

INSTITUTO DE HIGIENE DE SÃO PAULO
CAIXA POSTAL, 1985 - SÃO PAULO - BRASIL

BOLETIM N.º 34

DIRECTOR: G. H. DE PAULA SOUZA

Os Fungos na Tuberculose Pulmonar

Trabalho do Instituto de
Higiene de São Paulo

Delos Drs.

J. M. Gomes

e

Clovis Corrêa

Separata da "Revista de Biologia e Higiene" de S. Paulo - n.º 3



S. PAULO

Escolas Profissionais do Lyceu Coração de Jesus
Alam. Barão de Piracicaba 36-A

1928

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

Departamento de Cultura e Ação Social

Biblioteca Central

OS FUNGOS NA TUBERCULOSE PULMONAR

Drs J. M. GOMES e CLOVIS CORRÊA

(Trabalho do Instituto de Hygiene de São Paulo)

Introdução

Raramente na vida um phenomeno qualquer é producto apenas de dois factores. Ha sempre uma causa preparatoria ou um elemento adjuvante, que fica na sombra, enquanto se exhibe a todos os olhos, exclusivamente, o agente causal, unico responsavel citado pelos factos desencadeados.

Em artigo apparecido em 1925 no "Jl. Trop. Med. and Hyg." Castellani estuda curiosas associações de germens e certas modificações que se notam em suas propriedades bioquimicas. Separados, fermentam determinados assucares; juntos, fermentam os mesmos com producção de gaz. Outras vezes, ha maiores alterações vitais, de modo que não será de extranhar venha o organismo parasitado a soffrer de modo mais accentuado e mais grave a symbiose de dois germens.

O meteorismo na febre typhoide, por exemplo, acha elle não ser devido ao bacillo typhosus.

Voltemos, porém, á tuberculose.

Conhecido seu agente etiologico, quasi ninguem se preocupa com os outros micro-organismos que se installam no terreno preparado pelo bacillo de Koch.

Entretanto elles existem e sua copia é tanta que seria um nunca acabar estudal-os e experimental-os.

Não terão, por ventura, qualquer funcção, no quadro clinico, tão variavel, da tuberculose?

E' possivel. Mas nossas indagações não se extendem á bacteriologia propriamente dicta, ficam pela mycologia, á qual, *par droit de naissance*, pertence a tuberculose.

A importancia dos fungos na tuberculose pulmonar mais se patenteia, quando nos reportamos á experiencia de Vaudremer, realizada em 1910 e inserta nos "Annaes do Instituto Pasteur". Elle mostrou que o bacillo de Koch dá culturas extremamente abundantes, semeado num véo de *Aspergillus fumigatus*, cultivado em liquido de Raulin.

Inversamente: o *Aspergillus fumigatus* desenvolve-se muito bem, quando se o semeia no liquido de Raulin addicionado de tuberculina.

Outro facto tambem verificado e que se fosse um phenomeno geral teria o maior alcance pratico, é que o *Aspergillus fumigatus* produz uma diastase capaz de destruir a tuberculina e attenuar a virulencia do bacillo de Koch.

Vaudremer utilizou filtrado de cultura de *Aspergillus* como meio therapeutico na tuberculose experimental, com algum resultado, e na tuberculose humana. Diz: "Ce traitement est naturellement infidèle, mais il est très souvent interessant". (Le bacille tuberculeux, pagina 192).

Mas todos os fungos, que em grande abundancia se encontram nas lesões tuberculosas abertas, produzirão diastases identicas, com as mesmas propriedades *in vitro* e *in vivo*?

Nada conhecemos ainda sobre o assumpto.

O aparelho respiratorio pode ser attingido pelos fungos, seja primitivamente, seja secundariamente.

As infecções primitivas não nos preocupam agora. São factos conhecidos e cada vez mais repizados. Hoje ninguem ignora, nem tem o direito de ignorar, o papel saliente que os fungos exercem no aparelho respiratorio.

Sua pesquisa systematica faz parte do trabalho rotineiro dos laboratorios, porque é por elles e não pela clinica que se póde esclarecer um diagnostico, de que muita vez depende a vida do paciente.

Claro está que não é a presença de um ou outro cogumelo no esfregaço de um escarro que vem decidir um diagnostico. Quando sua importancia não se impõe pelo numero, ha sempre necessidade de exgottar todos os processos para a pesquisa do bacillo de Koch.

Este trabalho, porém, não diz respeito ás infecções primarias. Refere-se ás infecções secundarias, que se enxertam no estado tuberculoso, sombreando-o, aggravando-o, impedindo quiçá, o organismo de reagir por si, afim de pôr termo ás constantes incursões do bacillo de Koch.

Quanto aos microbios habituaes das vias respiratorias, já ha bastantes estudos, mas os fungos, aliás hospedes costumeiros, pouco têm merecido dos pathologistas, que entretanto não ignoram serem elles, só por si, responsaveis por infecções graves e muitas vezes mortaes.

São estes micro-organismos que constituem o assumpto de nossas pesquisas.

Exame do Escarro

Foram colhidos 26 escarras de tuberculosos, todos positivos para o bacillo de Koch, com excepção de A 36, a respeito do qual teremos algumas considerações a tazer.

Destes 26 escarras, 15 revelaram a existencia de fungos no simples esfregaço em lamina, corado pelo Ziehl-Neelsen ou Giemsa; os 11 restantes foram negativos.

Em sua quasi totalidade estes casos pertencem á enfermaria de tuberculosos da Santa Casa.

O escarro de alguns doentes mostrou-se pobre em fungos; outros muito ricos. Entre estes é preciso salientar o A 36. É es-

carro de um medico curado de tuberculose, outróra Koch positivo, e que ficou soffrendo de bronchite chronica, com exacerbação hiemal. Os fungos eram muito abundantes e as melhoras que o paciente obtinha com o iodo (pillulas Cognet) vem revelar as relações de causa e effeito.

Culturas

A não ser nos casos de grande infecção, nem sempre o exame das laminas revela a presença de fungos, de modo que se faz mistér a cultura dos germens.

Como os microbios têm desenvolvimento mais rapido, e em pouco tempo tomam conta do campo, empregamos o methodo de Pijper, que se vale da facultade que têm os fungos de viver em meios acidos, onde não é possível a sobrevivencia de bacillos e coccus. Apenas os esporulados não soffrem a acção deste processo e perturbam o isolamento dos fungos.

Lançamos o escarro em caldo acido (2.0) e deixamo-lo na estufa a 37.º durante 2 horas, ás vezes mais, retirando depois o material para os meios de Sabouraud ou Czapeck.

No fim de um, dois ou tres dias já se observam as colonias de fungos.

Assim, tivemos a possibilidade de reconhecer que os casos A20 e A22 eram tambem positivos, reduzindo-se os negativos apenas a 9.

Estes cogumelos foram depois conservados no laboratorio e experimentados (alguns) em seu poder pathogenico em coelhos e cobayas.

Com 2 e meio mezes de cultura em meio de Sabouraud, apresentavam as culturas varios aspectos: a maior parte eram uma pasta molle, lisa, branca ou cremosa; A10 deu colonias muito magras e transparentes; A33 amarelladas e vermiformes; A22 e A36 pequenas e transparentes; A2 transparentes e granulosas.

Exame microscopico

Todos os fungos foram cultivados em Gorodikowa para a formação de ascas.

Examinados no azul com lactophenol, após dois mezes e meio em Sabouraud glycosado:

A1 — Formas redondas, allongadas, algumas brotantes. Pequenos mycelios.

A2 — Formas redondas, grandes filamentos septados. Ascas.

A3 — Formas redondas, ovaes, allongadas, pequenos mycelios.

A6 — Formas redondas, ovulares, algumas levemente allongadas.

A10 Formas redondas e ovaes.

- A11 -- Idem.
- A14 - Idem.
- A16 - Redondas, ovaes, abrolhantes. Uma ou outra levemente allongada.
- A20 --- Formas redondas e ovaes.
- A21 --- Idem.
- A22 - Redondas, ovaes, limoniformes e filamentos.
- A23 Redondas, brotantes. Filamentos.
- A29 --- Redondas, brotantes. Filamentos
- A31 - Idem.
- A33 Redondas, ovaes, allongadas, mycelio, Ascas.
- A34 - Redondas, brotantes.
- A35 Ascomyceto. Ascas com 2 ou mais ascosporos.
- A36 - Schizosaccharomyceto.

Como se vê desta rapida ennumerção, ha ahi tres Ascomycetos, um Schizosaccharomyceto e os outros parecem encartar-se no genero Monilia.

Como a questão da systematica não nos preocupa de momento, deixamol-a de parte.

Cultura em meios assucarados

As culturas, todas da mesma idade, mantidas em meio de Czapeck, foram transplantadas para meios com os hydratos de carbono constantes do nosso quadro, e a leitura foi feita tres dias depois.

Por elle se vê que não houve dois organismos com as mesmas propriedades fermentativas, mesmo aquelles que apresentavam identica morphologia e identico aspecto cultural!

Poder-se-á consideral-os outras tantas especies ou outros tantos typos, consoante a classificção de Castellani?

E' duvidoso. Os fungos, a não ser excepcionalmente, não têm ainda fixidez biochimica. Parece até que seu polymorphismo anda de par com suas funcções fermentativas.

Comparando, entretanto, com o quadro de Castellani, achamos os seguintes fungos que se superpoem nos caracteres biochimicos) aos por elle estudados: A1 - semelhante á Monilia perriyi e á rosea; A11 á M. pinoyi.

Feita a leitura alguns dias mais tarde, já se nota grande alteraçção nos resultados, o que aliás é sabido, e mais a cultura é antiga, mais instavel se mostra na fermentaçção.

Um dos nossos fungos - A1 -- foi inoculado em pulmão de coelho, causando a morte do animal.

A retrocultura se superpoz á cultura original em suas propriedades fermentativas até o 3.º dia. Dahi em deante começaram a dissentir entre si, alterando-se mais a cultura antiga.

Por estas razões, parece-nos que a fermentaçção dos assucares (nas Monilias) não offerece um caracter bastante firme para servir de base á classificção.

QUADRO N.º I

Leitura ao 3.º dia de Cultura

| | Glycose | Maltose | Mann. | Sacch. | Levul. | Sorbit. | Inulin. | Raff. | Adon. | Galacto | Dulcit | Arabin. | Lact. | Dextrin. |
|------|---------|---------|-------|--------|--------|---------|---------|-------|-------|---------|--------|---------|-------|----------|
| A 1 | ● | ● | ✕ | ○ | ● | ✕ | ✕ | ✕ | ✕ | ● | ✕ | ✕ | ✕ | ✕ |
| A 3 | ● | ✕ | ✕ | ○ | ○ | ✕ | ● | ✕ | ✕ | ● | ✕ | ○ | ○ | ✕ |
| A 10 | ● | ✕ | ✕ | ✕ | ● | ✕ | ✕ | ✕ | ✕ | ✕ | ✕ | ✕ | ○ | ✕ |
| A 11 | ●G | ● | ○ | ●G | ●G | ✕ | ○ | ✕ | ✕ | ●G | ✕ | ✕ | ● | ✕ |
| A 14 | ●G | ○ | ✕ | ✕ | ● | ✕ | ●G | ✕ | ✕ | ● | ✕ | ○ | ● | ✕ |
| A 16 | ● | ○ | ○ | ● | ● | ✕ | ✕ | ✕ | ✕ | ● | ✕ | ✕ | ✕ | ✕ |
| A 20 | ●G | ● | ✕ | ○ | ●G | ✕ | ✕ | ✕ | ✕ | ● | ✕ | ✕ | ✕ | ✕ |
| A 21 | ● | ● | ✕ | ○ | ● | ✕ | ✕ | ✕ | ✕ | ● | ✕ | ● | ✕ | ✕ |
| A 22 | ● | ✕ | ✕ | ✕ | ● | ✕ | ✕ | ✕ | ✕ | ✕ | ✕ | ✕ | ● | ✕ |
| A 23 | ● | ● | ✕ | ● | ● | ✕ | ✕ | ✕ | ✕ | ● | ✕ | ○ | ● | ✕ |
| A 29 | ● | ● | ✕ | ○ | ● | ✕ | ✕ | ✕ | ✕ | ● | ✕ | ○ | ✕ | ✕ |
| A 31 | ●G | ● | ✕ | ○ | ●G | ✕ | ✕ | ✕ | ✕ | ● | ✕ | ✕ | ● | ✕ |
| A 36 | ● | ✕ | ✕ | ✕ | ● | ✕ | ✕ | ✕ | ✕ | ✕ | ✕ | ✕ | ✕ | ✕ |

NOTA:

- ✕ — Não fermenta
- — Fermenta levemente
- — Fermenta bem
- G — Fermenta com produção de gaz

QUADRO N.º II

Semeado em 29-XI-1926 — Lido em 30-XI-1926

| Cultura | Glycose | Levulos. | Sorbit. | Dextrin. | Sacchar. | Lactose | Adonita | Dulcit. | Inulin. | Raffinos. | Maltose | Galact. | Arabin. | Mannita |
|------------------------------|---------|----------|---------|----------|----------|---------|---------|---------|---------|-----------|---------|---------|---------|---------|
| A I Cul. original | ● | ● | ✱ | ✱ | ✱ | ✱ | ✱ | ✱ | ● | ✱ | ✱ | ✱ | ✱ | ✱ |
| A I Passagem em coelho | ● | ● | ✱ | ✱ | ✱ | ✱ | ✱ | ✱ | ● | ✱ | ✱ | ✱ | ✱ | ✱ |

Lido em 6-XII-1926

| | | | | | | | | | | | | | | |
|------------------------------|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| A I Original | ● | ● | ✱ | ✱ | ● | ✱ | ✱ | ✱ | ● | ✱ | ● | ● | ✱ | ✱ |
| A I Passagem em coelho | ● | ● | ✱ | ✱ | ✱ | ✱ | ✱ | ✱ | ● | ✱ | ✱ | ● | ✱ | ✱ |

Inoculações

Não é possível abordar a pathogenia das mycoses sem conhecer previamente o magnifico trabalho de P. Radaeli — Experimental moniliasis (J. Trop. Med. And Hyg.)

Radaeli fez inoculações venosas em cobayas, coelhos, cães com: *Monilia pinoyi*, *M. metalondinensis*, *M. tropicalis*, *M. krusei*, *M. macedoniensis*.

Nem todas eram igualmente pathogenicas, uma dellas até (*M. macedoniensis*) mostrou-se avirulenta para os animaes de laboratorio.

Introduzidas nas serosas, produziã falsas membranas ou nodulos; introduzidas nas veias, havia localizaçã em quasi todos os organs, sendo os rins os mais alterados, talvez por causa de sua reacção acida.

O parasita age como um embolo ou um thrombo. No ponto em que fica engasgado desenvolve-se, atravessa as paredes dos vasos e penetra nos tecidos circumvizinhos.

As reacções que se produzem são de duas ordens: *locaes e á distancia*.

Nas primeiras vêm-se os filamentos do fungo rodeados de polynucleares; nos casos avançados mononucleares, cellulas epithelioides e fibroblastos. Nos nodulos mais antigos o centro fica em geral muito alterado e não é mais possivel vêr o parasita entre os destroços cellulares.

Em muitos tecidos (pulmões, figado, baço) observam-se no centro do nodulo cellulas gigantes.

Na *reacção á distancia* os elementos reagentes são de origem histogenetica e mais evidentes no coração e figado.

A *Monilia krusei*, introduzida por via venosa, localizou-se exclusivamente no pulmão.

Só uma cobaya morreu, no fim de 28 dias. Apresentava: nodulos do tamanho de uma lentilha no hilo e nos lobos superiores dos pulmões. Ao redor dos nodulos, vastas zonas de pneumonia.

Em nosso trabalho teremos occasião de mostrar a electividade de certos fungos pelo tecido pulmonar.

A *M. macedoniensis* não é pathogenica para os animaes de laboratorio ou talvez tivesse perdido a virulencia nos transplantes successivos.

Castellani, Douglas e Radaeli reconhecem nas Monilias virulentas, no que respeita á pathogenia, dois typos: um, que não produz affecção nodular, pseudo-tuberculosa do pulmão, mas septicemia, de que vem a morrer o animal; outro (quando inoculado no pulmão ou na veia,) que determina a formação de nodulos.

Tratando das infecções pelo oidium brasiliensis, diz Octavio Magalhães: “o cogumelo produz lesões “generalizadas” e de “foco”. Nas primeiras dominam as hemorragias (verdadeiros lenções de hematias), inflammação e necrose (myocardites, pneu-

monias, nephrites, etc.). As segundas são nodulares. O nódulo não tem os caracteres das 3 zonas de Gougerot.

Os nossos nódulos não tinham cellulas gigantes (typo II de O. Magalhães), havia cellulas epithelioides (typo III de O. Magalhães, + typo IV) — isto no All — (Brasil Medico, 17-12-1927, Contribuição ao conhecimento das lesões provocadas pelo *Oidium brasiliensis*):

Entre os nossos fungos, A6 produziu intensa hemorragia no coelho 72, que morreu ao sangrar-se para a verificação da calcemia.

Nossas experiencias

Escolhemos 5 de nossas culturas para a pesquisa de productos toxicos e sua experimentação em animaes de laboratorio.

Technica: Trituramos num gral esteril a cultura de um tubo de gelose de Sabouraud inclinado; emulsionamol-o em 10cc. de agua distillada e accrescentamos um quinto de ether. Agitamos durante tres dias. Deixamos evaporar-se o ether e semeamos para verificar se todos os organismos estavam mortos. Só então procedemos á inoculação em animaes.

All

Preparada, como foi dicto, inoculamos a endo-toxina, na dose de 0,2cc. em duas cobayas, uma no pulmão direito, outro no peritonio.

No dia seguinte amanheceu morta a cobaya inoculada por via pulmonar.

Necropsia: congestão muito intensa em ambos os pulmões, mais accentuada no direito (quasi côr de chocolate), bexiga vasia.

Retiramos pedaços de ambos os pulmões, a supra-renal esquerda e conservamol-os em formol a 10%

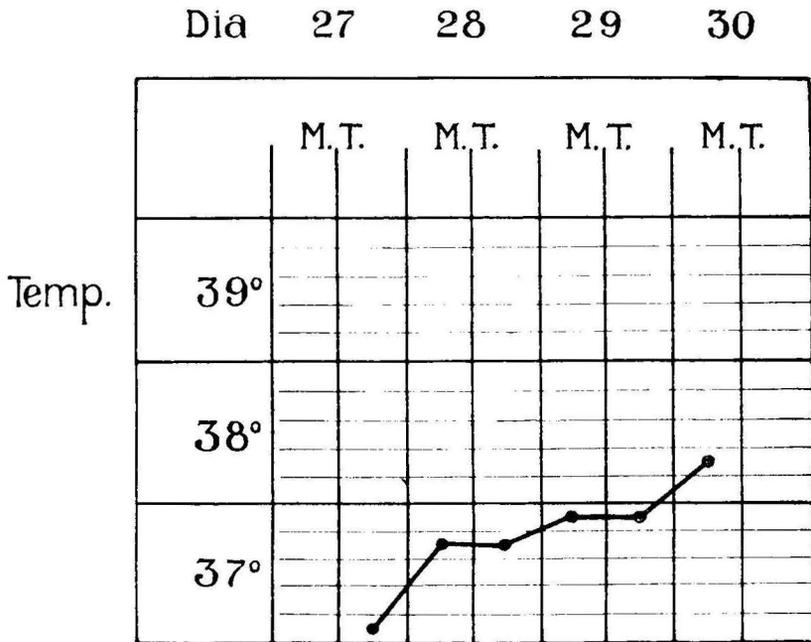
No 3.^o dia de inoculação morre a outra cobaya.

Necropsia: congestão em menor grao nos pulmões, bexiga vasia, supra-renaes e peritonio aparentemente normaes.

Inoculação da cultura viva

No dia 12 de Abril de 1926 injectamos 0,5 c.c. de cultura (um tubo emulsionado em 10 c. c. de agua distillada) em cobaya, seguindo a via pulmonar.

A temperatura, tomada durante os ultimos 4 dias, foi a seguinte:



Na tarde do dia 30 foi sacrificada (18 dias depois da inoculação): no pulmão — nada; epiploon pequenos pontos brancos disseminados; rins, supra-renaes — nada; pericardio — espessado e com adherencias.

A16

No dia 12-3-926 inoculamos a 2 cobayas, uma no pulmão direito, outra no peritonio com endo-toxina de A16. (0,2 c.c.).

No dia seguinte a cobaya inoculada por via pulmonar amanheceu morta.

Necropsia: pulmões congestionados o esquerdo menos que o direito. Bexiga vasia. Retiramos pedaços de ambos os pulmões e a supra-renal direita, que não nos pareceu congestionada.

Fixação em formol a 10%.

No dia 16 a outra cobaya amanheceu triste. Sacrificada, revelou: pulmões, esquerdo, muito congestionado, quasi negro no apice e na base; o direito mais congestionado no apice. Em muitos pontos tinha côr violeta. Supra-renaes um pouco congestionadas. Bexiga cheia.

Retirados: pulmão, rim, capsulas supra-renaes.

A14

No dia 27-3-926 injectamos em duas cobayas, uma por via pulmonar, outra peritoneal, 0,2 c. c. de endo toxina. 1-4-926, as cobayas aparentavam saude.

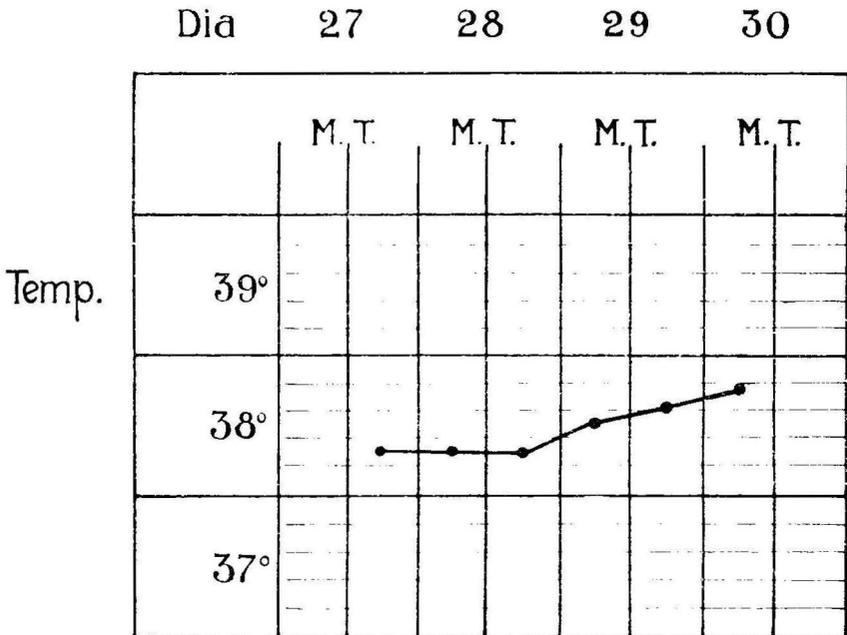
Quatro dias depois sacrificamol-as.

Necropsia: cobaya inoculada por via pulmonar - pequena congestão pulmonar, grande fibrose (pericardio unido ao pulmão esquerdo de modo inseparavel).

Por via peritoneal: ao inocularmos, apanhamos uma parte do figado e formou-se um tecido fibrosante, Pús intra-hepatico. Pequena congestão pulmonar.

Inoculação de cultura viva

No dia 12-4-926 inoculamos o pulmão de um coelho com 0,5 c.c. de cultura viva (emulsão de um tubo em 10 c.c. de agua distillada).



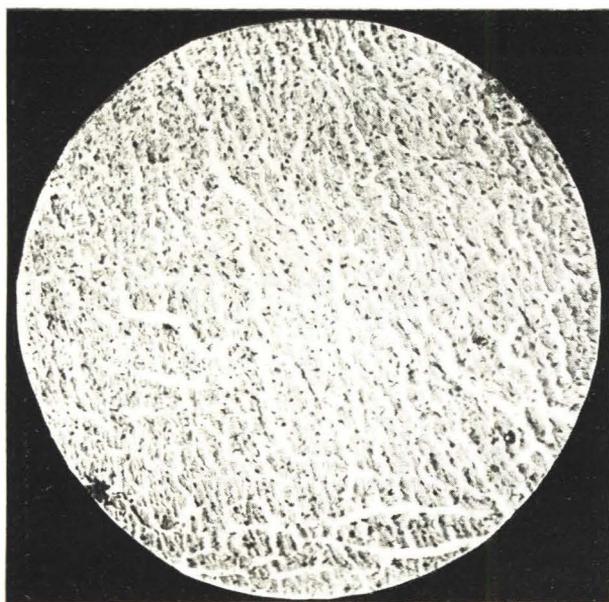
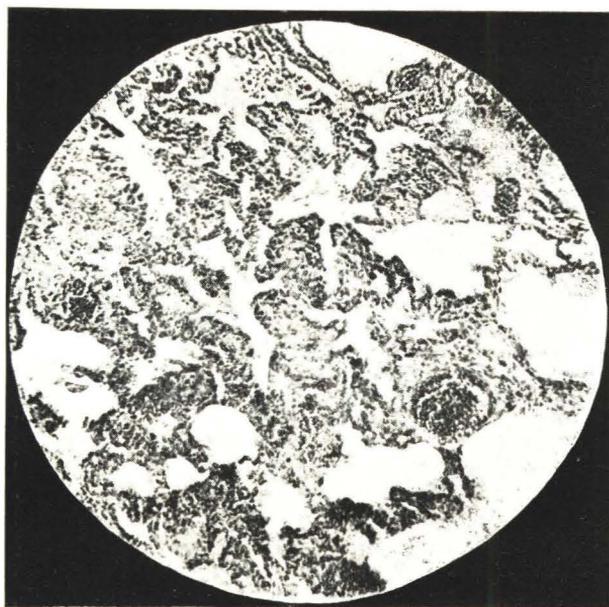
Tal foi a temperatura do coelho nos ultimos 4 dias. Na tarde do dia 30 foi elle sacrificado, 18 dias após a inoculação.

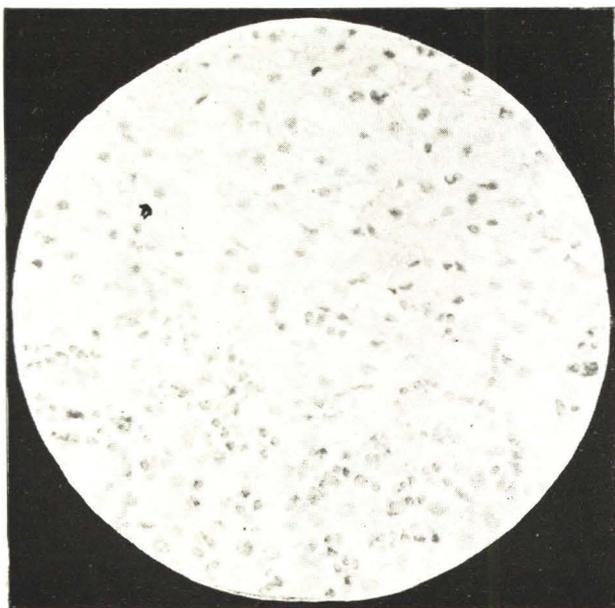
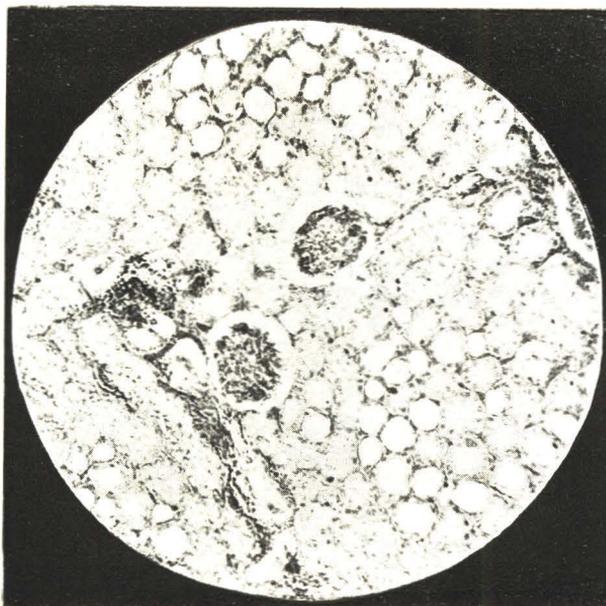
Necropsia: nodulo redondo, de mais ou menos 1 cm., de diametro entre pulmão e costella. No epiploon e mesenterio pontos brancos, disseminados; pericardio espessado e com grandes adherencias. Retiramos pedaços de organs.

A 21.

Injectamos 0,5 c.c. de cultura pura num coelho, via pulmonar.

Deseseis dias depois sacrificamol-o.





Necropsia: — adherencias do pulmão direito — grandes adherencias do coração, pontos amarellados de 3 — 6 mm. no pulmão direito. Retirada do material. Esfregaço em laminas — organismos filamentosos. Retro-cultura positiva.

A 23.

No dia 25-3-926 injectamos 0,2 c.c. de endo-toxina em 2 cobayas, uma por via pulmonar, outra peritoneal.

No dia 27-3-926 morre a cobaya inoculada por via pulmonar, após 30 horas. A necropsia revelou grande congestão do pulmão direito. Minima parte do pulmão esquerdo livre. Congestão de ambas as supra-renaes e dos rins. Bexiga cheia.

No dia 29-3-926, sacrificio da cobaya inoculada por via peritoneal. Notamos: congestão em ambos os pulmões — no direito, na região do apice, no esquerdo em varios pontos; supra-renaes, macroscopicamente nada apresentavam.

A 22.

Endo-toxina preparada em 3-11-927. Inoculação (0,5 c.c.) em duas cobayas, uma por via pulmonar (pulmão direito), outro peritoneal, a 12-11-927.

A primeira revelou: congestão de ambos os pulmões, ambas as supra-renaes e rins.

Cobaya injectada por via peritoneal, sacrificada tres dias depois, revelou: congestão de ambos os pulmões, mais no direito do que no esquerdo, e congestão das supra-renaes e rins.

Injectamos tambem endo-toxina dos fungos por nós encontrados, que não *Monilias*. Assim, as endo-toxinas de A2, A35, A36 revelaram possuir as mesmas propriedades das *Monilias*.

Tivemos occasião de repetir nossas experiencias com *Monilias* guardadas no laboratorio após anno e meio, e notamos que a endo-toxina de A11, A16 e A14 que, então, matavam uma cobaya de 400 grs., decorrido esse tempo, e cultivada sempre em meio de gelose de Sabouraud, já não tinham a mesma toxicidade.

Com o tempo a endo-toxina perde o poder.

Exo-toxina

Cultura em caldo de Sabouraud, filtração em papel e semeadura para verificar a esterilidade.

Injectado 1 c. c. por via peritoneal e pulmonar em 2 cobayas. Após 5 dias, nada havendo a notar, foram sacrificadas.

Macroscopicamente — nada.

Foram retirados orgams.

Repertum anatomo-pathologico

Cedemos aqui a palavra ao illustre pathologista patricio dr. João Montenegro que a pedido nosso procedeu á leitura de algumas de nossas laminas :

ra o interior dos alveolos. Em uma das margens a pleura está um pouco espessada devido a um processo inflammatorio chronico, constituido por fibroblastos, alguns lymphocytos e edema inflammatorio. Fócos inflammatorios iguaes aos da pleura vêem-se tambem no pulmão, porém affectando tecido intersticial dos alveolos.

Resultado : alveolite chronica. Pleuriz chronico. Congestão activa.

Nota — O processo chronico deverá correr por conta de algum estado pre-existente.

AII. PULMÃO DIREITO. H. E. *Via pulmonar.*

Neste pulmão ha intensa congestão. As paredes alveolares estão dissociadas por edema e alguns monocytos infiltrantes. As cellulas de revestimento interno dos alveolos estão soltas e desordenadas. Visto em conjuncto, difficilmente se diria tratar-se de pulmão, parece mais um organo solido ; apenas uma ou duas cartilagens nas vizinhanças de uma cavidade nos fazem suspeitar que se trate de facto de um pulmão.

Resultado : congestão e edema do pulmão.

A questão do calcio

Dosagem do calcio (Ca) no sangue de animaes inoculados com germens vivos.

Actualmente desperta grande interesse o estudo do calcio sanguineo na tuberculose. Resolvemos por isso estudar o calcio no sangue de coelhos inoculados por via pulmonar com cultura viva.

Eis o resumo do que fizemos :

| Coelho | Cultura | Peso | 1. ^a dosagem (13.11.27) | 2. ^a dos. (19.11.27) | 3. ^a dos. (8-12-27) |
|--------|---------|-----------|---------------------------------------|------------------------------------|-----------------------------------|
| 43 | A 10 | 1845 grs. | 13,75 milligr. | 14,27 | 13,78 |
| 56 | A 36 | 2198 | 13,68 | 14,98 | 14,90 |
| 57 | A 22 | 2200 | 13,10 » | 15,07 | 13,68 |
| 65 | A 33 | 1965 | 13,65 | 13,56 | 14,24 |
| 72 | A 6 | 1960 | 14,25 | 14,69 | morreu (accid.) |
| 77 | A 1 | 1705 | 13,48 | 13,75 | 14,72 |
| 83 | A 35 | 1715 | 13,86 | 13,56 | 14,98 |
| 84 | A 2 | 1650 | 13,19 | 15,26 | 13,58 |

Em milligr.

por c. c. de soro

Verificamos que não ha diminuição do calcio sanguineo, oscillando as nossas dosagens onde ha o coefficiente pessoal de erro, que é minimo, para mais, em varios casos ; para menos,

em raros. As dosagens foram feitas pelo dr. Alexandre Wancolle, competente chimico do Instituto de Hygiene.

Tivemos o cuidado de retirar o sangue ás mesmas horas (10 horas da manhã) e mantermos a mesma alimentação dos animaes, durante as dosagens. Os coelhos foram sacrificados, mostrando alguns zonas de necrose e congestão, como o n.º 72 que revelou zona de congestão intensa no lobo medio do pulmão onde se verificou cogumello em abrolhamento.

O coelho 83 morreu após a ultima puncção para retirada de sangue.

Autopsia: — Apice P. D. pequeno nodulo. P. E. — Apice côr chocolate; no esquerdo, na parte media, havia varios pontos brancos pequenos, e gelatinosos e congestão.

A fresco, foi visto forma abrolhante (cultura A 35).

Os outros coelhos tiveram quasi a mesma cousa, não nos interessando esta parte de inoculação que Radaeli e O. Magalhães fizeram de modo brilhante.

Desvio do complemento

Ha nas affecções mycoticas as mesmas reacções humo-
raes que existem nas affecções bacterianas.

O sôro dos esporotrichoticos, actinomycoticos etc. tem poder fixador e cofixador.

Quizemos comtudo ir mais longe e tentamos distinguir as Monilias dos Ascomycetos.

Tomamos para isso a cultura A 1 (Monilia) e a cultura A 33 (Ascomyceto).

Preparamos 2 coelhos; que denominamos coelho A 1 e A 33 e seguimos em tudo a technica seguida por J. M. Gomes e Lucas Assumpção no trabalho sobre Coccidioides immitis, não só no preparo do antigeno como no processo da reacção de desvio do complemento.

Obtivemos o seguinte resultado:

Antigeno A 1 - 2 - c. c. (diluido a 1 10):

| | | |
|--|-------------|----------|
| Sôro Coelho A 1 — (inoculado com cultura A1) | - Resultado | ++ + + |
| Sôro coelho A 33 -- (" " " A33) | - " " | Negativo |
| Sôro coelho normal. . . . (nada) | - " " | Negativo |

Antigeno A 33:

| | | |
|-----------------------------|-----------|----------|
| Sôro coelho A 1 | Resultado | ++ + + |
| Sôro coelho A 33 | - " " | Negativo |
| Sôro coelho normal. | - " " | " |

Verificamos desde logo não se poder distinguir um Ascomyceto de uma Monilia; julgamos que o coelho preparado com A 33 não tenha reagido, o que explica a reacção com o proprio sôro.

Verifica-se desde logo que o antígeno quer seja de *Monilia* ou de *Ascomyceto* desvia o sôro de coelho preparado com *Monilia*.

Nenhum dos antígenos desviou com o sôro de coelho normal.

Ação Impedidora do Iodeto Potassio sobre a Toxina (Endo)

Em dois coelhos de pesos quasi iguaes injectamos via peritoneal n'um, 3 c.c. de endo-toxina de A 6 e noutro 3 c. c. de endo-toxina A5 e mais iodeto de potassio (via venosa) dose menor que a não mortal. Verificamos após 3 dias: — coelho inoculado só com endo-toxina, tristeza, comendo menos; não tomamos temperatura. — Autopsia: — grande congestão em ambos os pulmões, fígado, rins e suprarenaes.

No outro coelho pequena congestão nas bases dos pulmões. Não havia congestão dos outros órgãos.

Phenomenos Clinicos. — Em 1924 um de nós, (J. M. Gomes) fazendo comunicação de um caso de mycose broncho-pulmonar, teve occasião de dizer que pesquisando systematicamente o escarro de todo o individuo que tosse, muita surpresa haveria.

A tosse é, com effeito, um dos phenomenos mais frequentes nas mycoses do apparelho respiratorio.

Já o mesmo se não dá na tuberculose pulmonar, pelo menos no começo.

Com o apparecimento, porém, de congestões ao redor dos focos tuberculosos, o desenvolvimento de lesões pleuraes ou a producção abundante de secreções a serem eliminadas, a tosse entra em scena imperiosa, estenuante e inutil, nos dois primeiros casos, cansativa, mas necessaria, no ultimo.

Mary Lapham, no artigo tão intelligentemente lançado em "The American Review of Tuberculosis". de Set. de 1925, salienta que os factos predominantes nos doentes acolhidos ao Sanatorio de Carolina do Norte, com exames physicos e radiographicos caracteristicos da tuberculose, mas que no entanto não eram tuberculosos, consistiam em: *asthenia profunda* e *copiosa expectoração*.

A tosse, quasi sempre periodica e *condicionada ás estações do anno*; aggravando-se com o calor e humidade, melhorando com o frio.

Expectoração abundante.

O exame microscopico do escarro desses doentes, sempre negativo para o bacillo de Koch, era positivo para micro-organismos da grande ordem dos Fungos, cujo estudo a autora não emprehende por falta de treino, accrescentando penalizada que — os mycologistas profissionaes não são, em geral, interessados

na pathologia humana, e os pathologistas, em regra, não são interessados na sciencia da mycologia.

Um de nós teve opportunidade, ha poucos annos de escrever em suas grandes linhas os caracteres de expectoração mycotica: - espessa, côr amarello-esverdeada, semeada ás vezes de pequenas granulações, cheiro desagradavel, sentindo o doente, após a eliminação um gosto adocicado na bocca.

Voltando, porém, ao phenomeno -- tosse -- e tendo reconhecido a existencia de fungos no escarro do tuberculoso, e mais ainda, vendo em nossas provas experimentaes as vastas congestões pulmonares e pleurizias que só a inoculação de pequena quantidade de endo-toxina de cogumelos produz, não se pode deixar de considerar depressora ao organismo a influencia destes parasitas.

Á toxemia, já assinalada por Mary Lapham, vem juntar-se a intensa acção congestiva, quasi electiva para o pulmão, qualquer que seja a via de introdução germinal.

Eis um elemento dos mais nocivos ao evoluir favoravel da tuberculose.

Aconselham os tisiologos nada intentar internamente contra a tosse congestiva, porque toda a medicação é inutil, e contra a tosse de expectoração é necessaria a maior prudencia.

Esse excesso de prudencia não trará, por accaso, inacção, de modo a ser nociva ao doente?

Quando as posses do enfermo permitem o retiro para um logar mais secco e frio, a tosse espontaneamente vae cedendo. Não ha ali um facto semelhante ao observado no Sanatorio de Highlands, na Carolina do Norte? Não parece indicar que a mudança veio trazer um ambiente não infeccionado e condições pouco favoraveis a micro-organismos que vivem de preferencia no ar quente e humido, como os fungos e bolores?

As melhorias que se observam nos doentes, quando se transportam para uma estancia favoravel, não representarão, por ventura, a cessação de circumstancias que corroboravam o desenvolvimento de fungos cooperantes, e cuja acalmia veio dar ao organismo forças capazes de lutar contra o germen de Koch, de virulencia nem sempre notavel?

Nossas experiencias realizaram-se com triturados de fungos. Provada ficou a acção profundamente toxica do succo de cogumelos. Porque razão não devem elles exercer influencia no evoluir da tuberculose, quando elles representam um processo permanente de derrame toxico?

Quem já observou uma zoogléa corada pelo azul com lacto-phenol, terá visto grande numero de cellulas intensamente coradas, e, outras, em numero igual, reduzidas á membrana. O proctoplasma e seus principios dissolveram-se. São cellulas mortas.

No organismo todos esses principios devem ser absorvidos *in loco*. Haverá uma aggravação constante dos focos tuberculosos, e parece logico affirmar que tudo o que limitar o desen-

volvimento desses germens, virá trazer uma folga ao organismo facilitando o plano de defesa.

Consequencia pratica.

Não nos foi possível fazer applicação pratica aos doentes examinados á luz dos factos que acabamos de denunciar.

Não foi possível, mas como uma suggestão, áquelles que têm a seu cuidado doentes de tuberculose pulmonar, citamos em suas grandes linhas um caso de Janvrin Marett, inserto em "The Medical Officer" de 4 de Fevereiro deste anno.

Tratava-se de um individuo com tuberculose pulmonar complicada com blastomycose (moniliose).

O escarro era positivo, tanto para o bacillo de Koch, como para os fungos.

O tratamento foi realizado exclusivamente com vaccinas de cultura pura de Monilia.

Iniciou-se a 2-6-927.

Em 9-7-927, os escarros já eram negativos para o bacillo de Koch.

A 17-8-927 desapareciam tambem os fungos, mas se encontravam algumas granulações acido-resistentes.

No seguinte exame a 24-8-927, desapareciam tambem as granulações.

A 21-9-927 as laminas continuavam negativas, mas a cultura foi positiva para fungos.

Em Novembro já não havia escarro e o paciente engordara 30 libras.

Dispensa commentarios.

Conclusões

- 1.º — Os fungos encontrados tão commumente no escarro do tuberculoso, não podem deixar de ter influencia nociva no evoluir da tuberculose.
- 2.º — Para denunciar sua presença nem sempre basta o simples esfregaço do escarro em lamina. A cultura em meios apropriados é necessaria.
- 3.º — Na maior parte dos casos por nós estudados os fungos mais encontrados parecem pertencer ao genero Monilia, mas tambem houve Ascomycetos e Schizosaccharomyceto.
- 4.º — A instabilidade e multiplicidade das reacções em meios asucarados, fermentando cada micro-organismo os hydratos de carbono differentemente um do outro, levaria o taxionomista a distribuil-os em um sem numero de especies ou typos. Achamos que os processos bio-chimicos até aqui usados não servem para caracterizal-os, a não ser a um pequeno numero que já conseguiu relativa estabilização.

- 5.º A inoculação de endo-toxina de fungos (tritutados de culturas vivas) em cobayas seguindo as vias peritoneal e pulmonar, determinou sempre a morte do animal, encontrando-se macroscopicamente fibrose do pericardio, espessamente da pleura, congestão em varios órgãos, mais accentuadas, quasi electivas, no pulmão. As endo-toxinas das culturas guardadas no laboratorio após certo tempo (1 anno) perdem muito do seu poder toxico, não determinando a morte do animal com a dose de 0,5 c. c.
- 6.º -- O filtrado de cultura viva (exo-toxina) revelou-se inocuo. Parecem não possuir exo-toxina, os nossos fungos.
- 7.º -- O exame micro-anatomico dos órgãos retirados revelou : no coração inchação turva do myocardio; no rim-congestão activa, e inchação turva; figado-congestão activa, esteatose e inchação turva; supra-renaes congestão activa, inchação turva; pulmão, congestão activa, edema.
- 8.º — Calcio. Não notamos, após injeccão de culturas vivas, pela via pulmonar, abaixamento do calcio global no sangue dos coelhos.
- 9.º -- Desvio do complemento -- Sendo usado um antígeno de Ascomyceto, este desvia tão bem o sôro de um animal preparado por Monilia como o proprio antígeno (de Monilia).
- 10.º — A tosse é um dos symptomas obrigatorios das mycoses pulmonares, e o escarro, que offerece certos aspectos caracteristicos, deve ser sempre pesquisado em lamina e cultura.
- 11.º -- A mycose, complicando a tuberculose pulmonar, necessita ser reconhecida e tratada.
- 12.º -- Pelas congestões (acção quasi electiva pulmonar) e grande asthenia (ataque das supra-renaes) que determinam, os fungos são dos maiores impecilhos á convergencia de todos os recursos naturaes do organismo para a cura expontanea da tuberculose.

SUMMARY

The fungi in pulmonary tuberculosis

The authors believe that pathologists do not pay enough attention to the fungi observed in the respiratory tract in a great number of morbid conditions and especially in cases of pulmonary tuberculosis.

The action of these fungi should not be overlooked since they are able to produce grave diseases and even death.

The opinion of several authors are cited in confirmation of this fact.

Examination of the sputum -- Twenty-six samples of sputum of tuberculous individuals were examined; fungi were observed in 15 cases, by the examination of a smear slide.

Cultures — All samples of sputum were *cultured* for the isolation of fungi. Acid broth (2,0) was used, 2 hours at 37°C. followed by inoculation in Sabouraud's agar medium.

Only 9 cases were negative.

These organisms were then studied in reference to their determinative classification.

The fungi were cultured on sugar media and no two similar organisms were observed.

The classification proposed by Castellani, based on the fermentation of carbohydrates, seems insufficient except in reference to a few fungi with fixed properties.

Reports are given of experiments undertaken with guinea-pigs, inoculated in the lungs or peritoneum with triturated cultures of fungi. The lesions produced were studied macroscopically and microscopically.

The amount of calcium present in the blood was studied on rabbits inoculated with fungi.

The complement reaction was tried in the endeavor to differentiate a *Monilia* from an *Ascomycete*.

It was observed that sodium iodide exerted an inhibiting action in reference to the ill effects of pathogenic fungi.

The clinical symptoms of the mycoses were recorded.

Conclusions

1) — The fungi which are so frequently observed in the sputum of tuberculous individuals must affect unfavorably the course of the tuberculosis.

2) — The presence of fungi is not always revealed by the examination of smear slides; a culture in an adequate medium is necessary.

3) — In the majority of cases the fungi more frequently observed belonged to the genus *Monilia*, *Ascomycetes* and *Schizosaccharomycetes* were also observed.

4) — The instability and multiplicity of the reactions observed in sugar media in which each micro-organism produced fermentation of the various hydrocarbons in a different way, would lead the taxonomist to divide the fungi into a very great number of species or types. The bio-chemical processes used up to date, would not seem adequate to differentiate these fungi, with the exception of a small number of them which has reached a relative state of stability.

5) — The inoculation of the endo-toxine of fungi, (triturated living cultures), either into the peritoneum or the lungs of guinea-pigs, caused always the death of the animal. Fibrosis of the pericardium was observed macroscopically as also a thickening of the pleura, the congestion of several organs. This was

especially marked in the lungs. The endo-toxines of cultures kept in the laboratory for a long time (1 year) had lost much of their toxic power and they did not cause death, even in a dose of 0,5 c.c.

6)—The filtrate of living cultures (exo-toxine) was found to be innocuous. The fungi which we observed did not seem to possess any exo-toxine.

7)—The post-mortem microscopic examination revealed: a cloudy swelling of the myocardium; active congestion and cloudy swelling of the kidneys; active congestion, fatty degeneration and cloudy swelling of the liver; active congestion swelling of the supra renal capsules, active congestion and edema of the lungs.

8)—Calcium. No lowering of the total blood calcium was noted in rabbits after the pulmonary injection of living cultures.

9)—Serum reaction. When an Ascomycete antigen is used there is a reaction as well in animals inoculated with *Monilia*, as when a *Monilia* antigen is used.

10)—The previous injection of sodium iodide prevents to a certain degree the action of triturated fungi.

11)—Cough is one of the obligate symptoms of pulmonary mycosis. The sputum which shows certain characteristics should be examined on the slide and after culture.

12)—The mycoses which complicate cases of tuberculosis should be recognized and treated.

13)—The fungi by causing congestion (elective action on the lungs) and great asthenia (action on the supra-renal capsules) act as a grave obstacle to the convergence of all natural resources of the organism for the spontaneous cure of tuberculosis.

BIBLIOGRAPHIA

- S. W. S. Macfie and A. Ingram* — Bronchomoniliasis complicating tuberculosis in a native of the Gold Coast, West Africa "Ann. Trop. Med. parasitol." T. XV 1921.
- Castellani (A.)* — Higher fungi in human pathology "The Lancet" 24-4-1920.
- Castellani (A.)* — Bronchomycosis — "The Military Surgeon" -Agst. 1925.
- Nagib-Farah* — La moniliasse bronchique en Egypte. — "Presse Medicale" n.º 72-19-9-1921.
- Jacomo* — Notes on some cases of Castellani's bronchomoniliasis — "Jour. Trop. Med. and Hyg." T.XXIII pag. 250-252-1920.
- Colard (A) et Jaumin* — Sur un cas de moniliasse pulmonaire — "Brevettes Médical" n.º 51-18-10-1925.
- Dias da Costa (Mario)* — Mycose pulmonar pelo *Oidium brasiliensis* — These Rio de Janeiro 1919.
- Magalhães (Octavio de)* "Brasil Medico" — Ns. 22 e 40-1914 — N.º 4-1916. "Mem. Inst. Osw. Cruz" — 1918 — T. X — Fasc. I.
- Liphun (Mary E.)* Molds in sputum in tuberculosis — "The Americ. Rev. of Tuberculosis" 1925 — pg. 64.

- Radaeli (P)* — Experimental Moniliasis — “*Jour. of Trop. Med. and Hyg.*” 1.º Agosto 1924.
- Sartory et Bailly* — Les mycoses pulmonaires — 1923.
- Vaudremer* — Le bacille tuberculeux — 1926.
- Sartory* — Les champignons parasites de l’homme et des animaux.
- Middleton (E. L.)* — Weaver’s Cough — “*Journ. Industrial Hyg.*” Out. 1926.
- Pijper (A.)* — Bronchomoniliasis and Monilia fungi in sputum — “*Med. H. S. Africa*” — nov. 1923.
- Nagib-Farah* — Observations on Castellani’s bronchomoniliasis, with report of a case with pneumonic onset and a peculiar clinical course. — “*The Jour. of Trop. Med. and Hyg.*” — 1.º Jan. 1923.
- Mendelson (Ralph W.)* Experimental Pulmonary Mycosis in Guinea — pigs “*J. Trop. Med. and Hyg.*” — nov. 1921.
- Sartory (A.) et Moinson (L.)* — Sur un cas de Moniliasis bronchique. “*C. R. Acad. Sci.*” Janeiro 1922.
- Colares (J. V.) Pinheiro Guimarães (Ugo)* — Um caso de mycose pulmonar — “*Arch. Bras. de Med.*” Abril de 1921.
- Gomes (J. M.)* — Mycose broncho-pulmonar “*Ann. Paulistas de Med. e Cir.*” n.º 10-1924.
- Marchoux (E.)* — Mycose pulmonaire — “*Bul. Soc. Path. Exot.*” 13-12-1922.
- Léger (M.), Huchard (G. L.) et Baurry (A.)* — Un cas de Sporotrichose pulmonaire “*Bull. Soc. Path. Exot.*” — 10 de Maio 1922.
- Sur Turaknat* — Bronchomoniliasis — “*Indian Med. Gazette*” dez, 1921.
- Mendelson (Ralph W.)* — Pulmonary tuberculosis, pulmonaris mycosis, spirochetosis — “*Milit. Surgeon*” — Julho — 1921.
- Pettinari (Vittorio)* — Ricerchi sperimentali sull’ Aspergillosi (*Aspergillus fumigatus*) — “*Boll. dell. Ist. Sierot. Milanese*” Abril 1927 — vol. VI. Fasc. II.
- Wallace (A. J.) and Tanner (F. W.)* — An etiological agent in bronchomycosis — “*The Am. Rev. of Tuberculosis*” — Março de 1927.
- Castellani (A.)* — Observations on the importance of symbiosis, etc. “*Jl. Trop. Med. and Hyg.*” 2 Agosto 1926.
- Laphan (Mary E.)* — Pulmonary Aspergillosis and tuberculosis — “*Am. Med. Ass.*” — Set-1925-8-1926.
- Debré (R.), Goiffon (A.) et Guyomand (M.)* — La calcémie chez l’enfant et particulièrement le nourrisson tuberculeux. — “*Rev. de lá tuberculose*” Fev. 1926.
- Koktis (A. J.), Wachowiak (M.) and Fleischer — (M. E.)* Monilia in respiratory infectious — “*Arch. Int. Med.*” 15 Agosto 1926 — in “*Am. Rev. Of Tuberc.*” Jan. 1928.
- Martenstein (H.) and Lederman (K. G.)* — Double infection with *Trichophyton* and *Tub. bacilli* Klini. “*Wochenscr.*” — 12-Fev. 1927, in “*Am. Rev. of Tub.*” — Jan. 1928.
- Marett (Jauwrin P.)* — On the pathogenicity of blastomycetes — “*The Medical Officer*” — 4-Fev. 1928.
- Radaeli (P.)* — Studie sulla nocardiasi sperimentale — “*Boll. dell Ist. Sierot. Milanese*” — Fev. e Março 1928.
- Ota (Masao)* — Essai de classification des Blastomycètes pathogènes — “*Ann. de Parasit. Hum. et Comparée*” — Jan. 1924.
- Leman, Liles, Johnson* — Blood serum calcium in leprosy — “*The Am. Jour. of Trop. Med.*” — Jan. 1927.