2 cc. de emulsão de lepromas de ANDRADE Via intraperitoneal Sacrificado em 29-6-928 (23 dias).

Photomicrograph N. 1. *Mouse*. Lot. 3.

A cut of the lymphoid tumor found sticking to the spleen and the lumbar musculature. Stained by hematoxylin-eosin.

The rubbings and sections of this tumor, stained by ZIEHL-NEESEN, revealed a great richness of acid-alcohol-fast bacilli.

N. B.—Mouse inoculated on 6. 6. 1928 with 1/2 cc. of an emulsion of lepromas of ANDRADE. Via intraperitoneal. Killed on the 29 6. 1928 (23 days).

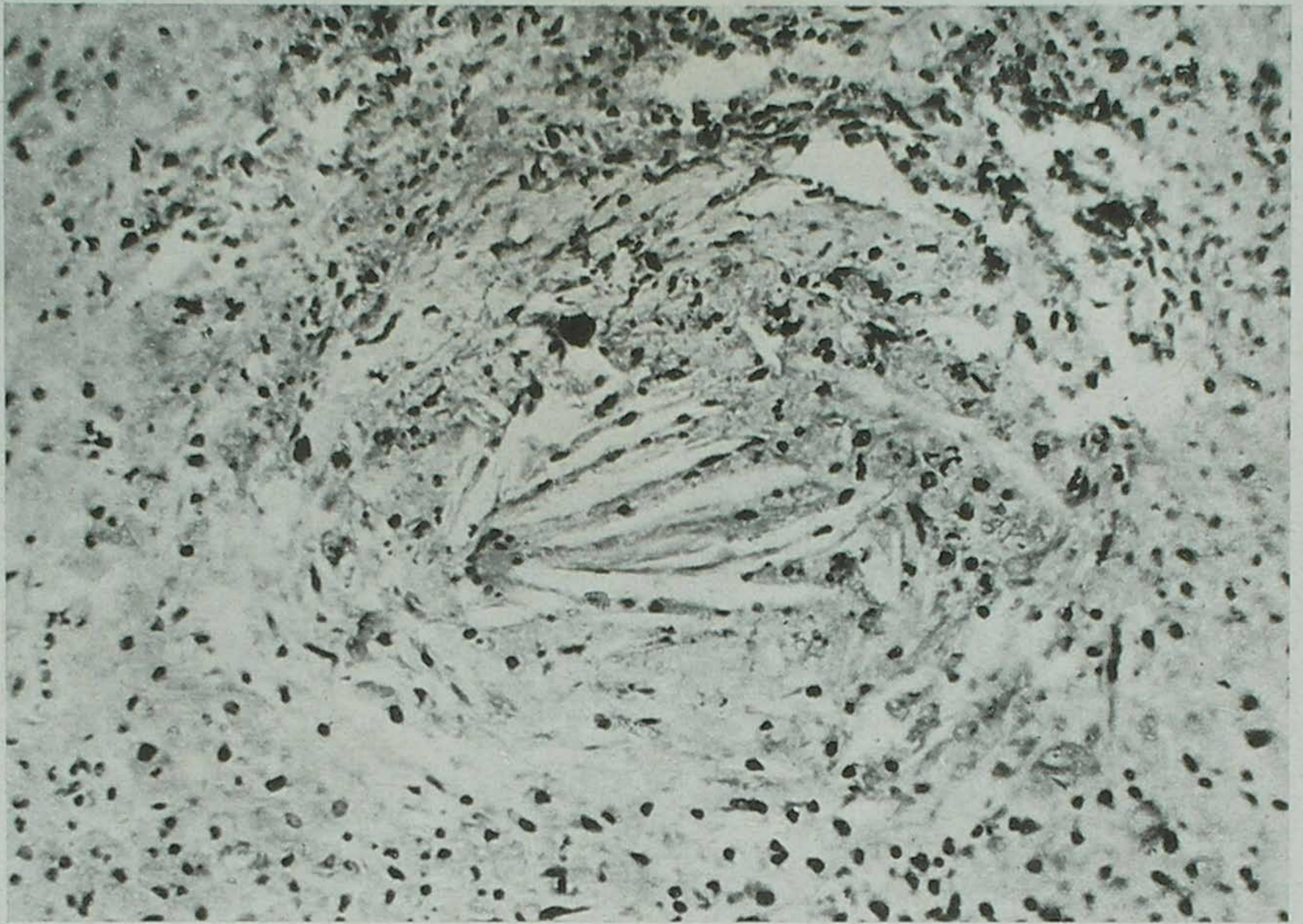


Photo J. Pinto

Photomicrographia N. 2. *Camondongo*. Lote 5.

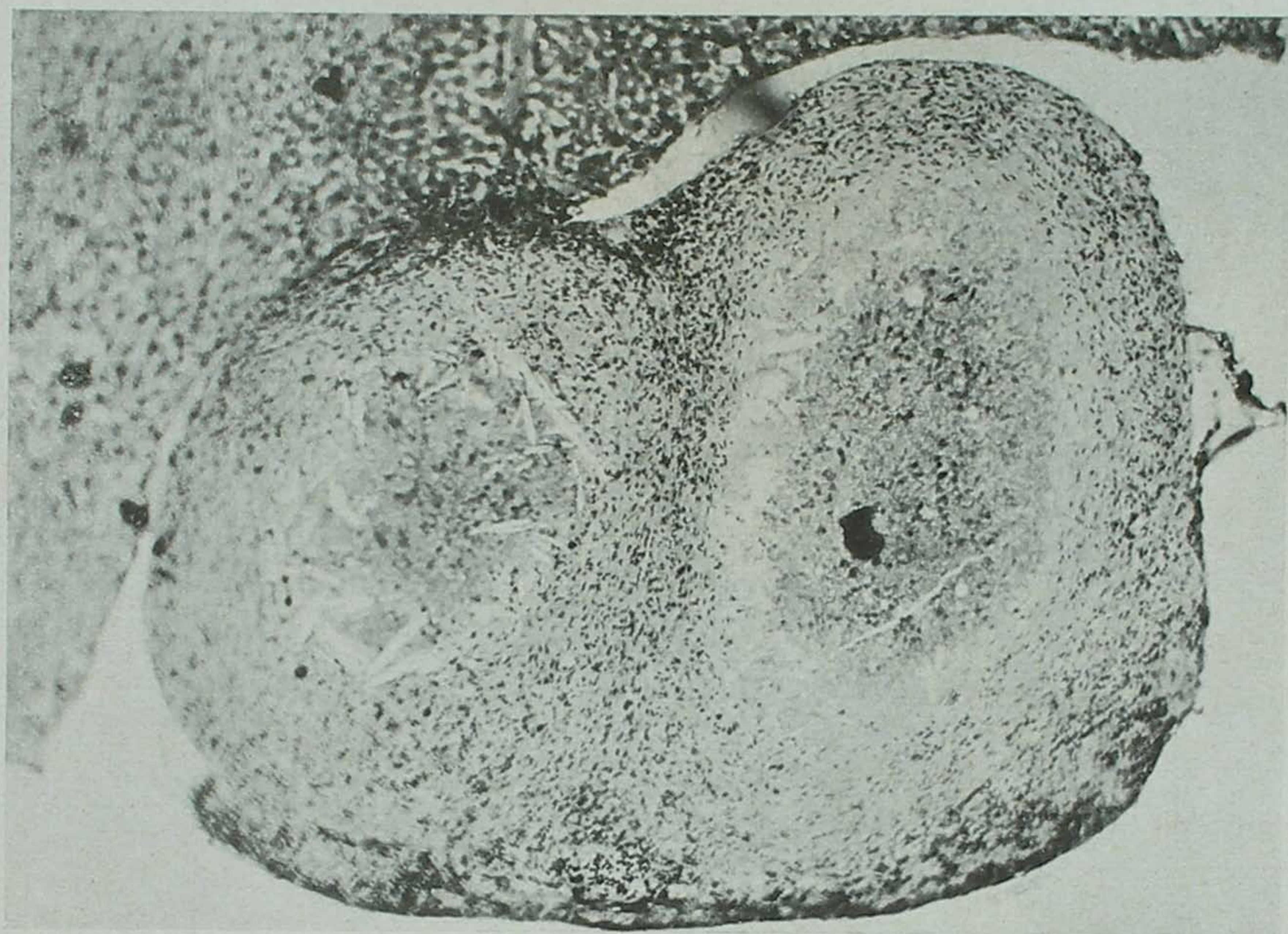
Córte de tumor do pancreas, corado peia hematoxylina-eosina, mostrando um aspecto lymphoide e espaços deixados pelos crystaes de cholesterina. Este camondongo apresentava 8 nodulos adherentes ao epiploon e ao mesenterio. Os esfregaços das visceras, dos nodulos e ganglios, esfregaços e córtes do tumor, corados pelo ZIEHL-NEELSEN, revelaram grande abundancia de bacillos acido-alcool-resistentes. Córtes seriados desse tumor, reproduzidos em desenho, mostram o abarrotamento do tecido pelos bacillos.

Nota : Camondongo inoculado em 5-7-928 com 1/2 cc. de emulsão de lepromas de HILDA, por via intraperitoneal. Morto em 24-11-928 (após 145 dias).

Photomicrograph N. 2. *Mouse*. Lot 5.

A section of a pancreatic tumor, stained by hematoxylin-eosin, showing a lymphoid aspect, and the spaces left by crystals of cholesterin. This mouse showed 8 nodules sticking to the epiploon and the mesentery. Rubbings of viscera, of the nodules and the ganglia, stained by ZIEHL-NEELSEN, revealed abundant acid-alcohol-fast bacilli. Seriated cuts of this same tumor, represented in drawing, show the over whelming of the tissue with bacilli.

N. B.—Mouse, inoculated 5. 7. 1928 with 1/2 cc. of the HILDA's emulsion of lepromas, intraperitoneally. Died on 24. 11. 1928 (after 145 days).



Photomicrographia N. 3. *Camondongo*. Lote 4.

Photo J. Pinto

Côrte de tumor encontrado adherente ao lobo direito do figado, apresentando fôcos de necrose com espaços deixados pelos crystaes de cholesterina. Corado pela hematoxylina-eosina. O mesmo orgão apresentava 3 granulomas (V. photo 4), sendo 2 superficiaes e 1 interno, no lobo esquerdo. Os esfregaços e côrtes desse tumor e do figado, corados pelo ZIEHL-NEELSEN, revelaram grande abundancia de bacillos acido-alcool-resistentes, isolados, em feixes e em globias.

Este animal apresentava mais 2 nodulos adherentes ao epiploon.

Nota : Camondongo inoculado em 27-6-928 com 1/2 cc. de emulsão fresca de lepromas de ANDRADE, por via intraperitoneal. Sacrificado em 5-12-928. (Após 154 dias).

Photomicrograph N. 3. *Mouse*. Lot 4.

A cut of a tumor found sticking to the right lobe of liver, showing foci of necrosis with spaces left by crystals of cholesterin. Stained by hematoxylin-eosin. The same organ showed 3 granulomata (S. phot. 4), being 2 superficial and 1 internal, in the left lobe. The rubbings and cuts of this tumor and of the liver, stained by ZIEHL-NEELSEN, revealed to a big extent acid-alcohol-fast bacilli, isolated, in bundles and in "globies".

The same animal bore also 2 nodules sticking to the epiploon.

N. B.—Mouse inoculated on 27. 6. 1928 with 1/2 cc. of a fresh ANDRADE's emulsion of lepromas, intraperitoneally. Killed on 5. 12. 1928 (after 154 days).

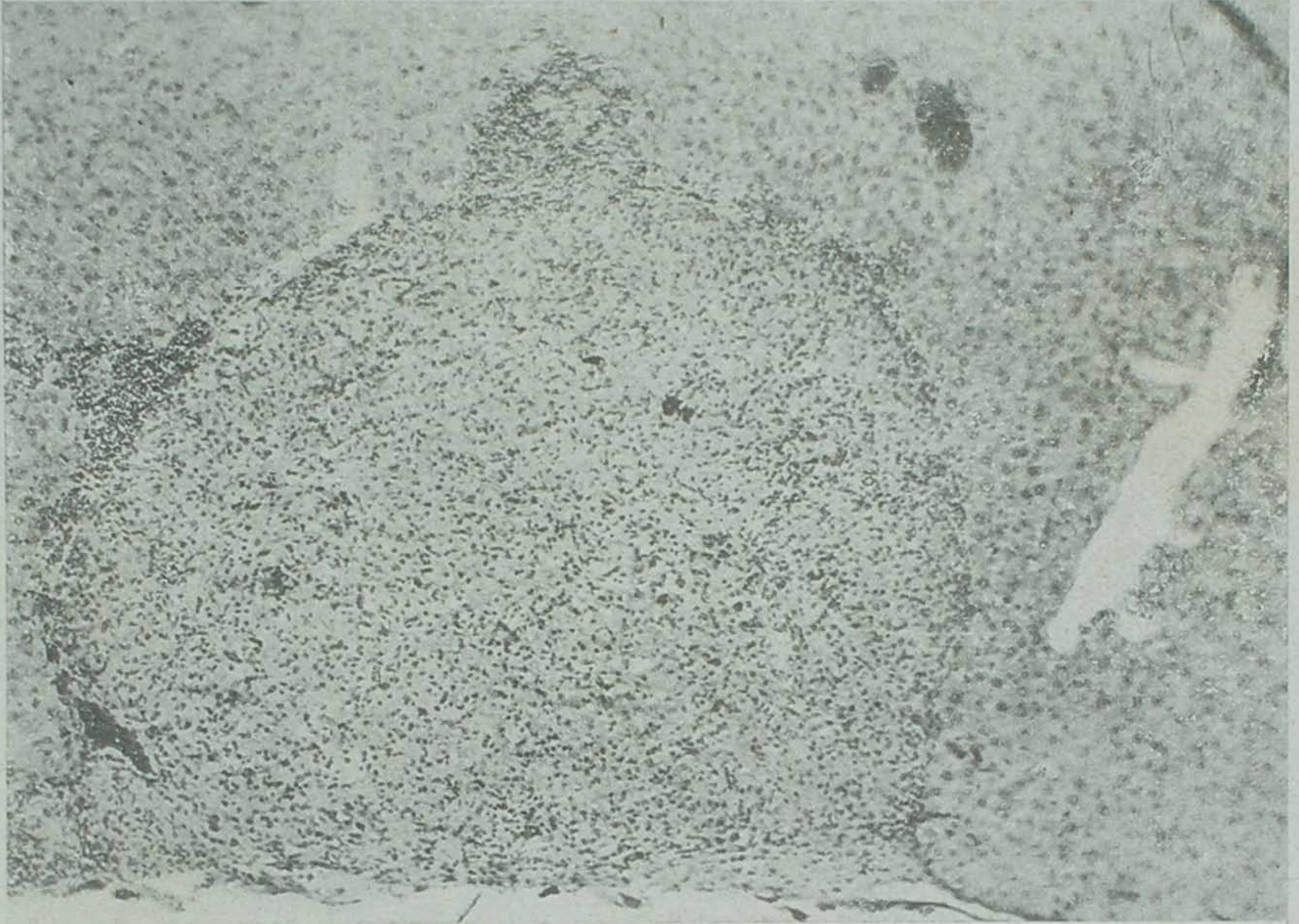


Photo J. Pinto

Photomicrographia N. 4. *Camondongo*. Lote 4.

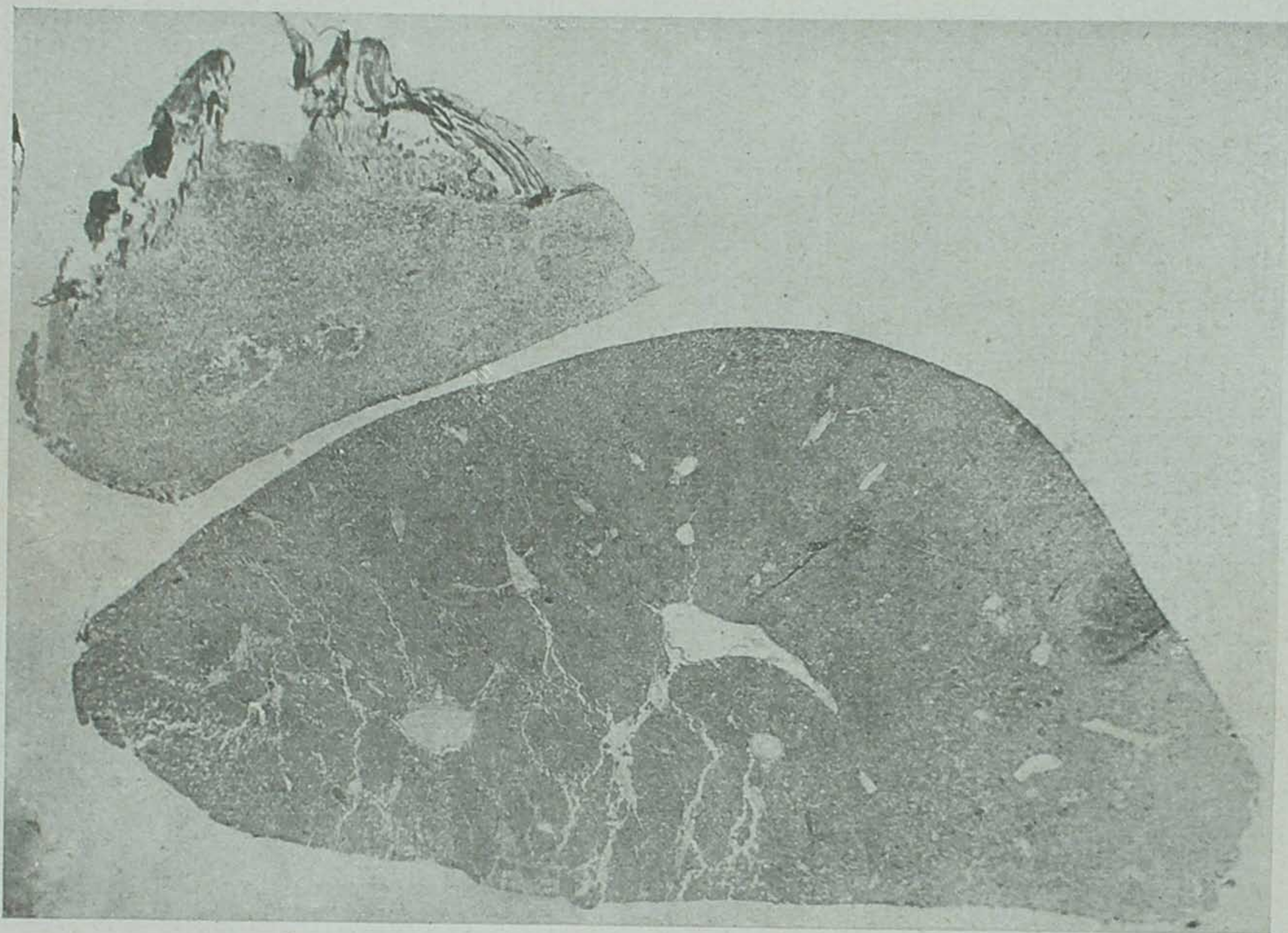
O mesmo animal da photographia N. 3.

Granuloma lepromatoso do figado, de origem peripherica. Tudo como na photomicrographia N. 3.

Photomicrograph N. 4. *Mouse*. Lot 4.

The same animal as in photogr. N. 3.

A lepromatous granulom in the liver, of peripheric origin. All else as in photomicrograph N. 3.



Photomicrographia N. 5. *Camondongo*. Lote 17.

Photo J. Pinto

Córte de tumor encontrado junto ao figado (parte interessando esta glandula) e adherente á musculatura da parede anterior do abdomen, como se vê pelas fibras musculares do córte. Os esfregaços do tumor, dos ganglios inguinaes e mesentericos, do rim, do figado e do pulmão deste animal, são também ricos em bacillos acido-alcool-resistentes, em feixes e em globias.

Nota: Camondongo inoculado, por via intraperitoneal, em 22. 2. 929, com emulsão de lepromas 5 doentes do Hospital S. Sebastião. Morto em 10-3-929.

Photomicrograph N. 5. *Mouse*. Lot. 17.

A section of the tumor found close to the liver (the part that interests this organ) and sticking to the musculature of the anterior wall of the abdomen, as is seen by the muscular fibres in the cut. The rubings of the tumor, of the hip ganglia, mesenteric ganglia, of the kidney, liver and lung of this animal, show also abundance of acid-alcohol-fast bacilli, in bundles and in "globies".

N. B. - Mouse, inoculated intraperitoneally, on 22. 2. 1929 with an emulsion of the lepromas from 5 patients of the St. Sebastian Hospital. Died 10. 3. 1929.

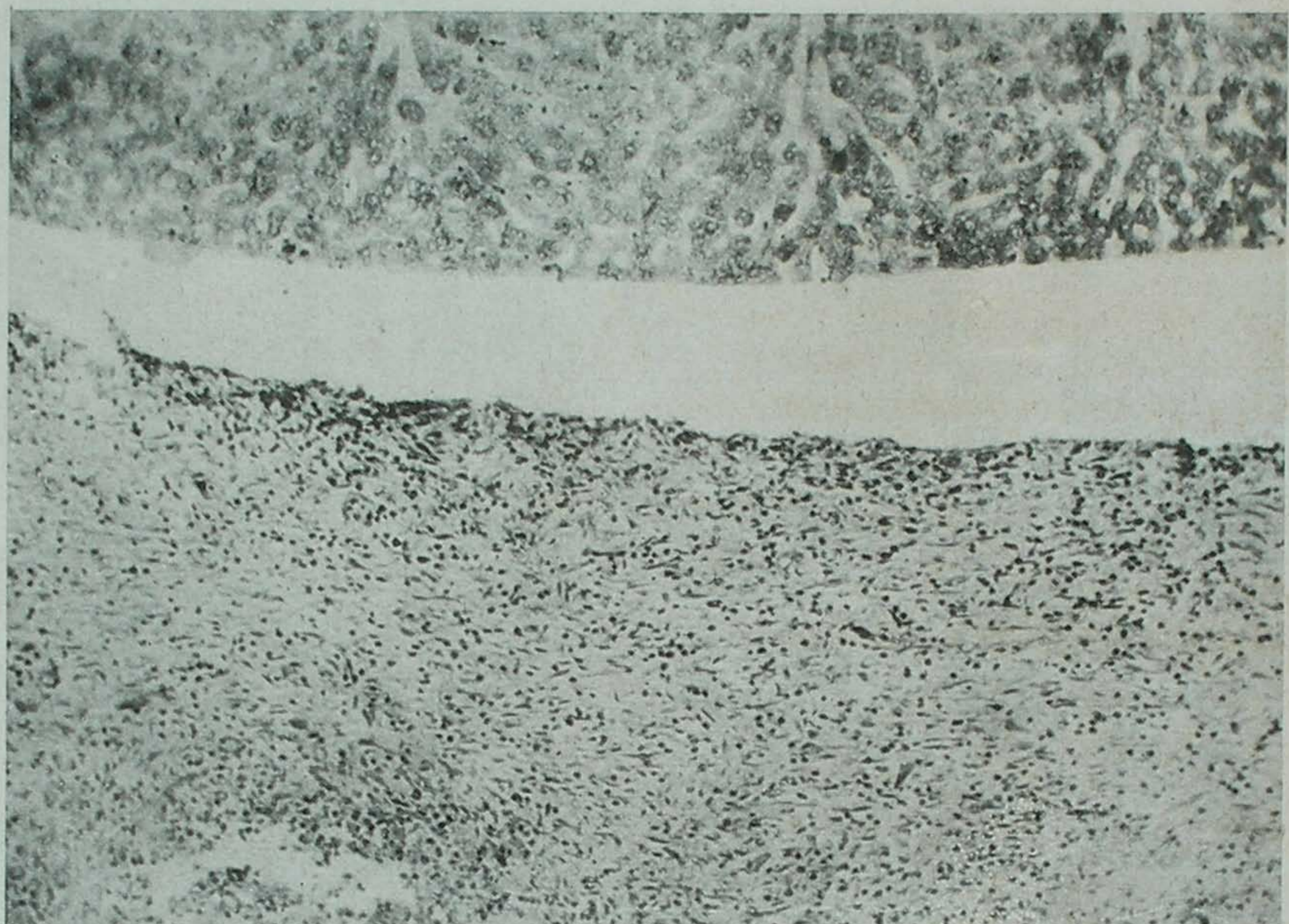


Photo J. Pinto

Photomicrographia N. 6. *Camondongo*. Lote 17.

O mesmo animal da photomicrographia N. 5.

Photomicrographia mostrando a predominancia de fibroblastos no tumor de recente formação. Apresenta dous focos de necrose. Tumor riquissimo em bacillos acido-alcool-resistentes.

Nota: Veja a da figura N. 5.

Photomicrograph N. 6. *Mouse*. Lot 17.

The same animal as in photomicrograph N. 5.

This photomicrograph shows the prevalency of fibroblasts in the recently formed tumor. Two foci of necrosis are observed. This tumor was very rich in acid alcohol-fast bacilli.

N. B. — Refer to the note at foot of fig. N. 5.

Os nodulos. Duas classes de nodulos ou granulos tenho observado: uns brancos, muito resistentes, verdadeiras massas bacillares, semelhantes aos grãos de mycetoma, de tamanho variavel, ora soltos, ora adherentes ás visceras abdominaes; outros, acinzentados, mais molles e ás vezes friaveis, adherentes ao mesenterio ou ao epiploon, contendo menos bacillos e algumas cellulas ou detricitos: devem ser ganglios mesentericos ou epiploicos muito hypertrophiados.

Nos camondongos normaes esses ganglios não são facilmente visiveis a olho nú. Os granulomas do figado me parecem ser de origem peripherica, pela proliferação de um daquelles nodulos que adherem fortemente á sua capsula. Não se nota cirrhose do figado, nem degeneração das cellulas hepaticas, nos casos estudados.

Tumores. Pequenas neoformações tenho encontrado adherentes ao baço, ao pancreas, ao figado e á musculatura abdominal. Primeiramente parecem ser fibroblastomas, depois tumores lymphoides, sempre ricos em bacillos acido-alcool-resistentes, intra e extracellulares. Mais tarde apparecem outros typos de cellulas em redór dos fócocos de necrose de caseificação, tendo no centro espaços deixados pelos crystaes de cholesterina.

Segundo o Dr. MAGARINOS TORRES a extructura de um desses tumores, (o do pancreas) o unico que elle examinou, não apresentava: "*o aspecto histologico de folliculos tuberculosos typicos*".

Cholesterina foi verificada em tumores do figado e do pancreas.

Sabemos que este alcool monatomico provem, na sua maior parte, da secreção interna das capsulas supra-renaes e é eliminada pela bile; que a sua acção defensiva contra as intoxicações externas e infecções é poderosa; e que ella existe em excesso no sangue de leprosos activos.

Como explicar a sua presença nos tumores dos camondongos das nossas experiencias?

Só a continuação desses estudos poderá esclarecer o caso.

Trouxe á Academia *factos*, que reputo de certa importancia.

As conclusões ficam para o futuro.

Manguinhos, 31 de Maio de 1929.
