

FIDC 03 (58)

ANTONIO FONTES

Chefe de Serviço do Instituto Oswaldo
Cruz

**Novas orientações no estudo
da tuberculose**

SYNTHESE DAS RECENTES ACQUISIÇÕES



Antônio Fontes

Reimpresso dos "Archivos
de Hygiene" - Anno III, N. II

NOVAS ORIENTAÇÕES NO ESTUDO DA TUBERCULOSE

SYNTHESE DAS RECENTES ACQUIÇÕES

DR. ANTONIO FONTES

Chefe de serviço do Instituto Oswaldo Cruz

A corrente reformadora dos estudos microbiologicos que já volumosa, vem se constituindo ha cerca de 40 annos, começa a dar os seus fructos, verificando hypotheses, fundamento das theorias novas que permittem melhor elucidação dos problemas microbiologicos e medicos.

No tocante á tuberculose, quem tenha se occupado do assumpto nestes ultimos trinta annos, dará testemunho dos pequenos progressos obtidos quer no dominio experimental do laboratorio, quer na interpretação dos factos de observação clinica, quando tenha o pesquisador se orientado exclusivamente na directriz dos preceitos e premissas estabelecidas nas formulas rigidas da sciencia tida como classica, por dizerem respeito a factos incontestes sem duvida, mas com tal rigidez dogmatica encarados, que impossivel fôra, no paradigma traçado, algo de novo ser adquirido.

Os instrumentos de trabalho, em mão dos pesquisadores, hypotheses creadas dentro das noções adquiridas pelas geniaes experimentações de Roberto Koch, não poderiam de modo algum permittir conclusões novas, pois que as premissas como rodas bem ajustadas no mechanismo do raciocinio doutrinario, dariam como rendimento de seu trabalho, a aquisição

de factos que se enquadravam no paradigma microbiologico estabelecido, e eram então verdades que se confirmavam, ou delle se afastavam na concepção e no achado de phenomenos não previstos, e eram tidos como erroneos por attentarem contra o que se convencionara ser verdade absoluta.

Entrou em scena, em interminaveis discussões o espirito doutrinario, a idea de escola, o academicismo, emfim, com todos os seus preconceitos. E a verdade unica que é a que deriva do progresso que a sêde de saber dá, postergada, conduzia toda experimentação ao impasse de não se encontrar novos veios promissores de esclarecimentos nos intrincados problemas da biologia.

A genial reforma de Ferran, na essencia de cuja doutrina se encontra a verdade da lei biologica da adaptação ao meio, e cujo defeito se originou da applicação pratica generalisada que tão eminente vulto affirma á sua concepção, serviu entretanto para, ainda que em progresso lento, crear columnas que já podem sustentar o edificio de novas doutrinas, cuja confirmação vem sendo dada pela experimentação universal.

PLEOMORPHISMO DO BACILLO DE KOCH

A noção do pleomorphismo do bacillo de Koch introduzida por Ferran com as culturas homogeneas deu origem a uma vasta litteratura probante toda ella da veracidade do phenomeno. Podem se escrever volumes sobre o assumpto, mas não é dos moldes de um trabalho de synthese passal-os em revista.

Uma conclusão entretanto é possivel ser referida pormenorizadamente. O bacillo de Koch deve ser considerado quer microbiologicamente quer pathogenicamente não como uma bacteria, e sim como um virus.

Microbiologicamente sua forma varia, da de um simples cocco isolado, a de pequenas cadeias de cocos incluídos em delgado filamento, curto sob a forma de bastonete, ou longo sob a forma myceliana, cocos gram-positivos, acido-resistentes ou não, bastonetes gram-negativos, gram-positivos, acido-resistentes ou não.

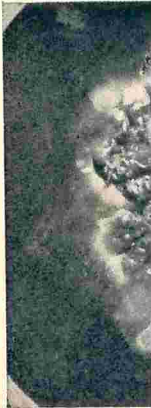
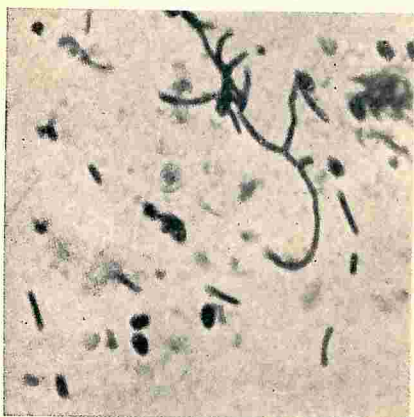
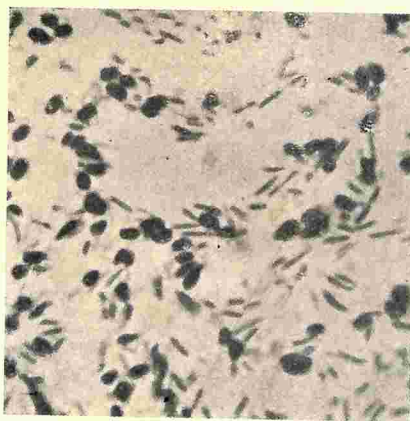
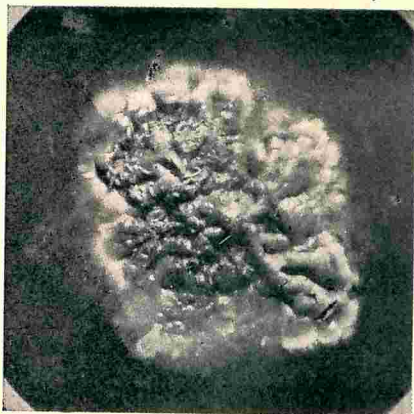


Fig. conservação
Fig.
Fig.
PETROFF—
Fig.
fortemente
Fig.
Konservieru
Fig.
Fig.
TROFF. Fac
Fig.
granulose.



Phots. J. Pinto.

Fig. 1—Actinomyces não patogênico para a cobaya. Cultura de 3 meses em meio de conservação SABOURAUD.

Fig. 2—Microphotographia de um esfregaço desta cultura. Col. Methodo de GRAM.

Fig. 3—Actinomyces e bacillo da Tuberculose—Esfregaço de cultura mixta em PETROFF—Col. pelo Methodo de FONTES.

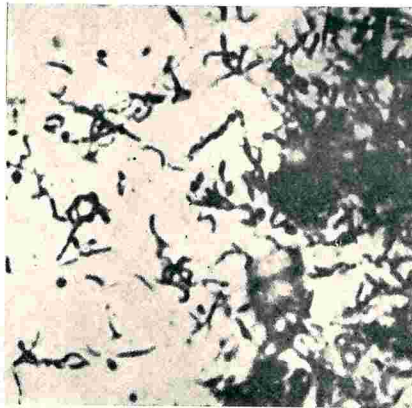
Fig. 4—Id. idem em batata glicerinada. Formas actinomicosicas acido-alcool-resistentes, fortemente granulosas

Fig. 1—Strahlenpilz nicht pathogen fuer Meerschweinchen. Kultur in SABOURAUD's Konservierungsnaehrboden. Kultur von 3 Monaten.

Fig. 2—Mikrophotographie eines Ausstriches dieser Kultur. Faerbung: GRAM's-Methode.

Fig. 3—Strahlenpilz und Tuberkelbacillus. Ausstrich einer gemischten Kultur in PETROFF. Faerbung: Durch FONTES Methode.

Fig. 4—Id. id. in glycerinierter Kartoffel. Saecure-alkoholfeste Strahlenpilzformen stark granulose.



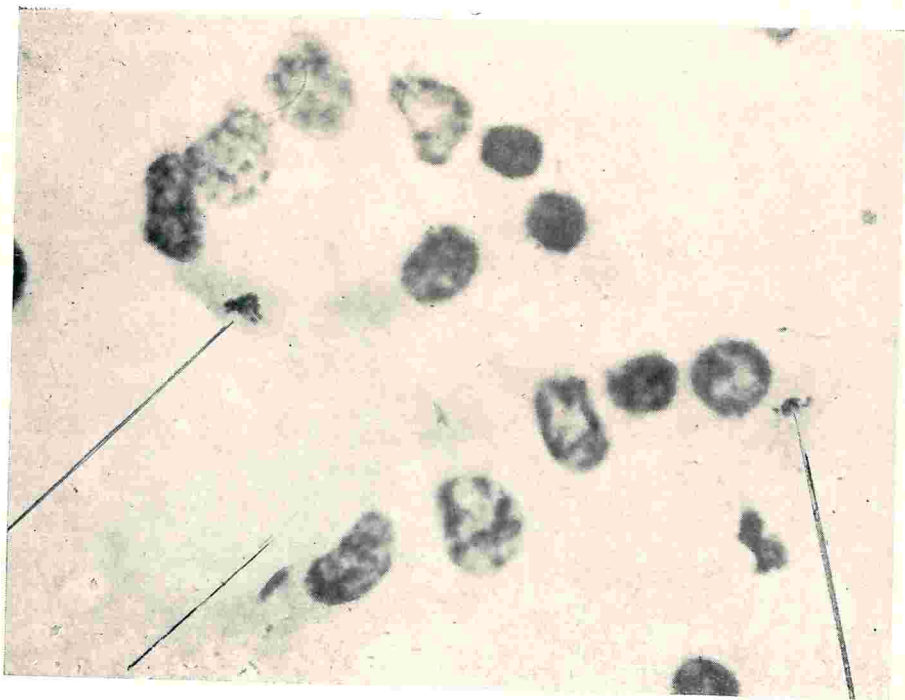
Photos J. Pinto

Fig. 5—Esfregaço de cultura em PETROFF do bacillo acido-alcool-resistente isolado de pus do ganglio de cobaya que succumbiu por tuberculose generalizada—Bac. acido alcool-resistente fortemente granuloso. Pelo Methodo de FONTES

Fig. 6—Id. id. Cultura em batata glicerinada.

Fig. 5—Ausstrich einer Kultur in PETROFF von saeure-alkoholfesten Bacillus, isoliert von Ganglien-Eiter eines an generalisierte Tuberculose gestorbenen Meerschweinchens. Saeure-alkoholfester Bacillus stark granulose. Durch FONTES'-Methode

Fig. 6—Id. id. Kultur auf glycerinierte Kartoffel



Bacilos acido-alcool resistentes. Ganglio tracheobronchico. Cobaya III A, inoculada em 24-2-27, morta em cachexia em 28-4-28



Cancro de cobaya inoculada com ganglio de cobaya, filha do macho III A e da cobaya IV, morta 5 dias após ter nascido

Pathogenicamente sua virulencia obedece a uma gama, as mais das vezes ligada á sua forma; bastonete acido-resistente, forma granular acido-resistente, forma granular não acido-resistente, typos mórphicos predominantes em modalidades clinicas da infecção, e que até certo ponto as caracteriza (Tuberculose evolutiva visceral, tuberculose fria ganglionar ou ossea, tuberculose atypica (ultravirus).

Assim as características chímicas da composição do virus em relação intima com a sua estructura conferem-lhe variabilidade immensa, dependente das propriedades morphicas e metabolicas, o que attenta contra a rigidez dos dogmas de acido-resistencia e da genese da lesão anatomica, tida como especifica.

Podemos hoje em dia concluir *na existencia da infecção tuberculosa sem bacillo acido-alcool-resistente e sem a constituição de tuberculo.*

Os recentes estudos sobre a dissociação microbiana, mostram que em uma mesma cultura podem coexistir colonias differentes em seu aspecto morphico, em seus caracteres metabolicos, em seu poder pathogenico, colonias conhecidas pelos typos R e S da classificação americana, rugosas ou lisas, virulentas ou avirulentas e cujas culturas se perpetuam por gerações.

O phenomeno da dissociação microbiana, assim comprovado, autorisa a que taes culturas não possam mais ser consideradas como puras, no sentido microbiologico classico, pois que ellas são constituídas por colonias com propriedades bio-chímicas e pathogenicas diversas.

Se vemos que em condições de rigoroso determinismo a variação dos elementos constituintes de uma cultura pode ultimar na origem de colonias tão dispares, o que não poderá succeder em um organismo infectado, no qual as condições bio-chímicas a elle peculiares influenciarão por certo a biologia do parasita, sujeito ás varias influencias do meio, em sua genese e em sua evolução? E assim, variará também a acção pathogenica do virus e com ella a physionomia do quadro morbido, peculiar a cada caso, permittindo-nos affirmar haver doentes e não doenças.

Não é descabido suppôr que as reacções de defeza individuaes guardem relação estreita com a variabilidade do poder

pathogenico do virus e assim a coexistencia de typos de um determinado agente etiologico, de variada virulencia, alterará fundamentalmente a pathogenia da infecção.

SAPROPHYTISMO DO BACILLO DE KOCH

Com a noção do pleomorphismo se creou uma nova orientação no estudo da biologia do bacillo que fazia prever qualquer relação com a possível origem saprophytica do virus.

Passou-se, pois, a investigar essa possibilidade sob os diversos aspectos em que o saprophytismo pode ser compreendido, isto é, sob a noção microbiologica classica, sob o ponto de vista da noção pathogenica de avirulencia e ainda sob o aspecto phylogenetico, em que a reversibilidade de caracteres do agente etiologico da infecção tuberculosa permite filial-o á uma fonte unica, ponto de partida de typos, apathogenicos, symbioticos ou virulentos.

Na flora microbiana saprophyta existe uma classe de micro-organismos que por seus caracteres morphicos, de estrutura, e biochimicos, de algum modo se assemelham ao bacillo de Koch. Esta classe conhecida ainda pela denominação de para-tuberculosos, tem representantes no solo, nos vegetaes, em excretas animaes diversos. As suas relações de parentesco com o bacillo de Koch apesar de investigadas por grande numero de experimentadores, se em mãos de alguns se deduzem de experimentação positiva em mãos de outros são contradictadas.

Mas se, em verdade, não poude ser ainda evidenciada nitidamente a função pathogena tuberculigena de acido-resistentes-saprophytas, de sorte a se encontrar ligação phylogenetica clara entre elles e o bacillo da tuberculose, pode-se afirmar entretanto que: *condições especiaes podem agir sobre os bacillos de Koch transformando-os em typos cada vez mais proximos ao dos acido-resistentes banaes, por modificações profundas em sua biologia, tornando-os avirulentos, alterando-lhes o bio-chimismo de sorte a perderem as principaes características dos bacillos pathogenicos, em estreita relação com a vida do parasitismo obrigatorio.*

Observaçõ
ram-me a pos
em estado de
glycosado) du
temperatura a
prazo, recobra
der os seus ca
lhe facultava
(calor, elemer

A cultura
3 annos e 5 m
com outras ar
culose fôra ca
cultura, á tem
se desenvolver
com o desenvol
thogenico dur
90 dias sem
nem de sua p

Apezar d
comprovados
tanto na litter
que permitta
do bacillo da
tica ao bacillo

Poderá ei
dição saproph

A observ
hypothese. O
de vida ao b
tações de vir
maior ou me

Amostras
dores conserv
de laboratoric
laboratorio en
pedador. Em
prophytismo
de que tal fun
ainda que de

Observações que venho fazendo desde 1923 demonstram-me a possibilidade do bacillo da tuberculose se manter em estado de vida latente em culturas artificiaes (Sabouraud glycosado) durante o prazo de 2 annos e 7 mezes, mantidas á temperatura ambiente e expostas á luz diffusa durante esse prazo, recobrando a sua capacidade de reproducção, sem perder os seus caracteres morphologicos e culturaes, desde que se lhe facultava os elementos favoraveis ao seu desenvolvimento (calor, elemento nutritivo e humidade).

A cultura original ainda fornecia novas gerações após 3 annos e 5 mezes. Nova serie experimental mostrou-me ainda com outras amostras de tuberculose que o bacillo da tuberculose fôra capaz de viver em latencia, no interior do caldo de cultura, á temperatura ambiente e exposto á luz diffusa, sem se desenvolver a cultura, e supportando a concurrencia vital com o desenvolvimento de um cogumelo (*streptotrix*) não pathogenico durante o prazo minimo de 45 dias e maximo de 90 dias sem modificação da sua capacidade de reproducção, nem de sua pathogenidade.

Apezar destas verificações, das quaes alguns dados são comprovados pela experimentação estrangeira, *não ha entretanto na litteratura sobre o assumpto documentação concludente que permita affirmar a condição de vida normal saprophytica do bacillo da tuberculose, nem que demonstre origem saprophytica ao bacillo de Koch.*

Poderá entretanto o bacillo da tuberculose viver em condição saprophytica no organismo animal?

A observação clinica falla em favor da veracidade desta hypothese. Observa-se frequentes vezes uma condição especial de vida ao bacillo da tuberculose compativel com manifestações de virulencia as mais diversas que se objectivam na maior ou menor receptividade do organismo infectado.

Amostras quasi que apathogenas para os seus hospeda-dores conservam integralmente sua virulencia para animaes de laboratorio; amostras quasi avirulentas para os animaes de laboratorio entreteem condições morbidas no organismo hospedador. Em qualquer dos casos é certo *que condições de saprophytismo ainda que incompletas mostram a possibilidade de que tal funcção biologica se estabeleca por condições normaes, ainda que de modo relativo.*

A existencia possivel do bacillo da tuberculose, na intimidade dos tecidos, sem determinar lesões anatomicas, conservando ou não a sua pathogeneidade para os animaes de laboratorio corrobora ainda a veracidade da conclusão anterior.

FORMA FILTRAVEL DO VIRUS

Do estudo da estructura do bacillo de Koch tão de perto ligada ás questões de pleomorphismo, derivou o conhecimento da forma filtravel do virus que só tem podido ser revelada pela prova biologica da inoculação. As provas culturaes que em mãos de grande maioria dos experimentadores tem fallado autoriza-nos, a crêr, que essa forma seja inculivavel in vitro.

De minha experimentação sobre o assumpto nada de positivo resultou até o momento actual; algo de interessante, entretanto, pude observar:

Filtrando culturas de tuberculose do typo humano em agua de batata glicerinada em velas Chamberland L₂ e L₃, conservei os filtrados em tubos estereis durante o prazo de 3 mezes, na presumpção de que se desenvolvesse cultura, com elementos que pudessem passar atravez as velas e que seriam conservados nas mesmas condições experimentaes em que a cultura original se havia desenvolvido. Ao cabo desse prazo os tubos se mantinham estereis. Adicionei então a cada um delles um terço de sangue fresco desfibrinado de cobaya. Tubos testemunhas com agua de batata da mesma partida receberam tambem a mesma quantidade de sangue.

Todos os tubos se mantiveram estereis, quer os testemunhas quer os que continham o filtrado, menos um que continha o filtrado, o qual entre os 20° e 30° dias após a addição do sangue mostraram o desenvolvimento de um pequeno bastonete diptheroide, gram-positivo, não acido-resistente.

Transplantada esta cultura para meios communs (caldo simples e glicerinado, gelose inclinada, batata) não se desenvolveu. Transplantada para meios de caldo de carne glicerinado — sangue, caldo de carne ovo, agua de batata glicerinada, gema de ovo, reproduziram-se até quatro gerações nos

Cob. IIIa. 8 dias de mais abcesso e formação de Cálcio. Ausencia de lesão tuberculosa. PRESENÇA NA LE. SACHEXIA. PRESENÇA DE SAC DE BACILLOS. PRESENÇA DE SAC DE BACILLOS. ACIDO-ALCOOL-RESISTENTE.

Cob. IIIa. Morte em 28-4-28

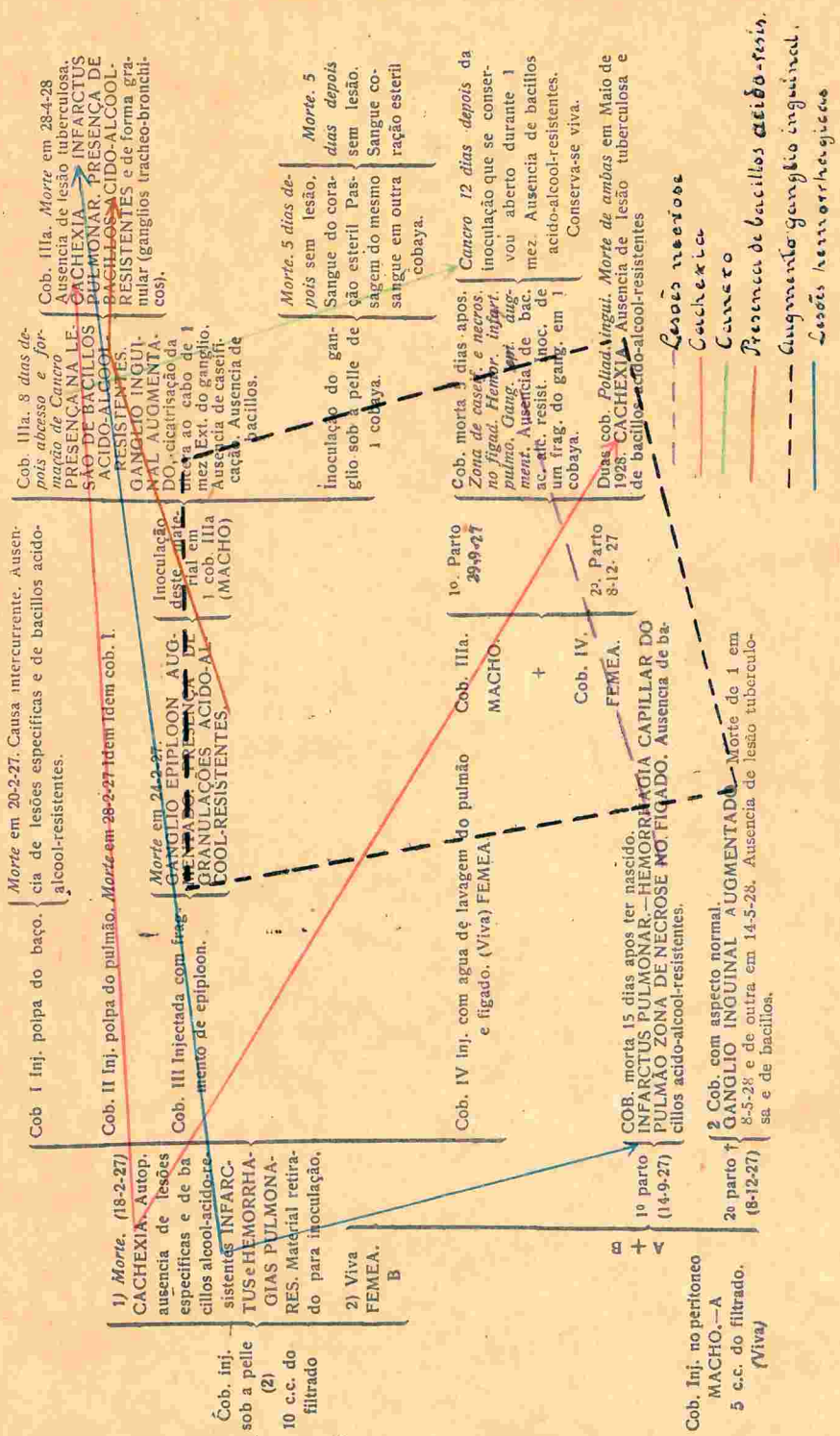
Morte em 20-2-27. Causa intercurrente. Ausencia de lesões especificas e de bacillos acido-alcool-resistentes.

Cob. I Inj. polpa do baço.

Cob. II Inj. polpa do pulmão. Morte em 29-2-27 idem idem cob. I.

OS PERMA-VELA

COBAYAS INJECTADAS COM EMULSÃO DE ESCARPO TUBERCULOSO APÓS PERMANGANATO DE POTÁSSIO EM VELA A 30°C DURANTE TRÊS DIAS E FILTRADA EM VELA CHAMBERLAND L2 (19-11-26)



COBAYAS INECTADAS COM EMUSÃO DE ESCARPO TUBERCULOSO APÓS PERMANGANATO DE POTÁSSIO DURANTE TRÊS DIAS E FILTRADA EM VELA DE CHAMBERLAND L2 (19-11-26).

<p>1) <i>Morte.</i> (18-2-27) CACHEXIA. Autop. ausência de lesões específicas e de bacil- os álcool-acido-resis- tentes INFARCTUS e HEMORRHAGIAS PULMONARES. Material retirado para inoculação.</p>	<p>Cob. inj. sob a pelle (2) 10 c.c. do filtrado</p>	<p>1) <i>Morte.</i> (18-2-27) ausência de lesões específicas e de bacilos álcool-resistentes.</p>	<p>Cob. I Inj. polpa do baço.</p>	<p><i>Morte</i> em 20-2-27. Causa intercurrente. Ausência de lesões específicas e de bacilos álcool-resistentes.</p>	<p>Cob. III Inj. polpa do pulmão. <i>Morte</i> em 28-2-27 Idem Idem cob. I.</p>	<p>1) <i>Morte.</i> (18-2-27) ausência de lesões específicas e de bacilos álcool-resistentes.</p>	<p>Cob. IIIa. <i>Morte</i> em 28-4-28 Ausência de lesão tuberculosa. CACHEXIA. — INFARCTUS PULMONAR. PRESENÇA DE BACILLOS ACIDO-ALCOOL-RESISTENTES e de forma granular (ganglios tracheo-bronchicos).</p>
<p>2) Viva FEMEA. B</p>	<p>Cob. inj. sob a pelle (2) 10 c.c. do filtrado</p>	<p><i>Morte</i> em 24-2-27. GANGLIO EPIPLON AUGMENTADO. PRESENÇA DE GRANULACOES ACIDO-ALCOOL-RESISTENTES.</p>	<p>Cob. III Inj. polpa do pulmão. <i>Morte</i> em 28-2-27 Idem Idem cob. I.</p>	<p><i>Morte</i> em 24-2-27. GANGLIO EPIPLON AUGMENTADO. PRESENÇA DE GRANULACOES ACIDO-ALCOOL-RESISTENTES.</p>	<p>Inoculação do ganglio sob a pelle de 1 cobaya.</p>	<p><i>Morte.</i> 5 dias depois sem lesão. Sangue do coração estéril. Passagem do mesmo sangue em outra ração estéril cobaya.</p>	<p><i>Morte.</i> 5 dias depois sem lesão. Sangue do coração estéril. Passagem do mesmo sangue em outra ração estéril cobaya.</p>
<p>10 parto (14-9-27)</p>	<p>10 parto (14-9-27)</p>	<p>10 parto (14-9-27)</p>	<p>Cob. IV Inj. com agua de lavagem do pulmão e fígado. (Viva) FEMEA.</p>	<p>10 parto (14-9-27)</p>	<p>10 parto (14-9-27)</p>	<p>Cob. morta 5 dias após. Zona de casef. e necros. no fígad. Hemor. infart. pulmão. Gang. epi. augment. Ausência de bac. ac. alc. resist. Inoc. de um frag. do gang. em 1 cobaya.</p>	<p>Cob. morta 5 dias após. Zona de casef. e necros. no fígad. Hemor. infart. pulmão. Gang. epi. augment. Ausência de bac. ac. alc. resist. Inoc. de um frag. do gang. em 1 cobaya.</p>
<p>20 parto (8-12-27)</p>	<p>20 parto (8-12-27)</p>	<p>20 parto (8-12-27)</p>	<p>Cob. IV. FEMEA.</p>	<p>20 parto (8-12-27)</p>	<p>20 parto (8-12-27)</p>	<p>Duas cob. <i>Poluid. ingui.</i> <i>Morte</i> de ambas em Maio de 1928. CACHEXIA. Ausência de lesão tuberculosa e de bacilos ácido-alcool-resistentes</p>	<p>Duas cob. <i>Poluid. ingui.</i> <i>Morte</i> de ambas em Maio de 1928. CACHEXIA. Ausência de lesão tuberculosa e de bacilos ácido-alcool-resistentes</p>

probatos da não existencia da forma filtravel. Reconhecem entretanto todos elles a presença de taes lesões e as attribuem ás toxinas bacillares, para as quaes são as velas de porcellana permeaveis. Esta interpretação não procede porque para que as toxinas bacillares determinem lesões necessario se torna que sua inoculação seja repetida. Só então se dará a perturbação funcional, com a sensibilisação do animal, seguida da lesão anatomica, infiltração lymphocytica, primordio da constituição do folliculo.

Ora com o virus filtravel este effeito é obtido só com uma inoculação. As manifestações pathogenicas em ambos os casos são identicas; ellas não differem senão no caracter de serem determinadas continuamente pela acção constante e continua do virus filtravel, inoculado em uma só vez, e pela continuidade de acção determinada pela repetição de administração do principio toxico, no caso de intoxicação tuberculina.

A acção permanente e perenne do virus filtravel, modificando profundamente o meio vivo, em que elle actua, leva os animaes a uma desnutrição progressiva, que termina com a morte em accentuada cachexia.

Nem todos os casos experimentaes assim terminam: uns ha que facilmente curam e só podem ser reconhecidos como casos morbidos pela reacção allergica fugaz posta em evidencia pela tuberculina, outros e estes são os mais raros que evoluindo sob o typo classico, sob forma nodular, não deixam duvida sobre a especificidade da infecção.

Mas, qual a natureza do principio morbigeno existente nos productos de origem tuberculosa e nas culturas do bacillo de Kock que passa atravez as velas de porcellana porosas?

Pela minha experimentação sou levado a pensar que seja a forma granular do virus a responsavel. Visivel, em parte, e com grandissima probabilidade invisivel em outra parte, a forma granular, arcabouço estructural do myco-bacterium tuberculosis, representa papel preponderante na evolução morphica do parasita. Forma granular visivel, ou forma granular invisivel (ultra virus de Calmette) é ella sempre parte integrante do cyclo de vida do parasita, que nella reconhece o primordio de sua organização morphica.

A observação microscopica da forma granular deixa entrever granulações de tal sorte finas que se confundem com o limite da visibilidade.

Fica o p
formas passar
que sejam ell
regenerarem
atinjam á d

Não resta
ções do bacill

A conclu
a mais ampla
nucia o estud

Sobre a
filtros de por
dependendo t
e das condiç
a duvida sob
rente á um v

Alegamos
do agente m
em serie, não
ainda de sua

HERI

O transf
do feto, em
da placenta é

A infecçã
particular do
anatomica da
elemento inf

Neste ca
pathologica, a
contrado no c
acido-resisten
culisação do

Na heret
ticas dos liq
typo particul
thologica esp

Fica o problema adstricto assim á possibilidade dessas formas passarem atravez os filtros de porcellana porosa e de que sejam ellas capazes de accção pathogenica especial, ou de regenerarem formas mais diferenciadas que por ultimo termo attingam á de bastonete acido-alcool-resistente.

Não resta hoje mais duvida sobre a funcção das granulações do bacillo de Kock sobre a sua genese e reproducção.

A conclusão a que havia eu chegado em 1911 tem tido a mais ampla confirmação por todos os que tem levado á minucia o estudo da estructura do bacillo.

Sobre a possibilidade das granulações atravessarem os filtros de porcellana, ninguem tambem põe mais em duvida, dependendo tão sómente isso do tamanho dos póros da vela e das condições phisicas que regulam o phenomeno. Resta a duvida sobre a especificidade morbigena especifica, se referente á um virus ou se á toxinas.

Alegamos já razões que fazem crêr na natureza de virus do agente morbigeno, mas passaremos agora á demonstração em serie, não só do poder morbigeno da forma filtravel, como ainda de sua transmissão por legado hereditario.

HEREDO INFECÇÃO DA TUBERCULOSE

O transfer do virus do organismo materno ao organismo do feto, em condições de integridade anatomica dos tecidos da placenta é o que caracteriza a herança da semente.

A infecção hereditaria assim produzida, torna-se um caso particular do contagio congenito que ocorre quando ha lesão anatomica da placenta que permite a passagem directa do elemento infectante.

Neste caso se dará contagio intra-uterino por condição pathologica, accidental, e o virus será na maioria das vezes encontrado no organismo do feto sob a sua forma visivel, classica acido-resistente e a herança morbida se traduzirá pela *tuberculisação* do nasciturno.

Na heredo infecção o contagio se dá pelas trocas osmoticas dos liquidos nutritivos maternos e fetaes, criando um typo particular miopragico ou morbido com physionomia pathologica especial que caracteriza a constituição dos hypo-

nutridos, pela hyperplasia do systema lymphatico, fragilidade da funcção circulatoria, instabilidade da funcção endocrinica, constituição morbida especial que confina com os estados por muitos tidos como de *pre-tuberculose*.

Assim se confunde a noção de herança de terreno com a de herança do virus. Nestes casos não se pode pôr em evidencia o bacillo de Kock, como forma acido-alcool resistente do virus, mas a acção morbigena deste é demonstrada pelo quadro duravel de uma intoxicação chronica que muitas vezes culmina na constituição de lesões anatomicas.

Este é o effeito morbigeno dos elementos filtraveis do virus tuberculoso que se transmite por inoculação em serie experimental, ou por passagem através da placenta, da mãe ao feto, em condições naturaes.

O seguinte quadro synoptico que schematiza a minha experimentação mostra claramente o phenomeno. Por elle vemos que o virus filtravel tuberculoso manifestou seu poder morbigeno, determinando a morte da 1ª cobaya por cachexia. Re-inoculado em 2ª passagem determinou a formação de um cancro no ponto de inoculação (*o que está em opposição á observação geral sobre a acção pathogenica do virus*), com regeneração de formas acido-alcool-resistentes.

Estas foram reabsorvidas, mas o ganglio satellite transplantado para outra cobaya produziu em duas passagens successivas a morte do animal em 5 dias.

Em linha directa as lesões se repetiram por inoculação como facilmente ver-se-á pela indicação dada pelas linhas de côres no quadro.

No outro ramo de experimentação se verifica que o poder morbigeno do virus se manifestou uma vez em primeira passagem, outra vez sem segunda passagem no organismo materno, e, em *terceira passagem no organismo* dos fetos, os quaes apresentaram sempre lesões identicas; infartus pulmonares, hemorragias capillares do pulmão, necrose e caseificação do figado, polyadenia e cachexia.

Em um caso, em quarta passagem, houve formação de um cancro typico, que cicatrizou ao cabo de um mez.

Em nenhum caso foi encontrado o elemento virulento sob a forma do bacillo acido-alcool-resistente.

Fig. 7 — Cu

Meio d

Fig. 8 — A

Fig. 7 — Kt

Meerse

Fig. 8 — Di



Fig. 7



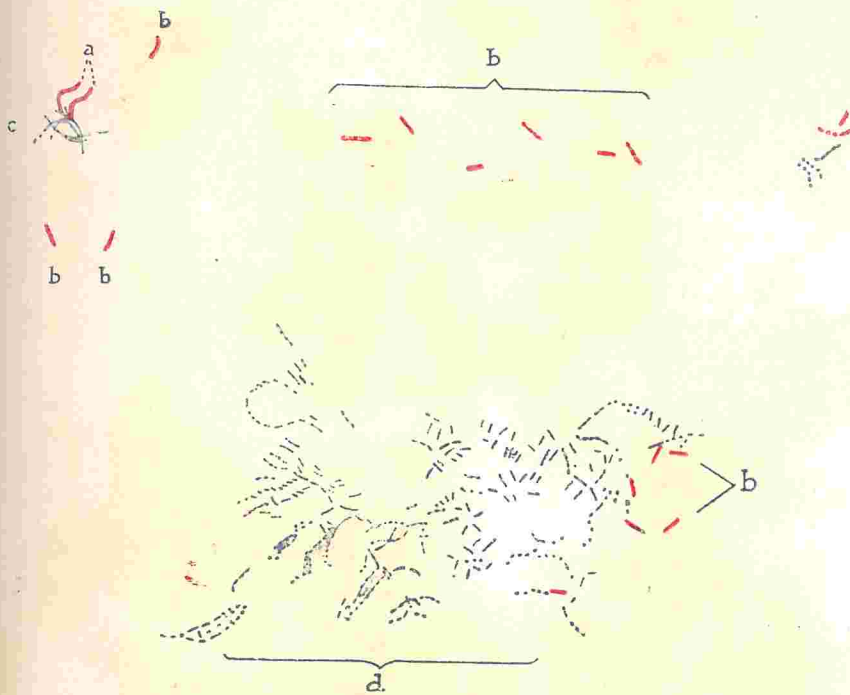
Fig. 8 Castro Silva, del.

Fig. 7—Cultura de tuberculose chromogena, isolada de pús de cobaya — Meio de PETROFF.

Fig. 8—A mesma cultura em batata glicerinada.

Fig. 7—Kultur von chromogener Tuberkulose, isoliert aus dem Eiter eines Meerschweinchens. — PETROFF'sches Medium.

Fig. 8—Dieselbe Kultur auf Glyzerin-Kartoffel.



- a- formas Gram negativas appensas
- b- formas Gram negativas livres
- c- formas Gram positivas streptotrix
- d- formas Gram positivas granulosas

Castro Silva del.

SUMMARY

The study of the pleomorphism of the bacillus of tuberculosis, initiated by Ferran, with the homogenous cultures, shows the great variability of the morphologie and pathogenous characters the virus of tuberculosis is likely to take.

The recent studies about microbial dissociation, in artificial cultures, recognized also in tuberculosis, may give way to admit of such cultures not being considered as pure, in the microbiologic sense, since they are constituted by colonies, each of which having biochemical and pathogenous properties different from one to the other.

What happens under conditions pre-established by experimental determinism, should, with as much reason, occur in natural infections, where individual defence reactions have to keep in strict relation with the variableness of the pathogenous power of the virus. The co-existence of types of a determined infectious agent, of variable virulence, will modify throughout the pathogeny of the infection.

We may nowadays consider tuberculosis as an infection caused by a virus, and conclude in the existence of the disease without acid-alcohol-fast bacillus and without tubercule.

Still, from the thorough study of the biology of the tuberculous bacillus, resulted the knowledge of the fact that special conditions may act on the Koch's bacillus transforming it into types more and more alike those of the common type of acid-fast bacilli, by deep alterations of its metabolism, turning it to be avirulent, altering its biochmism, so as to cause it to lose the main characteristics of pathogenous bacilli, this in strict relation with conditions nearing those of saprophytism..

Thus, I was able to verify the possibility for the tuberculous bacillus to keep in a state of latent life in artificial culture, subject to dysgenetic conditions of the ambient medium, for a period of 2 years and 7 months, after which, being restored the elements necessary for its developing (heath, nutrient element and humidity) this culture yielded other new cultures.

The culture revived in this way rendered still sub-cultures after 3 years and 7 months.

Notwithstanding however, the numerous observations, aiming at demonstrating the hypothesis of saprophytism, literature on the matter does not allow of concluding with certainty in the normal saprophytic condition of the tuberculous virus, nor demonstrates the saprophytic origin of the Koch's bacillus.

One may, however, affirm that conditions of saprophytism, even when incomplete, show the possibility of such biological function to be established, may be even in a relative manner, under normal conditions.

The study of the structure of the Koch's bacillus has led to the knowledge of the filtration form of the virus, which could be recognized only by inoculation test.

Cultural experiments have failed, which induces to believe this form is not cultivable *in vitro*.

Meanwhile, I was successful in obtaining, however only in one case, the culture of a diphtheroid germ, starting from a filtrated culture, which developed only in media containing blood, and which, after four generations, did not more develop.

This microbial form was not pathogenous for Guinea pig.

If it has not been possible to obtain cultures of the filtrable form, the inoculation of the virus represented by this latter, determines an atypical illness, chiefly characterized by a dystrophic cachectizing frame, this latter being the commonest, which evolves toward the classical frame in 8 % to 10 % of cases, according to Malartre, or in 3 %, Calmette says.

About the nature of the morbigenous filtrable element, I suppose the granular form of the virus has to account for it.

Either visible or invisible, I believe this form plays a great part in the life cycle of the parasit, which in same, finds the principle of its morphical organization.

The objection that the pathogenic power of the filtrable virus should be ascribable to the action of toxins, not to that of the virus, cannot hold, since one single inoculation of the virus is sufficient to provoke it, whereas with tuberculous toxins, repeated inoculations are necessary for the morbigenous action to be observed. Besides, the demonstration in series, which is plainly shown by the passage of filtrable elements through the pla-

centa, together with the lesions observed in fetus and in animals inoculated with viscera of these, induces us not only to believe in the living nature of the morbigenous factor as also to admit that the dyscrasic condition, transmissible from mother to fetus, affirms the notion of morbid inheritance, even though the passage of the figurative element of the tuberculous virus (acid-alcohol-fast bacillus) is not to be verified.

The dyscrasic condition thus created, which means a peculiar humoral condition, expresses here the chronical intoxication caused by the virus.

This intoxication has for its result an unstable equilibrium toward cellular defence, which gives way to the *predisposition* to tuberculosis and determines a peculiar organic constitution with the aspect of *tuberculizable ground*.

The somatic notion decurring from both factors has been given the name of *pre-tuberculosis*; a notion which may be true in the anatomical and etiological sense, but quite wrong if considered physiopathologically, for in these morbid conditions, the infection already exists, represented by the sacordial form, either visible or ultra-microscopical, which accounts for the heredo-contagion and the morbid inheritance deriving herefrom.

From all this, may be deducted that in the therapeutic problem, two conditions have to be aimed at:

- a) Annihilation of the toxical factor, and
- b) Normalization of the disturbed functions.

It is our hope, that, as long as no chimiotherapic specific agent is discovered, active immunization, together with an exact knowledge of the nutrient hormones, which are counterweighed by the action of the bacillar toxins, may bring a solution to the therapeutic problem.

L'étu
les cultures
thogéniques

Les é
reconnues é
sent ne pas
sont consti

Ce q
telle, doit à
individuelle
voir pathog
de virulence

Nous
un virus, et
tubercule.

L'étt
d'arriver à
les de Koch
acido-résist
dant aviruk
caractéristi
conditions :

C'est
se mainteni
nétiqes du
réintégratio
et humidité

La c
7 mois.

Entr
thèse du sa
clure avec
démontre l

On p
plètes, font
que d'une

De l'
filtrante du

Les é
que cette fe

Néan
roide, en pa
tenant du s

Cette

Si l'o
présenté pa
par un cadr
vers le cadre

A mc
ture du p

Visib
du parasite,

L'obj
toxines et n
de celui-ci p
que les inoc
plus, la dém

SOMMAIRE

L'étude du pléomorphisme du bacille de la tuberculose, initié par Ferran, avec les cultures homogènes, prouve la grande variabilité des caractères morphologiques et pathogéniques dont le virus de la tuberculose peut être susceptible.

Les études récentes sur la dissociation microbienne, dans les cultures artificielles, reconnues également dans la tuberculose, autorisent à admettre que ces cultures puissent ne pas être considérées comme pures, au sens microbiologique du mot, puisqu'elles sont constituées par des colonies de propriétés biochimiques et pathogènes diverses.

Ce qui se produit dans des conditions pré-établies par le déterminisme expérimentelle, doit à plus forte raison se manifester dans les infections naturelles, où les réactions individuelles de défense, doivent demeurer en rapport étroit avec la variabilité du pouvoir pathogénique du virus. La co-existence de types d'un agent infectieux déterminé, de virulence variée, modifiera du tout au tout, la pathogénie de l'infection.

Nous pouvons aujourd'hui considérer la tuberculose comme une infection due à un virus, et conclure à l'existence de la maladie sans bacille acido-alcool-résistant et sans tubercule.

L'étude approfondie de la biologie du bacille de la tuberculose, a permis encore d'arriver à la connaissance du fait que des conditions spéciales peuvent agir sur les bacilles de Koch, en les transformant en des types chaque fois plus rapprochés de ceux du type acido-résistant banal, par des modifications profondes de leur métabolisme, en les rendant avirulents, en altérant leur biochimisme, de telle sorte qu'ils perdent les principales caractéristiques des bacilles pathogéniques, ceci demeurant en rapport étroit avec des conditions se rapprochant de celles du saprophytisme.

C'est ainsi que j'ai pu constater la possibilité, pour le bacille de la tuberculose, de se maintenir à l'état de vie latente en culture artificielle soumise aux conditions dysgénétiques du milieu ambiant, pendant une période de 2 ans et 7 mois, après laquelle, par réintégration des éléments nécessaires à son développement (chaleur, élément nutritif et humidité) cette culture a donné naissance à des nouvelles cultures.

La culture ainsi revivifiée fournit encore des sous-cultures au bout de 3 ans et 7 mois.

Entretiens, malgré les nombreuses observations tendant à démontrer l'hypothèse du saprophytisme, la littérature sur la matière en question ne permet pas de conclure avec certitude à la condition normale saprophytique du virus tuberculeux, ni ne démontre l'origine saprophytique du bacille de Koch.

On peut, cependant, affirmer que des conditions de saprophytisme, même incomplètes, font voir la possibilité du fait que cette fonction biologique s'établisse, ne fut-ce que d'une manière relative, dans des conditions normales.

De l'étude de la structure du bacille de Koch est résultée la connaissance de la forme filtrante du virus, forme qui n'a pu être reconnue que par l'épreuve de l'inoculation.

Les épreuves culturales n'ont pas donné le résultat attendu, ce qui autorise à penser que cette forme n'est pas cultivable *in vitro*.

Néanmoins j'ai pu obtenir, une seule fois cependant, la culture d'un germe diphthéroïde, en partant d'une culture filtrée qui ne s'est développée que dans des milieux contenant du sang, et qui, au bout de quatre générations, ne s'est plus développée.

Cette forme microbienne n'était pas pathogénique pour le cobaye.

Si l'on n'a pu obtenir de cultures de la forme filtrable, l'inoculation du virus représenté par cette forme produit une maladie atypique qui se caractérise principalement par un cadre clinique dystrophique, cachectisant, qui est le plus commun et qui évolue vers le cadre classique dans 8 et 10 % des cas, d'après Malartre, où dans 3 % selon Calmette.

A mon avis, c'est la forme granulaire du virus qui est à considérer, quant à la nature du principe morbide filtrable.

Visible ou invisible, je crois que cette forme fait partie intégrante du cycle vital du parasite, qui y trouve le principe de son organisation morphique.

L'objection que le pouvoir pathogénique du virus filtrable serait du à l'action de toxines et non à l'action du virus lui-même, doit être rejetée, car une unique inoculation de celui-ci permet de l'obtenir, tandis qu'avec les toxines tuberculeuses, il est nécessaire que les inoculations soient répétées pour que l'on remarque leur action morbide. De plus, la démonstration en série que fournit le passage des éléments filtrables à travers le

placenta, ainsi que les lésions observées chez les fœtus et chez les animaux inoculés avec les viscères de ceux-ci, nous porte à croire non seulement à la nature vivante de l'agent morbide, mais aussi à pouvoir admettre que l'état dyscrasique transmissible de la mère au fœtus affirme la notion d'héritage morbide, alors même que manquerait la vérification du passage de l'élément figuré du virus tuberculeux (bacille alcool-résistant).

L'état dyscrasique ainsi créé, qui dénote une constitution humorale particulière se trouve être l'expression de l'intoxication chronique provoquée par le virus.

De cette intoxication résulte un équilibre instable vis-à-vis des défenses cellulaires, et qui donne lieu à la *prédisposition* à la tuberculose, en établissant une constitution organique particulière avec la physionomie de *terrain tuberculisable*.

La notion somatique qui découle des deux facteurs a jusqu'à ce jour, reçu le nom de *prétuberculose*, notion qui peut être vraie au sens anatomique et pathologique, mais qui est erronée au sens physiopathologique, car, dans ces états morbides, l'infection existe déjà, représentée par la forme sarcodiale visible ou ultra-microscopique du virus, responsable de l'héredo-contagion et de l'héritage morbide qui en dérive.

De ce qui précède, on peut dire que, dans le problème thérapeutique, deux conditions doivent être envisagées:

- a) l'inutilisation du facteur toxique et
- b) la normalisation des fonctions perturbées.

Il faut espérer que, tant que l'agent chimiothérapique ne sera pas découvert, l'immunisation active et la connaissance exacte des hormones nutritifs abolis par l'action des toxines bacillaires, apporteront donner une solution au problème thérapeutique.

Tudo se
fecção latem
zindo lesões

O estado
assim a noçã

Facto ir
resistente do
ção foi proc
em que inte
manifestou
funciones e
figurado eti

Esta ob
passagem do
alcool-resiste
bida se dá.

Estabel
estado parti
xicação chit
a permanen

Ora, a
se exerce qu
palmente do
anatomica,
os sistemas
tomatismo

As rela
virus tornar
tuberculosa
de defeza et
se apresent
instabilidade
persensibili
choque amp

Do equ
cellulares á
humoral de
ganica pect
savel.

A noçã
o quadro c

Tudo se passou nesta experimentação como se uma infecção latente e occulta minasse a resistencia organica produzindo lesões que puderam ser verificadas.

O estado dyscrasico transmissivel de mãe ao fêto affirmou assim a noção de herança morbida.

Facto interessante se observou ainda: a forma acido-alcool resistente do virus só foi encontrada nos casos em que a infecção foi produzida pela inoculação directa do virus; nos casos em que interveio o phenomeno biologico de herança esta só se manifestou pelo poder morbigeno do virus, com as alterações funcções e anatomicas delle decorrentes, sem que o elemento figurado etiologico pudesse ser evidenciado.

Esta observação mostra que *mesmo nos casos em que a passagem do elemento figurado do virus tuberculoso (bacillo acido-alcool-resistente) da mãe ao fêto não se realise, a herança morbida se dá.*

Estabelecida a herança morbida, se traduz ella por um estado particular de constituição humoral, expressão de intoxicação chronica causada pelo virus e por elle entretida com a permanencia da infecção.

Ora, a acção physio-pathogenica dos venenos tuberculosos se exerce quer sobre os elementos nobres dos tecidos, principalmente do tecido lymphatico, alterando a sua constituição anatomicas, quer sobre o systema hemopoetico, quer sobre os systemas endo-crinico e neuro vascular perturbando o automatismo as funcções reguladoras da nutrição.

As relações desta sorte estabelecidas entre o terreno e o virus tornam-se dia a dia mais favoraveis á eclosão da doença tuberculosa que de facto já insidiosamente existe e a reacção de defeza cuja expressão é dada pelos elementos morbidos que se apresentam, cria o estado allergico, estado particular de instabilidade celllular á solicitação toxica que culmina na hypersensibilidade especifica cujo exgottamento desencadeia o choque amphylactico.

Do equilibrio instavel humoral estabelecido pelas defezas celllulares á solicitação dos toxicos do virus, resulta o estado humoral de *predisposição* á tuberculose, da constituição organica peculiar assim creada, se origina o terreno *tuberculisavel*.

A noção somatica decorrente dos dois factores estabelece o quadro classico da *pré-tuberculose*, expressão verdadeira no

sentido anatomico e etiologico, mas erronea no sentido physio-pathologico, porque nestes estados morbidos a infecção já existe, e por ella é responsavel a phase direi sarcodial ultra-microscopica, invisivel (ultra-virus) granular visivel, phase de virus pré-bacteriana. Assim, *na infecção tuberculosa se dá pois, o heredo contagio e a herança morbida que d'elle deriva.*

O PROBLEMA DA THERAPEUTICA

Da observação da acção pathogenica dos elementos filtraveis do virus tuberculoso resulta que sua principal manifestação morbigena é attinente á profunda alteração metabólica do organismo infectado. Ainda que esta alteração se não mostre repentinamente e antes venha lenta e gradualmente se exercendo sobre as funcções vegetativas, cava ella profundas raizes no mechanismo automatico que regula a vida somatica.

O simples raciocinio mostra que se a ausencia de lesões antomicas, nitidamente caracterisadas, obscurece a interpretação dos phenomenos morbidos, as alterações funcçionaes do systema vegetativo que afinal culminam no desregramento do seu mechanismo, na formação de lesões objectivadas nos primordios de lesões de inflammação, deixam entrever relações entre causa e effeito no poder toxico do virus e nos symptomas observados.

O quadro de intoxicação chronica que paulatinamente se estabelece dá pois margem á que a infecção tuberculosa se enfeixe em suas manifestações clinicas entre as doenças de nutrição e como tal, estreitamente ligada á alteração dos hormonios nutritivos, dos quaes os conhecidos, têm o nome de vitaminas.

Abre-se assim um novo veio no estudo do problema therapeutico da infecção tuberculosa. Todo organismo intoxicado para que recobre a saude deve ser sujeito ás duas principaes condições:

- a) inutilisação do factor toxico.
- b) normalisação das funcções perturbadas pela acção do toxico.

Ora
ser reali
nismo á
tanto m
bilisação
cocemer

A
nisação
de pré-t
das ma
quanto
fico. Es
pré-bact
após o
ducam

Nes
nese da
therapet

Ora no problema da tuberculose a primeira condição pode ser realisada pela exaltação dos processos de defeza do organismo á custa de immunisação activa que será produzida com tanto maior probabilidade de exito quanto menor for a sensibilisação do organismo e por consequencia quanto mais precocemente fôr ella estabelecida.

A tuberculinotherapia ou melhor a tuberculino-immunisação na pratica corrente da applicação nos casos clinicos de pré-tuberculose concorrerá seguramente para o afastamento das manifestações irremediaveis da doença tuberculosa, emquanto não fôr encontrado o agente chimiotherapico especifico. Este deverá ser granulotropo e só será activo na phase pré-bacterina do virus. A segunda condição só poderá ser dada após o exacto conhecimento dos hormonios nutritivos que caducam pela acção das toxinas bacillares.

Nesta orientação deve ser seguido o estudo da pathogenese da infecção tuberculosa, para melhor solução do problema therapeutico.