

A coloração dos cogumelos nos tecidos (*)

pelo

DR. OCTAVIO DE MAGALHÃES

(Com as estampas XLV—XLVIII).

Não é facil obter, com nitidez, a coloração dos cogumelos nos tecidos.

Quando sahiu o nosso artigo nas Memorias do Instituto Oswaldo Cruz, em 1918, fomos criticados por empregar technicas para tecidos e não para cogumelos. Hoje vimos como tinhamos razão nas tentativas que então fizemos para bem corar estes parasitos nos tecidos. Muita discussão se teria evitado, em sciencia, si mycologistas e histologistas, ao envez de se encontrarem, se tivessem reunido.

Durante muito tempo luctamos para a determinação de uma boa technica. Si o objectivo então é corar bem—tecido e parasito, as difficuldades são enormes. Chegamos mesmo a suppôr, que, no estado actual de nossos conhecimentos scientificos, isso era impossivel. E, por isso, pensamos em assignalar algumas de cujas colorações foram mais expressivas nos seus resultados, em nossas mãos.

Quem pesquisa um cogumelo nos tecidos precisa contar sempre com o polymorphismo extremo desses microbios. Umhas colorações servem para estas, mas não prestam para aquellas formas do mesmo aryzophyto.

Algumas fórmhas escapam aos corantes communs; outras facilmente são depistadas.

Ha ainda a questão do tempo para observação. Nem sempre é possivel examinar immediatamente todas as laminas coradas. Examinar—e pois fixar, pelo dezenho ou photographia, os aspectos interessantes ou inesperados das lesões encontradas.

Ora, ha corantes muito bons para os cogumelos, quando examinados immediatamente após terminação da coloração. Tomadas alguns dias ou até hora após, já não servem mais, porque a coloração ou esmaiou nas suas tonalidades de relevo, ou desapareceu totalmente.

No estudo das lesões provocadas pelo *Oidium brasiliense*, as difficuldades que encontramos foram enormes. Ha muitos annos pelejamos para obtenção de uma technica que nos satisfizesse. Ensaizando algumas americanas e, recentemente, applicando aos cogumelos a technica magnifica de Masson e sua escola—conseguimos resultados que convem deixar consignados.

A technica de Masson tem seus detractores.

E' uma technica complexa. Exige tempo, paciencia, auxiliares peritos e dedicados.

Não póde, todavia, restar a menor duvida que é o ideal para que devem tender todas as technicas. Corar corrente

(*) Apresentado ao Congresso de Microbiologia e Pathologia, reunido em Julho de 1929 no Rio de Janeiro. Recebido para publicação a 10 de Fevereiro de 1930.

e differentemente, tudo que o tecido normal ou pathologico apresenta não deve ser apenas uma questão somenos, senão de magna e decisiva importancia para os diagnosticos. No estudo dos tumores, na pesquisa etiologica delles então, essa demonstração é eloquente.

Nem por outra maneira, senão por uma insufficiencia de technica de colorações, se explicam os achados, ainda em nossos dias, de novos constituintes cellulares de tecidos, que pareciam estar, para todos nós, definitivamente conhecidos. Sirvam de exemplo entre outras as cellulas «aranhas», de Hortega, do tecido nervoso central (microglia).

O *Oidium brasiliense* apresenta-se nos tecidos com variada morphologia. Dividimo-la em fórmulas:

- 1) Anomalias.
- 2) Classicas.

Quanto as fórmulas classicas não ha difficuldades em coral-as. Mas estas fórmulas não são communs. As anomalias não só resistiam, em muitos casos, aos corantes geraes, como mesmo a qualquer corante.

Durante muitos annos forcejamos para corar as que denominamos em «mosaico» do *Oidium brasiliense*. As colorações geraes ou especiaes hematoxylina-eosina, hematoxylina-ferrica, o Gram, o Ziehl, o Giemsa, o azul de methyleno, o Leichmann e Mac-Callum, o Mallory, etc. etc., todas deixavam apenas esboçados, nos contornos, estas formas de resistencia do cogumelo nos tecidos e meios de cultura pobres (Gorodkova).

O methodo de Mac-Callum é optimo para as formas bacillares e pseudo actinomyotica. Vêm-se então nos córtes, com augmento fraco, estas primeiras fórmulas parecendo fiapos escuros (Gram positivos), não raro, em grande quantidade. De outra feita ellas e as classicas marginaam os focos com as fórmulas de resistencia, e, neste caso, apreciamos um corte

mal corado ou não corado no centro da lesão, e, na peripheria foccal, com abundantes e bem coradas fórmulas de invasão bacillares, coccaceas e classicas do *aryzophito*.

As fórmulas em «mosaico», porém, resistem a esse methodo. E ha focos incipientes ou não, onde só encontramos o cogumelo sob essa morphologia.

Sendo o parasito do grupo dos que provocavam extensas hemorragias não é facil a distincção com as hematias, em destruição, em focos hemorragicos antigos.

Durante muito tempo luctamos para, num foco microbiano, distinguir hematia de certas fórmulas do parasito. Servimo-nos, a principio, da coloração complexa e, até certo ponto, grosseira do picro-carmin-indigo-magenta. Os parasitos ficavam com os contornos deenhados em azul e as hematias coradas em «laranja» de varias tonalidades.

Não era, todavia, uma coloração que nos satisfizesse.

Não só não coravam o proprio parasito como não permittiam pormenores no estudo das lesões.

O Giemsa (estampa XLV) está no grupo das boas colorações, quando persiste. Nas boas differenciações, com acido acetico principalmente, si se alcaliniza convenientemente o cóрте, antes de o fechar com balsamo neutro, tem-se o cogumelo em verdadeiro relevo, com a maioria de suas fórmulas, sobre um fundo pallidamente corado.

Esse conjuncto de circumstancias, porém, é raro, e, commummente, os córtes pelo Giemsa são de fraca duração. Aliás elle não córa as fórmulas de resistencia. Estas apenas se deixam empregar na peripheria e, como nas outras colorações, têm-se a impressão de cellulas em periodo adiantado de degeneração hyalina. Ultimamente tentamos varias colorações destacando as pelo hemalum—verde — luz—eosina, hematoxylina erythrosina e

assafrão, hematoxylina de Ragaud — Ponceau e verde luz, e, finalmente, pela hematoxylina de Ragaud—Ponceau e azul de anilina. É bem verdade que ha raras laminas cuja coloração pela simples hematoxylina-eosina ficam bem coradas. A coloração pelo verde luz descora facilmente. De todas, porém, sobrelevamos a mistura de hematoxylina de Ragaud—Ponceau e azul de anilina, pela differença marcada que offerece aos elementos normaes ou anormaes dos tecidos, e ás fórmulas de resistencia do parasito que estudamos.

Foi o unico methodo que nos deu uma bôa coloração de tecido e uma optima differenciação dessas extranhas fórmulas do *Oidium brasiliense*.

Estas se apresentam coradas em «azul intenso», e facil é depistal-a no inicio da formação dos fôcos.

O cytoplasma das cellulas dos tecidos apresentam-se em vermelho de varios tons. Vêm-se as hematias em vermelho laranja—mais ou menos carregado. Os nucleos mostram-se violeta escuro. As fórmulas de resistencia do parasito (mosaico) em «azul intenso». O mucus e as substancias collagenas coram-se em azul intenso. A fibrina em azul claro de uma tonalidade varia, lembrando, em alguns pontos, a arroxeadada. Isso nos faz pensar que as fórmulas em mosaico do *Oidium brasiliense* ou têm uma constituição ou uma carapaça envolvente, de natureza semelhante a das substancias «mucilaginosas» ou «collagenas».

Estudando aliás a membrana das le-

veduras ha muita cousa já feita pelos mycologistas.

Muita vez, em torno destes cogumelos, forma-se uma rede mucilaginosa, da qual Hansen deu dezenho apropriado. É sabido tambem que leveduras pathogenicas, quando nos tecidos, tem a propriedade de secretar uma *capsula* protectora para cada cellula, contra a luta do organismo invadido. Essa capsula é de natureza mucilaginosa. Acreditamos, já o dissemos, que as fórmulas em «mosaico» do *Oidium brasiliense*, são de lucta, de sofrimento. A carapaça que cobre cada cellula é protectora contra os fermentos destructivos do organismo infestado.

Não acreditamos, porém, que ellas sejam só de natureza mucilaginosa, pois o azul de methyleno e o violeta de methyla coram a mucilagem e deixam-nas descoradas.

Talvez sejam de natureza «collagena» especial, bem corada pelo azul de anilina.

Foi por esse methodo, que vimos num espaço lymphatico ou capillar, fixar-se uma fórmula do cogumelo, transformar-se em «fórmula de resistencia» e iniciar a formação da colonia, cujo aspecto vê-se nos desenhos juntos.

Esse processo, o de Mac-Callum, o Giemsa, quando possivel a persistencia e differenciação, e a simples hematoxylina-eosina para algumas fórmulas foram os que melhores resultados nos forneceram na pesquisa do parasito nas lesões por elle provocadas nos tecidos.

Explicação das estampas

ESTAMPA XLV

Photomicrographia — Coloração pelo Giemsa com differenciação. Fígado de coelho. Tecido descorado. Percebem-se nitidamente as fórmulas minimas do *Oidium brasiliense*.

ESTAMPA XLVI

Fig. 1—Coloração pelo Giemsa, com bôa differenciação. Tecido hepatico mal corado. Vêm-se, com clareza, as fórmulas de «invasão» do *Oidium brasiliense* (igual a da

microphotographia nº 1—apenas com obj. 1/12 imm. h.; altura da platina).

ESTAMPA XLVII

Fig. 2—Coloração pela hematoxyina-eosina—Pulmão de coelho. Oc. 2; obj. DD.; altura da platina. Fóco do parasita, em mosaico, com a reacção característica, em torno *Oidium brasiliense*.

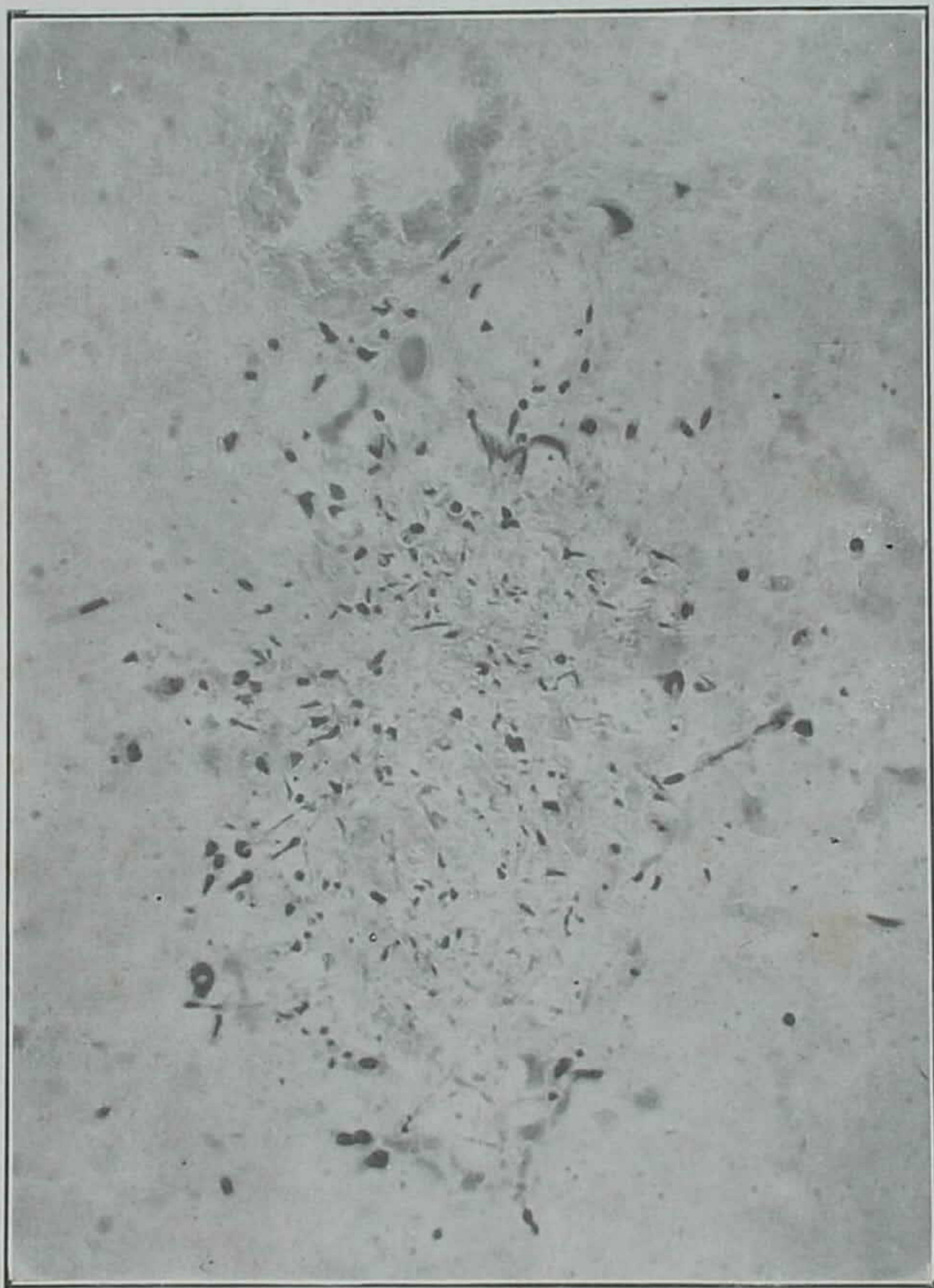
Fig. 3—Mesmo desenho que o nº 2, apenas com oc. 2; obj. 1/12 imm. h.; altura da platina. Aspecto

classico, em mosaico, do *Oidium brasiliense*.

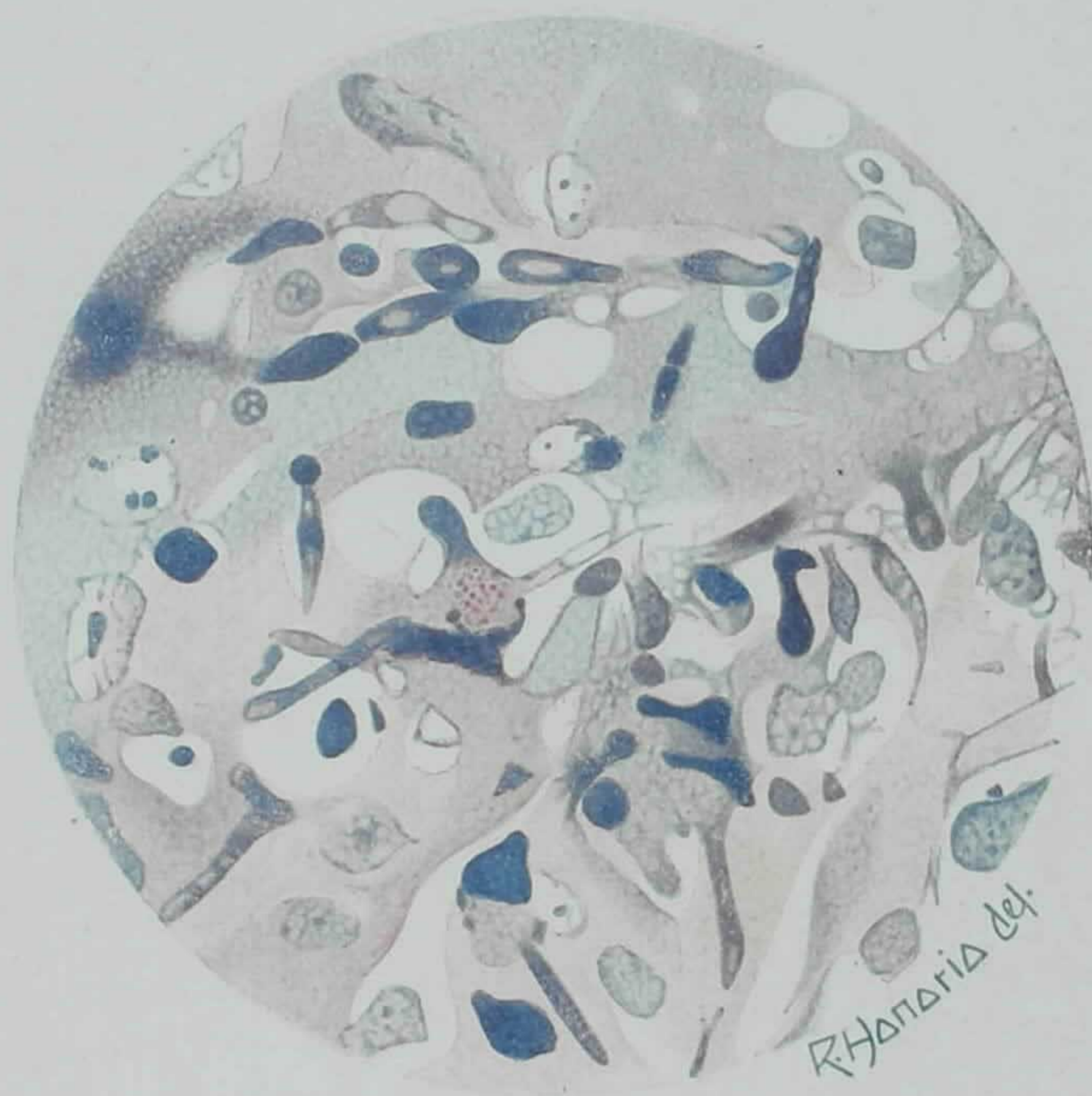
ESTAMPA XLVIII

Fig. 4—Coloração pela hematoxylina de Ragaud—Ponceau e azul de anilina. Pulmão de coelho. Fóco parasitario em torno. Oc. 2. obj. DD.; altura da platina. *Oidium brasiliense*.

Fig. 5—O mesmo desenho que o nº 4, apenas visto com oc. 2.; obj. 1/12 de imm. h.; altura da platina.

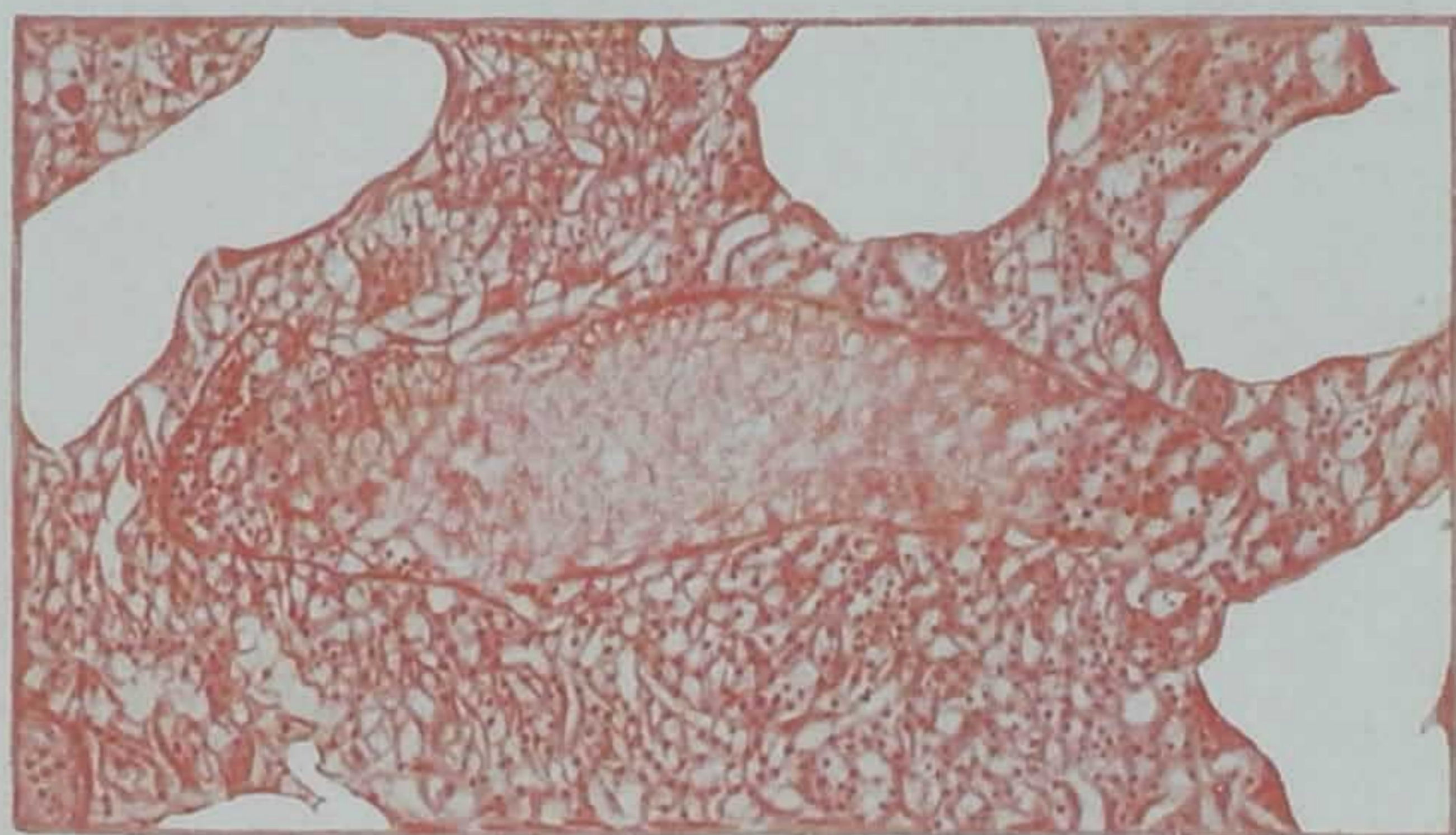


Dr. Octavio de Magalhães : A coloração dos cogumelos nos tecidos.

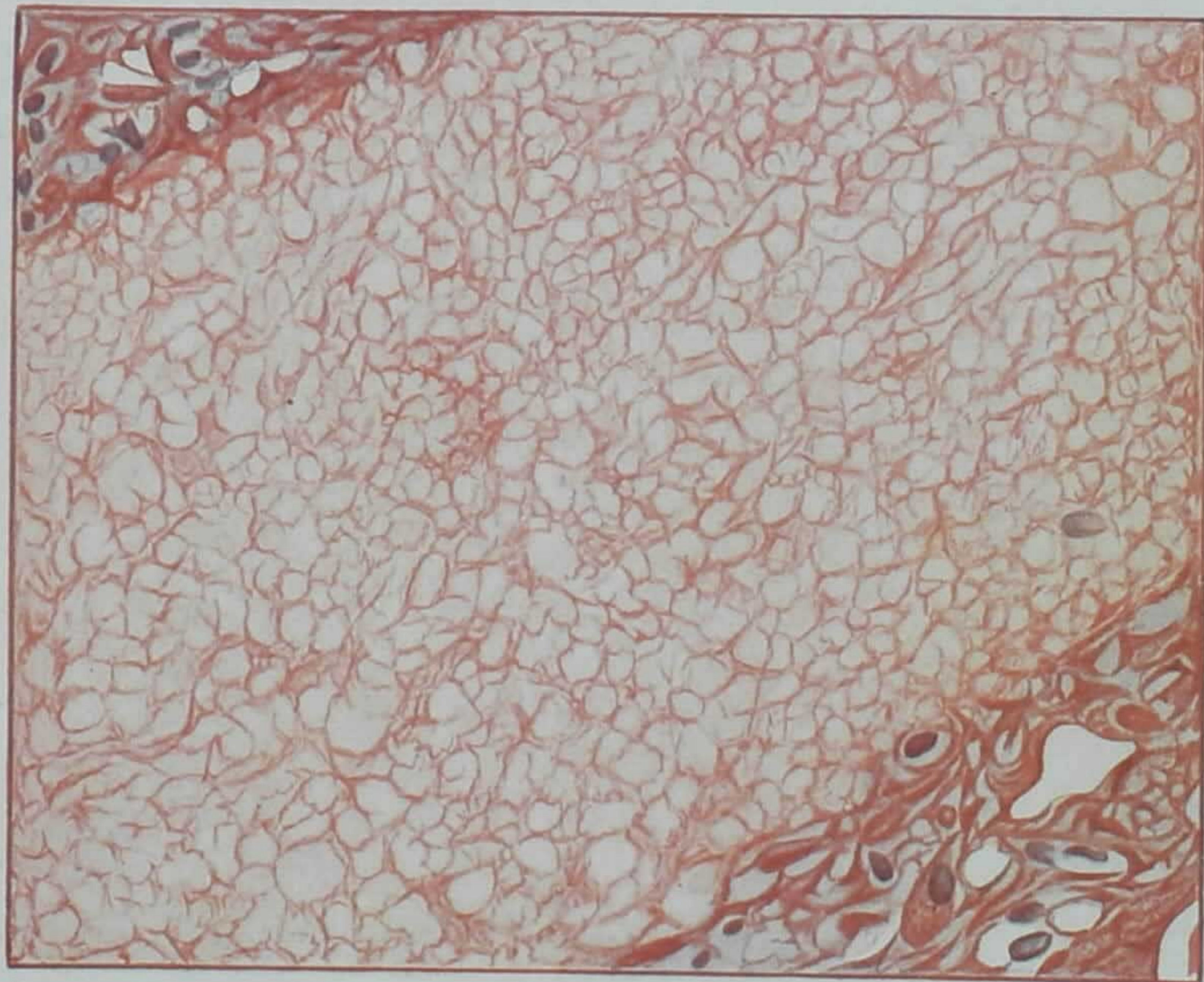


1

Dr. Octavio de Magalhães : A coloração dos cogumelos nos tecidos.

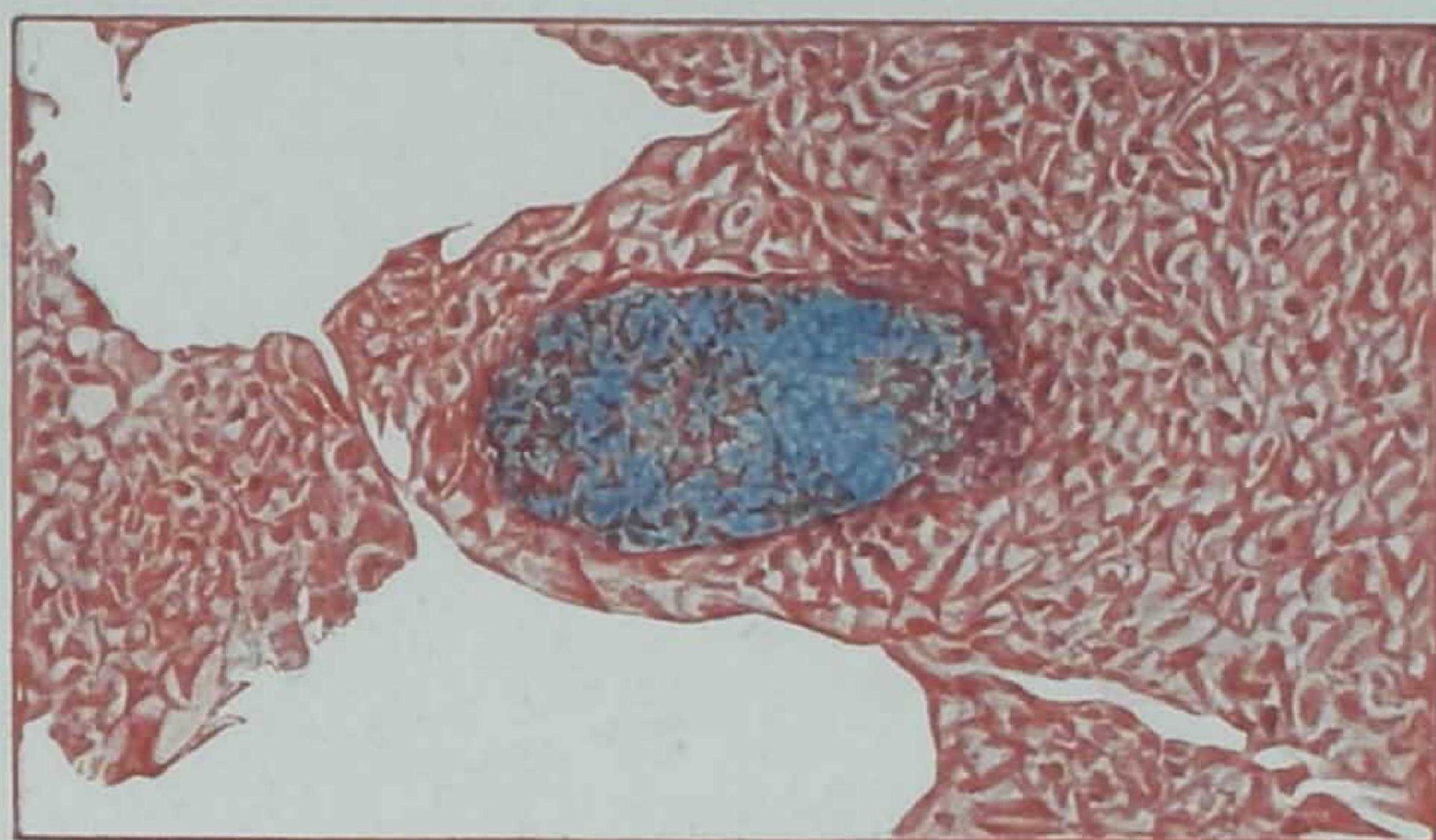


2

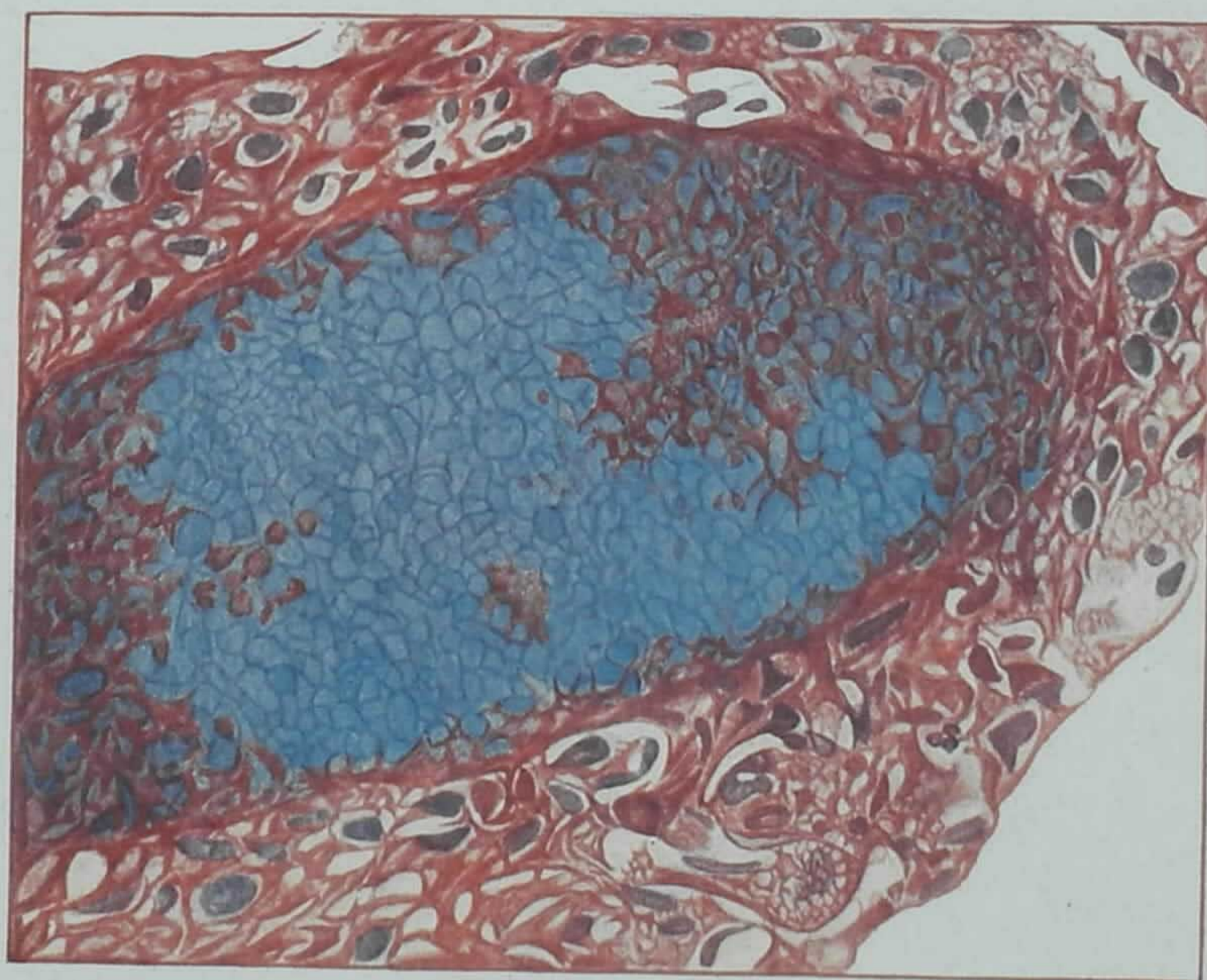


3

R. HONORIO - DEL



4



5

R. HONORIO - DEL

Dr. Octavio de Magalhães : A coloração dos cogumelos nos tecidos.