

ESTUDOS EXPERIMENTAES SOBRE O BACILLO DE FRIEDMANN

POR

J. LEMOS MONTEIRO E J. TRAVASSOS

INTRODUÇÃO

- I — Origem do bacillo de Friedmann. Argumentos de Friedmann e de seus partidarios sobre a origem humana do bacillo e da sua attenuação no organismo da tartaruga.
- II — Argumentos contrarios dos que não acreditam na origem humana do bacillo, nem em uma possivel adaptação á tartaruga.

PARTE EXPERIMENTAL

- I — O bacillo de Friedmann estudado: a) isolamento da nossa cultura; b) caracteres culturaes, morphologicos e biologicos; c) pathogenicidade para os animaes de sangue quente; d) pathogenicidade para os animaes de sangue frio; e) producção da tuberculina.
- II — Relações com o bacillo da tuberculose humana: a) resultados das inoculações e passagens; b) comportamento dos animaes inoculados com bacillos da tuberculose humana, de Friedmann e B.C.G., em relação ás tuberculinas do bacillo da tuberculose humana e do bacillo de Friedmann; c) comportamento das cobaias inoculadas com o bacillo de Friedmann em relação á infecção tuberculosa experimental.
- III — Discussão e Summario.
- IV — Conclusão.

ESTUDOS EXPERIMENTAES SOBRE O BACILLO DE FRIEDMANN

POR

J. LEMOS MONTEIRO E J. TRAVASSOS

O chamado "remedio de Friedmann", ultimamente apparecido entre nós e destinado a prevenir e curar a tuberculose, motivou longas e acaloradas discussões, principalmente em seu paiz de origem, interessando um grande numero de experimentadores, muitos de reputado renome scientifico, que procuraram com os mais variados argumentos realçar ou desaprovar o seu valor.

Ha pouco mais de um anno a vaccina de Friedmann foi posta á venda em S. Paulo e noutras cidades do Brasil. No nosso paiz ainda não tinha sido realizado um estudo experimental que confirmasse as asseverações de Friedmann e, dados os resultados por vezes oppostos obtidos pelos varios experimentadores que estudaram o bacillo, encetámos, em uma serie de pesquisas, um estudo experimental sobre o assumpto, afim de verificarmos si colheriamos dados capazes de justificar as bases que orientam e justificam o emprego de tal remedio.

São os resultados dessas experiencias que constituem o assumpto do presente trabalho, embora por si sós não sejam sufficientes para a justificação de uma conclusão definitiva, principalmente pelo facto de não se dever, em materia de tuberculose, transportar com facilidade os resultados experimentaes em animaes para o homem.

INTRODUÇÃO

I

Origem do bacillo de Friedmann — Argumentos de Friedmann e de seus partidarios sobre a origem humana do bacillo e sua attenuação no organismo da tartaruga.

Em junho de 1903, Friedmann publicou o seu primeiro trabalho sobre cultura, biologia e virulencia de um bacillo acido-resistente por elle encontrado e isolado de nodulos caseosos do pulmão de uma tartaruga affectada de tuber-

culose espontanea. Por essa epoca já tinha examinado duas tartarugas maritimas (*Chelone corticata*) do aquario de Berlim. Uma havia morrido em 6 de dezembro de 1902 e outra, em 3 de janeiro de 1903. A ultima permanecera de 2 a 3 annos no aquario, isolada da outra e com ella nunca havia tido contacto. A primeira apresentava todo o pulmão direito affectado, com uma grande caverna; na segunda os dois pulmões estavam tuberculosos com muitos nodulos miliares.

Esses animaes eram tratados por um guarda tuberculoso e dahi a supposição de Friedmann que elle os tivesse contaminado.

Desses animaes foram isolados dois bacillos acido-resistentes. Um delles, segundo Friedmann, mantem um parentesco estreito com o bacillo da tuberculose dos mammiferos, e com elle se confunde pelo desenvolvimento a 37°, pelo aspecto macroscopico das culturas e microscopico dos elementos cultivados e, ainda, pelo papel pathogenico para as cobaias. Por esses motivos elle separou tal bacillo dos demais acido-resistentes dos animaes de sangue frio, para os quaes, no entanto, verificou ser pathogenico.

Esses interessantes caracteristicos do germe encaminharam Friedmann á supposição de ser o germe em apreço um bacillo da tuberculose humana attenuado no organismo da tartaruga, tendo assim o acaso conseguido o que muitos auctores não lograram obter experimentalmente, isto é, tornar um bacillo da tuberculose dos mammiferos pathogenicos para os animaes de sangue frio.

Friedmann enveredou desde logo para o campo da immunologia. Em um segundo trabalho, publicado em dezembro de 1903, mostrou os resultados de suas primeiras experiencias sobre a immunidade que uma inoculação desses bacillos conferia á cobaia, observando que os animaes testemunhas apresentavam o quadro classico da tuberculose generalizada e os vaccinados, no ponto da inoculação, um fóco de infiltração que se tornava caseo-purulento, desapparecendo em seguida sem deixar vestigios; os ganglios da região reagiam, augmentando de volume, mas voltavam logo depois ao normal; os animaes posteriormente augmentavam de peso e seu estado geral se tornava excellente. Sacrificados no fim de 3 meses, apresentavam lesões insignificantes dos organs internos, pequenos pontos esbranquiçados ou cinzentos, que, no opinar de Friedmann, não eram verdadeiros tuberculos, mas filiaveis ás lesões observadas em animaes refractarios á tuberculose ou immunizados por processos diversos, tal como haviam encontrado Koch, Neufeld e Behring.

Baseado nessas experiencias, Friedmann annunciou a sua proxima vaccina inoffensiva e immunizante para animaes de sangue quente.

Em janeiro de 1904, respondendo a Moeller, expoz as razões pelas quaes julgava que o bacillo do tuberculose da tartaruga possuia as condições de um elemento vaccinante ideal, o que o fazia, neste particular, superior a todos os outros bacillos acido-resistentes estudados. Uma vaccina ideal devia, segundo Friedmann, assemelhar-se o mais possivel ao virus contra o qual se desejava

que ella actuasse, alem de dever ser absolutamente inoffensiva, tendo embora soffrido o minimo de attenuação.

Todas estas propriedades acham-se, felizmente, combinadas no bacillo da tuberculose da tartaruga. Realmente, elles crescem bem na temperatura ambiente, mas dão ao mesmo tempo, a 37°, uma cultura muito abundante, assemelhando-se completamente ás de tuberculose humana e bovina. O bacillo determina na cobaia uma lesão especifica, porém, ligeira, bem localizada e susceptivel de cura completa. Todos os mammiferos examinados (cobaia, coelho, camondongo, rato, cão, cabra, burro, boi, carneiro, porco, cavallo) mostraram-se refractarios, mesmo ás altas doses de culturas frescas do bacillo da tartaruga, e á necropsia, não se pode perceber o menor signal de bacillos, nem lesões que lhes pudessem ser attribuidas. A propriedade de cultivar-se a 37°, longe de trazer um certo perigo, como pensa Moeller, é, ao contrario, uma superioridade sobre o bacillo de Moeller. Friedmann apoiou esta sua opinião sobre a seguinte observação: durante as suas pesquisas, teve occasião de isolar de uma tartaruga um bacillo tuberculoso que se differenciava do antigo pela propriedade de crescer apenas a 22°; os animaes vaccinados com esta nova raça de bacillo manifestavam immuniidade muito menos solida do que os preparados com a raça cultivavel a 37°. Nesse mesmo trabalho relata a historia de 2 cobaias inoculadas uma só vez com o seu primitivo germe e que supportaram bem infecções peritoneaes de doses de bacillo tuberculoso (0,001 e 0,003 grs.) sufficientes para matar os testemunhas em 18 e 30 dias.

Continuando seus trabalhos, Friedmann, em novembro de 1904, expoz os resultados de experiencias de immunização contra a tuberculose bovina e os de tratamento da tuberculose pelo soro-immune. Injectou nas veias de bovinos uma emulsão de bacillos da tuberculose da tartaruga e conseguiu conferir-lhes uma solida immuniidade á tuberculose bovina. Do mesmo modo pretendeu poder curar, pelo mesmo processo, bovinos já tuberculosos. Emfim, affirmou que o soro dos animaes inoculados com o seu bacillo continha substancias especificas capazes de influenciar desfavoravelmente a evolução da tuberculose de um animal novo e recentemente inoculado.

Em 1912, Friedmann fez a sua primeira communicação á Sociedade de Medicina de Berlim e, logo depois, publicou o seu artigo "Heil-und Schutzimpfung der menschlichen Tuberkulose", onde relatou os primeiros ensaios da applicação da vaccina no homem.

Dessa data em diante, as publicações de Friedmann dizem respeito ás questões de tratamento da tuberculose do homem por meio da sua vaccina, trazendo refutações aos innumerados opposicionistas do remedio. Não sendo o nosso intuito estudar esta parte da questão, só occasionalmente citaremos um ou outro dos seus trabalhos posteriores a essa phase.

As idéas de Friedmann foram acceitas por um não pequeno numero de experimentadores. Destes, avolumam-se os que estudaram o effeito therapeutico

do remedio em doentes com localizações tuberculosas diversas. Outros verificaram o papel preventivo da vaccina, quer em animaes, quer no homem e um pequeno grupo dedicou-se ás verificações da biologia do germe. Como todos chegaram, em linhas geraes, aos resultados de Friedmann, julgamos desnecessario cital-as na integra, evitando, assim, alongar em demasia este capitulo.

II

Argumentos dos que não acreditam na origem humana do bacillo de Friedmann, nem em possível adaptação á tartaruga.

Os resultados de Friedmann foram largamente combatidos nos seus varios pontos basicos.

A origem humana do bacillo, considerada de grande importancia, tanto pelo que diz respeito á sua nocividade para o homem, como pelo papel immunizante que poderia possuir, foi alvo de acirrada critica.

Os partidarios de Friedmann comparam o seu remedio com a vaccina de Jenner: o virus tuberculoso original do homem attenuado no organismo da tartaruga corresponderia ao virus da variola attenuado na vacca.

Estranhou-se inicialmente essa adaptação, pois as experiencias até então realizadas não permittiam uma conclusão segura. Emquanto alguns auctores acreditavam ter obtido uma adaptação do bacillo de Koch ao organismo de animaes pecilotermicos, tão intima que perderia a virulencia para a cobaia (Lubarsh, Herzog, Ramon e Ravaud, Bataillon, Dubard e Terre), outros, além de encontrarem sómente lesões muito discretas, notaram, ao contrario, a conservação da primitiva virulencia (Nicolas e Lesieur, Auché e Hobbs, Bertarelli e Bocchia).

Procurou-se verificar a questão. Tartarugas inoculadas com grandes doses de bacillos do typo humano não apresentaram lesões generalizadas e a primitiva virulencia do germe não foi modificada (Sion, Gottstein e Moriya). Por outro lado, em rãs inoculadas com bacillos mortos, verificaram-se formações granulosas, repletas de bacillos, identicas áquellas obtidas em rãs injectadas com bacillos vivos (Auché e Hobbs). Este ultimo facto chamou a attenção dos experimentadores que procuraram verificar si normalmente nesses animaes existiriam bacillos acido-resistentes e sob que condições estes poderiam pullular.

Os estudos de Weber e collaboradores trouxeram luz á questão, expondo em varias publicações do Serviço Sanitario Imperial da Alemanha os seguintes resultados de suas investigações: nos animaes de sangue frio existem normalmente acido-resistentes, saprophytos, quasi sempre inoffensivos para os seus hospedes, mas capazes de pullular em seus organismos sob certas condições. E' de suppor que, em muitas das experiencias realizadas, se isolassem esses bacillos, apathogenos para a cobaia, e se interpretasse como sendo os da tuberculose hu-

mana attenuados. Os bacillos da tuberculose humana, injectados nos animaes de sangue frio, podem permanecer durante muito tempo vivos, mas sempre virulentos para a cobaia.

Referindo-se em particular ao bacillo de Friedmann, Weber affirmou que essa amostra nada tinha de extraordinario. Si esse bacillo apresenta a 37° caracteres culturaes quasi indistinguiveis dos de uma raça de bacillo da tuberculose dos mammiferos, não se trata de um caso isolado. Tal facto elle verificou muitas vezes nas 36 amostras de bacillos acido-resistentes de animaes de sangue frio que conseguiu isolar. O bacillo de Friedmann era manifestamente da mesma familia que os de Bataillon e Moeller. O apparecimento da tuberculose pulmonar nas tartarugas observadas era devido, não ao bacillo, mas ás tartarugas; as raças isoladas por Weber tambem determinavam lesões pulmonares nas tartarugas, lesões essas que tambem foram observadas nas rãs, porém em muito menor quantidade. Quando um animal de sangue frio morre com bacillos acido-resistentes nos seus organs, é preciso sempre procurar si não ha parasitas de outras especies e lesões. A morte só pode ser attribuida á infecção por acido-resistentes quando é verificada enorme pullulação de bacillos, conforme foi descripta por Ledoux-Lebard.

Os trabalhos de Weber tiveram grande repercussão, sendo suas idéas acceitas por varios experimentadores de nomeada (Calmette, L. Lange, Moeller) e suas verificações confirmadas por outros (Tsukiyama, Iansco e Elfer, Moriya). Alguns auctores, entretanto, acreditam em uma adaptação completa (Piorkowski), que pode ser realizada lentamente (Sorgo e Suess), havendo talvez mesmo uma relação phylogenetica entre os bacillos da tuberculose dos mammiferos e os acido-resistentes dos animaes de sangue frio (Klemperer).

Entre os argumentos em que se basea a hypothese de Friedmann sobre a origem humana do seu bacillo, alem do facto de terem as tartarugas sido tratadas por um guarda tuberculoso, contam-se o seu bom desenvolvimento a 37° e ainda a semelhança das culturas com as do bacillo de Koch, o que não aconteceria geralmente com outros acido-resistentes isolados de animaes pecilotermicos. Conhecem-se, entretanto, observações de cultivo a 37° e de culturas semelhantes ás do bacillo de Koch entre acido-resistentes de animaes de sangue frio. Moeller, de uma tartaruga morta espontaneamente, isolou um acido-resistente que se desenvolveu muito bem a 37°, logo após o seu isolamento. São conhecidas, neste particular, as observações de Weber e Taute com os acido-resistentes das rãs e do musgo; as de Jakobitz, Keyser e Schmitz com os bacillos dos caracões e as dos dois tuberculoides de Becks.

L. Lange julga existir uma grande differença de comportamento das culturas dos dois bacillos, differença essa que impõe á amostra de Friedmann um lugar entre os acido-resistentes saprophytas.

Entre outros argumentos levantados pelos auctores que não acceitam as idéas de Friedmann, conta-se o seguinte: o grande numero de bacillos observa-

dos nas lesões pulmonares da tartaruga de onde foram isolados, aproxima-os dos acido-resistentes dos animaes de sangue frio, por isso que, com os bacillos da tuberculose dos mammiferos, o contrario é o que se verifica, isto é, a virulencia está na razão inversa da vegetabilidade (Weber e Taute).

Do mesmo modo, a circumstancia de ser o bacillo pathogenico para os animaes de sangue frio, desenvolvendo-se nelles com grande energia e invadindo rapidamente todos os organs, constitue outro argumento contrario a Friedmann, por isso que facto identico não se observa nos animaes inoculados com culturas de bacillos do typo humano, mesmo que se empreguem grandes doses. Neste ponto ha um pormenor que tem sido levado em conta pelos partidarios de Friedmann para a prova de que o bacillo é de origem humana. Dizem elles que nem todos os auctores têm conseguido infectar certos animaes de sangue frio, principalmente tartarugas e sapos, pelo bacillo de Friedmann (Rabinowitsch, Schroeder, L. Lange). Todavia, o argumento não procede, pois é sabido que os bacillos acido-resistentes diminuem de virulencia á medida das passagens pelos meios de cultura, conforme resalta de experiencias do proprio Friedmann, que não conseguiu infectar uma tartaruga com culturas de varios repiques, 10 meses após o isolamento do seu bacillo.

L. Lange, em sua critica, julga que é muito inverosimil que a tartaruga de Friedmann se contagiasse pelo guarda tuberculoso, não sendo possivel que as tartarugas occupassem um logar de excepção entre os animaes de sangue frio.

A supposição original de ser o bacillo de Friedmann de procedencia humana fez receiar que no homem, por uma causa extranha, elle readquirisse a sua primitiva virulencia. Este receio estava de accordo com certas verificações experimentaes que demonstravam a capacidade do bacillo do typo humano de provocar a tuberculose generalizada da cobaia, mesmo após longa permanencia no organismo dos animaes de sangue frio.

As primeiras verificações realizadas (Libbertz e Ruppel, Orth e Rabinowitsch, Rabinowitsch, Westenhoffer, Brauner, Meinicke), mostravam um certo poder pathogenico do bacillo para a cobaia, o que causou celeuma entre os pesquisadores, acreditando mesmo alguns (Rabinowitsch, Calmette) que no remedio de Friedmann se encontravam alguns bacillos do typo humano. Conseguiu-se tambem a exaltação da virulencia da amostra de Friedmann por passagens successivas em cobaias (Schroeder, Kaufmann) e isto deu margem para se pensar ser o bacillo uma forma de transição entre os acido-resistentes de sangue frio e os da tuberculose dos mammiferos.

O que parece mais ou menos assentado actualmente é que o bacillo de Friedmann não é pathogenico para a cobaia (Piorkowski, Baumann, Ehrlich, L.

Lange, Kruse, Neufeld, Kolle e Schlossberger e outros). A sua acção sobre os animaes de sangue quente é idêntica á dos demais acido-resistentes de sangue frio (Neufeld), podendo produzir nodulos que regridem em pouco tempo, tal como se obtem por inoculação de certos corpos extranhos (Kruse e outros), donde se conclue não ser possível a adaptação do bacillo ao organismo dos animaes de sangue quente.

Procurou-se também verificar si no organismo humano havia probabilidades de augmentar de virulencia a amostra de Friedmann (Barnes, Rabinowitsch, Neumann, Bischoff e Schmitz, Fromme), não se tendo conseguido resultados positivos.

O bacillo de Friedmann também foi estudado no que diz respeito á acção de sua tuberculina. Esse producto mostra-se muito menos activo para as cobaias tuberculosas (L. Lange, Dietrich e outros) do que a tuberculina extrahida dos bacillos de Koch, tal como acontece com as chamadas paratuberculinas (Loewenstein, Weber). Os animaes preparados com o bacillo de Friedmann, do mesmo modo que os animaes preparados com outros acido-resistentes de sangue frio, reagem á tuberculina homologa, mas não á tuberculina preparada com os bacillos do typo humano ou bovino (B. Lange, Furth, Meyer, Selter, Lust).

Essa ausencia de effeito allergico homologo para os animaes tuberculosos é argumento serio contra a hypothese da adaptação do bacillo humano ao organismo da tartaruga, não restando, pois, duvida de que o germe deve ser incluido entre os acido-resistentes dos animaes de sangue frio, não passando, assim, de um saprophyta para os animaes de sangue quente (Selter, Lust).

As provas de protecção para a cobaia e outros animaes, expostas por Friedmann em seus primeiros trabalhos, não são de tal gráo e natureza que permittam, por si sós, avaliar do valor preventivo da vaccina. As cobaias e outros animaes vaccinados pelo remedio de Friedmann parecem apresentar diminuta resistencia á inoculação do virus (Libbertz e Ruppel, Uhlenhuth, L. Lange, Schroeder, Kuchner, Neufeld, etc.), o que também acontece com outros animaes vaccinados pelos acido-resistentes de sangue frio (Neufeld), morrendo todos, finalmente, de tuberculose generalizada.

No que diz respeito ao valor curativo do remedio, pesquisas experimentaes foram realizadas em cobaias tuberculosas, não tendo sido verificado effeito favoravel, parecendo mesmo que, em certos casos, as injeções repetidas de bacillo da tartaruga activaram a marcha da tuberculose (Kolle e Schlossberger).

PARTE EXPERIMENTAL

I — O bacillo de Friedmann estudado: a) *isolamento da nossa cultura*; b) *caracteres culturaes, morphologicos e biologicos*; c) *pathogenicidade para os animaes de sangue quente*; d) *pathogenicidade para os animaes de sangue frio*; e) *produção da tuberculina*.

a) *Isolamento da nossa cultura* — A amostra do bacillo de Friedmann que estudámos foi isolada por sementeira, em meios apropriados (meio de ovo de Dorset, agar-glycerinado e batata-glycerinada), da vaccina preparada por Friedmann e da qual foram enviadas ao Instituto algumas empolas.

Os tubos sementeados foram mantidos na temperatura de 26°. Em 48 horas já se notava o desenvolvimento de pequenas colonias na superficie dos meios. A primeira sub-cultura foi feita decorridos 5 dias, e a segunda depois de 10 dias. Os tubos da 3.^a sub-cultura foram divididos em 2 grupos, sendo um conservado na temperatura de 26° e outro na de 37°.

b) *Caracteres culturaes, morphologicos e biologicos*. — As culturas obtidas, desde a sementeira original, mostraram-se puras e seu aspecto nos diferentes meios apresentou differença, conforme o desenvolvimento se dava a 26°, ou a 37°. Nas culturas mantidas a 26°, é o seguinte:

Batata glycerinada: Inicia-se o desenvolvimento em 3 a 4 dias. Nota-se um inducto cremoso e ligeiramente rugoso, cobrindo toda a superficie do meio; pellicula na superficie do caldo collocado na parte inferior do tubo e que facilmente se destaca, cahindo no fundo do tubo (fig. 1, c). Depois de algumas sub-culturas o aspecto é mais secco e rugoso, assemelhando-se mais com o bacillo da tuberculose humana.

Meio ovo de Dorset: Inducto cremoso e esbranquiçado, muito ligeiramente rugoso (fig. 1).

Gelose glycerinada: Desenvolvimento abundante, dando um inducto esbranquiçado, cremoso e rugoso por toda a superficie (fig. 1, b). As colonias isoladas são arredondadas, rugosas, com o centro ligeiramente elevado e a periphèria de contornos irregulares.

Gelose commum: Desenvolvimento insignificante, quasi nullo no fim de 10 dias.

Gelose-soro: Inducto ligeiro, de aspecto mais pastoso, não se observando rugosidades.

Caldo commum: No fim de 10 dias, ligeira pellicula na superficie, cahindo facilmente e depositando-se no fundo do tubo, sem turvar o meio.

Caldo glycosado a 1%: Como no caldo commum, mas com maior desenvolvimento.

Caldo glycerinado a 5% (em balões de larga superficie): Já em 24 hs. se observa uma pellicula fina occupando vasta zona da superficie do meio. O desenvolvimento da pellicula se accentua, occupando em poucos dias toda a superficie. A pellicula é fragil, com ligeira agitação se rompe, cahindo no fundo do frasco. A substituição por nova pellicula logo se processa. O caldo permanece transparente (fig. 3). Esta cultura, após 40 dias, foi utilizada para o preparo da tuberculina do bacillo de Friedmann.

As culturas desenvolvidas a 37° differem um pouco do aspecto descripto. Nas primeiras sub-culturas o desenvolvimento é um pouco mais lento; nas repicagens seguintes de culturas oriundas dessa temperatura, já é mais rapido. As culturas têm o aspecto menos cremoso, são mais seccas e apresentam-se mais rugosas nos meios solidos, taes como (fig. 2), batata e gelose glycerinadas, approximando-se mais, na apparencia, das culturas do bacillo da tuberculose. Nos meios liquidos, o aspecto é mais ou menos identico ao já descripto.

Morphologia do bacillo: A amostra estudada apresenta-se como pequeno bastonete alcool-acido-resistente e que, pela sua morphologia e propriedades tinctoriaes (coloração de Ziehl-Nielsen) se confunde com as dos bacillos tuberculosos. Pelo methodo de Fontes, verifica-se a existencia de granulações pequenas no corpo bacillar. Os germes, nos esfregaços de culturas, se agrupam em massas, não se observando qualquer disposição caracteristica.

PATHOGENICIDADE

O estudo da pathogenicidade do bacillo de Friedmann foi realizado em animaes de sangue quente (cobaias e coelhos) e em animaes de sangue frio (cobras, rãs, lagartos, sapos, tartarugas).

Os resultados obtidos pelas inoculações desses differentes animaes, empregando-se doses diversas, ás vezes enormes, do bacillo e por differentes vias, dão bem uma idéa da virulencia do germe. Mostraremos com algum pormenor os resultados obtidos nos dois grupos de animaes, indicando ao mesmo tempo o comportamento dos animaes injectados em relação á tuberculina preparada com o proprio bacillo e com o bacillo da tuberculose humana e, a seguir, o comportamento de uma serie de animaes inoculados em relação á infecção tuberculosa experimental.

Para o estudo da pathogenicidade do bacillo de Friedmann empregámos culturas de 12 dias em batata glycerinada. O inducto microbiano retirado da superficie do tubo e collocado em papel de filtro esterilizado, era secco e pesado ainda humido, sendo as doses injectadas avaliadas quanto ao peso da cultura

assim tratada, feitas as emulsões convenientes num mesmo volume de solução physiologica.

c) *Pathogenicidade para os animaes de sangue quente.* — Numerosas foram as cobaias e coelhos inoculados por diferentes vias (sub-cutanea, peritoneal, venosa, testicular), com doses de bacillos de Friedmann desde 0,0001 até 0,500. Muitos foram submettidos, tempos depois de inoculados, a diferentes provas em relação ás tuberculinas humana e do bacillo de Friedmann e á infecção tuberculosa experimental. As desta ultima serie serão estudadas em capitulo aparte.

COBAIA N.º 81 — Inoculada em 23 de janeiro de 1930, por via peritoneal, com 0,500 mgrs. do bacillo de Friedmann.

Apesar de inoculada por via peritoneal, observou-se, depois de 5 dias, um pequeno nodule sub-cutaneo, ao nivel do ponto de penetração da agulha, e que desapareceu no fim de alguns dias.

Em 26 de fevereiro, foi submettida á prova da tuberculina humana. Injectou-se 1cc. de tuberculina bruta por via sub-cutanea, e ao mesmo tempo que a cobaia tuberculosa n.º 365, e a cobaia normal n.º 493, como testemunhas.

Como resultado da inoculação, as cobaias 81 e 493 nada de anormal apresentaram, enquanto que a cobaia n.º 365, testemunha tuberculosa, morreu em menos de 24 horas.

Em 28 de fevereiro (35 dias após a inoculação), foi sacrificada e necropsiada: ganglios inguinaes não augmentados de volume e de aspecto normal. Na cavidade peritoneal notou-se um nodule epiploico contendo pús caseoso. No figado observaram-se raros pequenos nodulos brancos, nas bordas do organ e mesmo no parenchyma. Baço augmentado de volume e adherente á parede. Pulmões macroscopicamente normaes. Os esfregaços feitos com substancias do nodule epiploico mostraram a presença de bacillos acido-resistentes de aspecto normal e em via de desintegração. Os esfregaços com nodulos do figado mostraram tambem bacillos acido-resistentes em desintegração.

A sementeira do pús do nodule epiploico deu em resultado o reisolamento do bacillo.

A curva de peso desta cobaia pode ser verificada no graphico annexo (graphico 1, letra a).

COBAIA N.º 323 — Inoculada em 23 de janeiro de 1930 com 0,500 mgrs. de bacillos de Friedmann, por via sub-cutanea.

No ponto de inoculação formou-se um grande nódulo que, 5 dias depois, se abriu, dando saída a pús caseoso. O exame microscópico desse pús mostrou numerosos bacillos ácido-resistentes, de estrutura granular, com notável tendência a reunir-se em aglomerados. Esses germes foram também encontrados no interior dos leucocytos.

Em 28 de janeiro, com esse pús, foi inoculada a cobaia 221, por via sub-cutanea. Esta cobaia nada de anormal apresentou, nem mesmo nódulo no ponto de inoculação e foi sacrificada em 29 de maio (após 4 meses), á necropsia mostrando os organs de aspecto normal. Os esfregaços não revelaram a presença de bacillos ácido-resistentes.

Em 12 de março, a cobaia 323 foi inoculada com 1cc. da tuberculina concentrada preparada com o bacillo de Friedmann.

Nesse dia, á tarde, sua temperatura era de 38,8°. No dia seguinte a temperatura foi de 39,3° pela manhã e 39,5° á tarde; em 14 de março a temperatura foi de 39,0° pela manhã e 38,4° á tarde. Verificou-se, assim, uma ligeira reacção á tuberculina homologa, o que não se verificou com a cobaia 250, testemunha normal, injectada nas mesmas condições.

Em 15 de março, isto é, 52 dias após a inoculação, a cobaia foi sacrificada e necropsiada: verificou-se no ponto de inoculação uma ulceração ainda não completamente cicatrizada e um empastamento com maior adherencia da pelle.

Ganglios satellites completamente normaes. Na cavidade abdominal não se notou derrame, nem se viram ganglios augmentados de volume. O figado, de apparencia normal, mostrou apenas pequenas granulações esbranquiçadas. Baço nas mesmas condições. Pulmões de aspecto normal.

Os esfregaços feitos para a pesquisa de bacillos ácido-resistentes foram negativos, tanto com o material do tecido sub-cutaneo do ponto de inoculação, como com o material dos ganglios satellites, polpa do figado, baço e pulmões.

A curva de peso dessa cobzia pode ser verificada no graphico annexo (graphico 1, letra b).

COBAIA N.º 143 — Inoculada em 23 de janeiro com 0,100 mgrs. de bacillo de Friedmann, por via peritoneal.

Nada de anormal apresentou, a não ser uma perda de peso nos primeiros dias que se seguiram á inoculação, depois do que estacionou mais ou menos, para começar a augmentar após o primeiro mez, como se vê no graphico annexo (graphico 1, letra c). Foi sacrificada

da e necropsiada em 15 de março (52 dias após a inoculação): nenhuma alteração pouda ser verificada e os esfregaços não revelaram bacillos.

COBAIA N.º 313 — Inoculada em 23 de janeiro de 1930 com 0,001 mgr. de bacillo de Friedmann, por via testicular.

Nada de anormal apresentou. O peso iniciou a sua curva ascendente depois do primeiro mês, como se vê no graphico annexo (graphico 1, letra d).

Foi sacrificada em 18 de março (55 dias após a inoculação) e necropsiada: o testiculo inoculado mostrou-se ligeiramente augmentado, os esfregaços feitos não revelaram bacillos; figado com pequenos nodulos esbranquiçados, mas os esfregaços negativos; baço com pequenas manchas esbranquiçadas contrastando com a côr vermelha do parenchyma, esfregaços tambem negativos; pulmões de aspecto normal, mostrando os esfregaços, cuidadosamente examinados, um unico amontoado de bacillos; ganglios tracheo-bronchicos de aspecto normal e negativa a pesquisa de bacillos.

COBAIA N.º 190 — Em 23 de janeiro recebeu 0,001 mgr. de bacillos, por via peritoneal.

Nada de anormal apresentou, mantendo-se inalterado o peso durante as duas semanas e entrando depois em curva ascendente (graphico 1, letra e). Foi sacrificada em 20 de março (após 57 dias da inoculação). A necropsia e a pesquisa de bacillos acido-resistentes nos organs e ganglios foram completamente negativas.

COBAIA N.º 2 — Em 23 de janeiro recebeu, por via sub-cutanea, 0,0001 mgr. de bacillos.

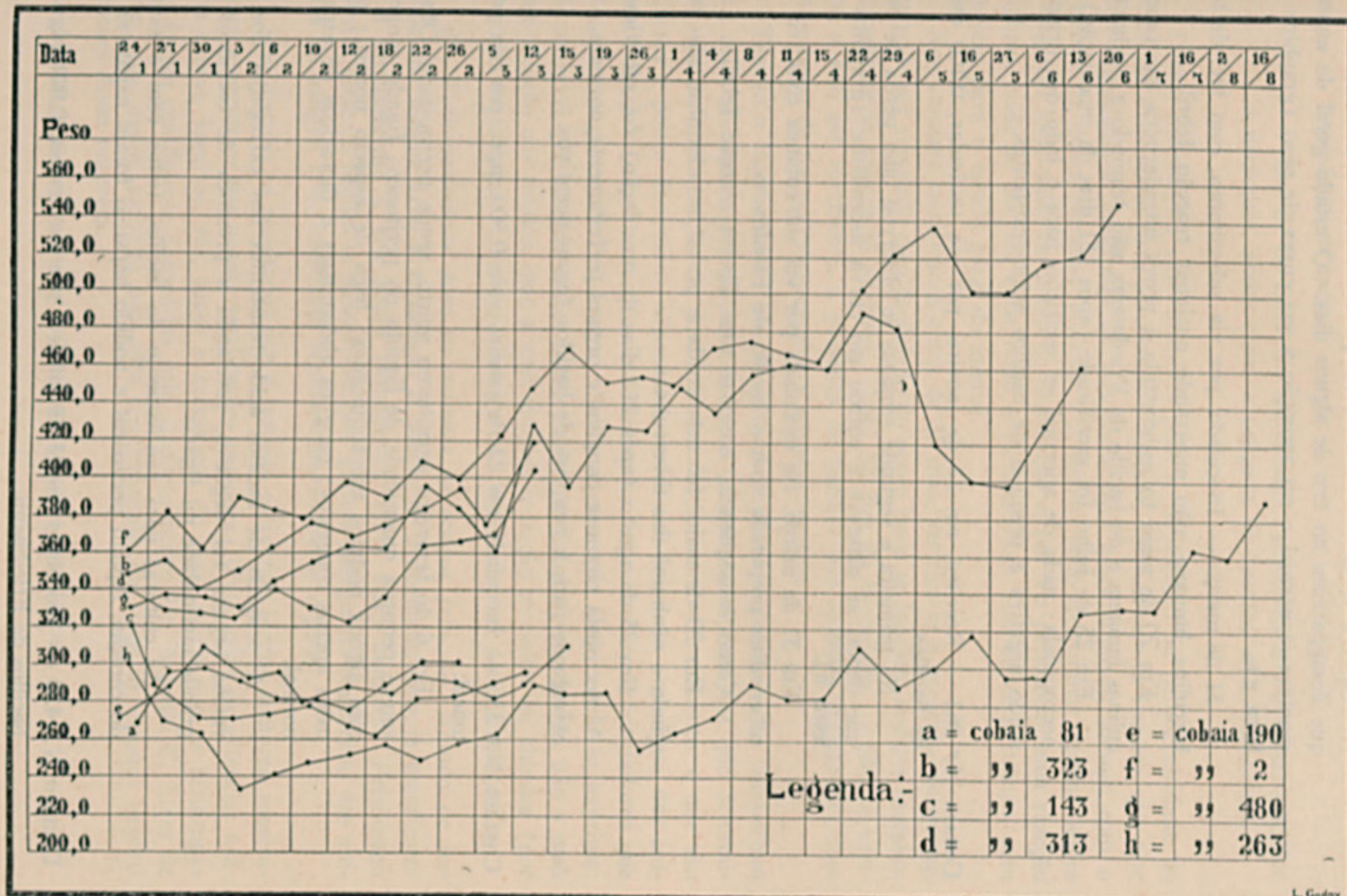
Nenhuma manifestação apresentou e o peso entra em curva ascendente (graphico 1, letra f).

20 de maio — Foi submettida á prova intradermica da tuberculina, recebendo, do lado direito, a tuberculina humana e, do lado esquerdo, a tuberculina preparada com o bacillo de Friedmann, não reagindo a nenhuma.

Em 24 de junho (após 160 dias da inoculação) foi sacrificada, sendo negativas a necropsia e pesquisa de bacillos nos esfregaços dos differentes organs.

COBAIA N.º 480 — Inoculada em 23 de janeiro com 0,100 mgr. de bacillos, por via sub-cutanea.

Graphico dos pesos de cobaias inoculadas com o B. de Friedmann



Após 5 dias, observou-se, no ponto de inoculação, um nódulo que desapareceu no fim de alguns dias. O estado geral do animal manteve-se normal e em ascensão a sua curva de peso (graphico 1, letra g).

31 de março — Inoculada, por via sub-cutanea, com 1cc. de tuberculina humana, não mostrando qualquer reacção febril.

Em 20 de maio foi submettida á prova intradermica das tuberculinas humana e do bacillo de Friedmann, não reagindo a nenhuma.

Em 25 de julho foi sacrificada (após 151 dias da inoculação) e necropsiada: nada de anormal se verificou para o lado dos organs, sendo negativa a pesquisa de bacillos acido-resistentes.

COBAIA N.º 263 — Recebeu, em 23 de janeiro, por via testicular, 0,100 mgr. de bacillos.

Na primeira e segunda semanas se observou uma perda de peso que depois se manteve e entrou em curva ascendente (graphico 1, letra h).

Em 31 de março, foi inoculada por via sub-cutanea com 1cc. da tuberculina preparada com o bacillo de Friedmann.

Como consequencia, notou-se uma ligeira reacção febril.

Em 20 de maio, foi submettida á prova intradermica, não reagindo a nenhuma das tuberculinas.

Em 25 de agosto (após 212 dias da inoculação) foi sacrificada. A' necropsia viram-se ganglios e organs perfeitamente normaes. Os esfregaços para a pesquisa de bacillos foram negativos.

COELHO N.º 336 — Inoculado em 23 de janeiro com 0,500 mgr., por via peritoneal.

Em 6 de fevereiro amanheceu morto, sendo necropsiado. Observou-se pequena quantidade de liquido no peritoneo; figado congesto com alguns nodulos esbranquiçados; baço de aspecto normal; pulmões apenas congestos; ganglios abdominaes e thoracicos de aspecto normal.

A pesquisa de bacillos acido-resistentes nos esfregaços dos diversos organs foi negativa, revelando a presença de coccideos em grande quantidade no figado.

As culturas para reisolamento do bacillo, feitas com o sangue do coração, liquido peritoneal e nódulo hepatico foram negativas.

COELHO N.º 420 — Inoculado em 23 de janeiro, por via venosa, 0,001 mgr. de bacillos de Friedmann.

Nada de anormal foi observado, mantendo-se o coelho em curva ascendente de peso.

Em 29 de maio foi sacrificado (após 128 dias), sendo negativa a necropsia, assim como a pesquisa de bacillos acido-resistentes.

Destas inoculações experimentaes para a verificação da pathogenicidade do bacillo de Friedmann para as cobaias e coelhos, verifica-se, em resumo, que este micro-organismo é destituído de virulencia para estes animaes, mesmo com o emprego de doses elevadas (0,500). O germe pode determinar apenas lesões passageiras localizadas no ponto de inoculação e, por via peritoneal, uma reacção epiploica onde se encysta e de onde é eliminado no fim de certo tempo, sem prejuizo para o estado geral do animal.

Nos animaes sacrificados antes de 35 dias, verifica-se a presença do germe, que pode ser reisolado com facilidade do ponto onde se localiza, embora morfológicamente se mostre já alterado. Após 52 dias da inoculação, já não se verifica, a não ser raramente, a presença de bacillos nos animaes infectados; com maior lapso de tempo esta pesquisa é sempre negativa.

Tem-se a impressão de que os germes inoculados, innocuos, se comportam para esses animaes como corpos extranhos ou germes saprophytas que determinam apenas uma reacção no ponto de inoculação, com encystamento, e que são a pouco e pouco destruidos, absorvidos ou eliminados, pelo organismo dos animaes. Estas nossas observações confirmam as de muitos experimentadores que estudaram o germe de Friedmann. Sobre o assumpto Collo assim se exprime: "E' provavel que a acção destes bacillos sobre as cobaias seja devida, não a uma multiplicação nos tecidos, mas a uma simples irritação mecanica ou chimica (por proteínas heterologas e lipoides) dos germes injectados em doses massiças".

d) *Pathogenicidade para os animaes de sangue frio.* — Oriundo de um animal de sangue frio, a tartaruga, o bacillo de Friedmann deveria manifestar mais intensamente a sua acção pathogenica sobre estes animaes. Friedmann assim o disse: o bacillo se desenvolve com grande energia no organismo dos animaes de sangue frio, invadindo rapidamente todos os organs.

Sem discutir os resultados que a respeito obtiveram outros auctores, mostraremos a seguir os das nossas verificações pessoaes. Para essas experiencias usá-mos cobras, lagartos, rãs, sapos e tartarugas do mar, sendo que as tartarugas nos foram gentilmente fornecidas pelo distincto amigo Dr. Antonio C. Alves de Lima, que, assim, mostrou uma alta comprehensão do valor de estudos experimentaes dessa natureza.

Alguns protocollos que se seguem mostram os resultados:

GIBOIA I — Inoculada por via sub-cutanea com 0,500 mgr. de bacillos de Friedmann (*Constrictor constrictor*) em 23 de janeiro de 1930.

Amanheceu morta em 13 de fevereiro de 1930, sendo necropsiada: observaram-se placas hemorrhagicas na folha parietal do peritoneo, principalmente no terço posterior, observando-se por transparencia granulações esbranquiçadas de tamanho variavel; nodulos branco-amarellados na face interna do peritoneo e disseminados por toda a serosa, vendo-se em certos pontos massas maiores, contendo substancia caseosa.

Ganglios mesentericos augmentados de volume e cheios de substancia caseosa. No tecido peri-tracheal notaram-se tambem placas hemorrhagicas e ganglios augmentados de volume e caseosos. Pulmões fortemente congestos, principalmente no apice, onde existia uma zona infarctada. Fígado com pequenas granulações disseminadas por todo o orgam.

A pesquisa de bacillos acido-resistentes foi positiva nos esfregaços feitos com sangue do coração, figado, ganglios e pulmões.

Com os ganglios caseosos foi feita uma emulsão e inoculadas a giboia IV (vide adeante) e a cobaia 477. Esta ultima não apresentou, nos dias que succederam á inoculação, a menor manifestação pathologica. Submettida posteriormente á prova intradermica com as tuberculinas humana e do bacillo de Friedmann, não reagiu a nenhuma. Sacrificada em 8 de novembro de 1930, nada foi observado á necropsia.

A' sementeira da massa caseosa de um ganglio da giboia I, em gelose glicerinada e batata, reisolou-se o bacillo em cultura pura. Essas culturas foram posteriormente inoculadas na tartaruga V, no lagarto I e no camaleão III, cujos protocollos serão indicados adeante.

GIBOIA II — Em 23 de janeiro de 1930, recebeu 0,100 mgr. de bacillos de Friedmann.

Em 12 de março, foi inoculada com 1cc. da tuberculina concentrada preparada com o bacillo de Friedmann. A 15 de março nada apresentou de anormal, sendo sacrificada e necropsiada: observaram-se alguns ganglios augmentados de volume; organs de apparencia normal. Esfregaços de ganglios mostraram grande numero de bacillos acido-resistentes, raros nos organs.

GIBOIA III — Inoculada por via peritoneal com 0,100 mgr. de bacillos em 23 de janeiro.

Amanheceu morta em 8 de julho de 1930. A' necropsia não se notou grande alteração macroscopica dos organs, a não ser um

ganglio infiltrado e augmentado de volume, ao nivel do figado, proximo á vesicula biliar.

Esfregaços dos organs, pobres em bacillos acido-resistentes.

GIBOIA IV — Inoculada em 13 de fevereiro com 2cc. de emulsão de ganglios mesentericos caseosos da giboia I, por via sub-cutanea.

Amanheceu morta em 17 de fevereiro, observando-se na necropsia edema hemorrhagico na zona do ponto de inoculação e vizinhanças, onde se viu tambem uma massa amarellada de aspecto caseoso; varios ganglios pouco augmentados de volume na parte terminal da trachéa e na base do coração; adherencia do peritoneo ás visceras no ponto de inoculação; no figado notaram-se numerosas petechias disseminadas por todo o orgam; pulmão congestionado na base, onde se notou edema gelatinoso; derrame sero-hemorrhagico do pericardio. Os esfregaços do figado e sangue do coração não mostravam bacillos acido-resistentes, observando-se bacillos bipolares e coccus.

BOIPEVA I — Recebeu, por via sub-cutanea, 0,001 mgr. de bacillos de Friedmann, em 23 de janeiro.
(*Ophis merremii*)

Amanheceu morta em 25 de fevereiro de 1930. Necropsia: congestão da parte superior do pulmão, figado com pequenas granulações esbranquiçadas disseminadas por todo o orgam, notando-se uma grande, esbranquiçada, logo abaixo da vesicula biliar.

Esfregaços positivos.

BOIPEVA II — Recebeu, por via sub-cutanea, em 23 de janeiro, 0,100 mgr. de bacillos.

Em 12 de março foi inoculada com 1cc. de tuberculina humana.

Amanheceu morta em 14 de março e á necropsia encontramos, no peritoneo, pequenas granulações esbranquiçadas; os ganglios mesentericos mostravam-se augmentados de volume e de aspecto caseoso. No figado e pulmão nada de anormal macroscopicamente.

Os esfregaços dos ganglios mesentericos mostraram grande numero de bacillos acido-resistentes, formando grandes massas; o do ganglio cardiaco mostrou tambem bacillos, porem em menor numero; nos do figado lográmos encontrar raros bacillos acido-resistentes.

BOIPEVA III — Inoculada por via peritoneal com 0,100 mgr. de bacillos de Friedmann em 23 de janeiro de 1930.

Amanheceu morta em 28 de janeiro. A' necropsia não se observaram lesões macroscopicas dignas de nota, a não ser um pequeno augmento dos ganglios renaes.

Os esfregaços dos organs e ganglios deram resultado positivo. A cultura do sangue do coração foi positiva.

LAGARTO I — Em 23 de janeiro, foi inoculado por via sub-cutanea com 0,100 (*Polychrus acutirostris*) mgr. de bacillos. Morte na tarde de 24 de janeiro. A' necropsia observavam-se alguns nodulos no peritoneo; organs aparentemente normaes.

Esfregaços positivos. Cultura do sangue do coração positiva.

LAGARTO II — Inoculado em 27 de março com 0,10 mgr. de bacillos reisolados da giboia I, cultura em batata glicerinada.

Morte em 2 de abril de 1930. A' necropsia não foram observados phenomenos anormaes. Os esfregaços do figado, pulmão e sangue revelaram grande numero de bacillos.

LAGARTO III — Inoculado em 27 de março com 0,30 mgr. de bacillos reisolados da giboia I.

Amanheceu morto em 4 de abril de 1930. A' necropsia os organs apresentavam-se de aspecto normal; os ganglios do mesenterio augmentados ligeiramente de volume.

Esfregaços positivos. Cultura do sangue do coração positiva.

RÃ I — Recebeu 0,500 mgr. de bacillos de Friedmann em 23 de janeiro de 1930. (*Hyla faber*)

Amanheceu morta em 25 de janeiro. A' necropsia notou-se exsudato peritoneal ligeiramente hemorrhagico; os organs, figado principalmente, recobertos por uma camada de fibrina, de aspecto caseoso; no figado e pulmão, raras e pequenas granulações.

Os esfregaços dos organs e sangue do coração mostraram numerosissimos bacillos.

As culturas do sangue do coração e liquido peritoneal foram positivas.

RÃ II — Em 25 de janeiro de 1930, foi inoculada com 0,001 de bacillos.

Amanheceu morta em 7 de abril e á necropsia não foram observadas lesões macroscopicas.

Todos os esfregaços feitos com organs e sangue do coração foram positivos.

RÃ III — Inoculada, por via peritoneal, com 0,001 mgr. de bacillos de Friedmann, em 23 de janeiro de 1930.

Em 12 de março, inoculada com 1cc. de tuberculina de Friedmann.

Morte em 20 minutos após a inoculação da tuberculina.

A' necropsia notou-se liquido na cavidade peritoneal, amarellado e ligeiramente sanguinolento; pulmão congesto; figado macroscopicamente normal.

Os esfregaços mostraram grande numero de bacillos.

RÃ IV — Inoculada por via intra-muscular com 0,100 mgr. de bacillos em 23 de janeiro de 1930.

Morte na tarde de 24 de janeiro. A' necropsia exsudato peritoneal e phenomenos de peritonite com deposito de fibrina; organs de aspecto normal.

Todos os esfregaços revelaram grande numero de bacillos.

RÃ V — Em 23 de janeiro de 1930, recebeu 0,100 mgr. de bacillos.

Na manhã de 28 de janeiro apresentou-se em máo estado.

A pelle do dorso de amarello pallido passou a ennegrecida com manchas esbranquiçadas; no ventre observaram-se manchas avermelhadas, denotando inflammação.

Sacrificada, á necropsia notou-se adherencia da pelle aos musculos, com desaparecimento do sacco lymphatico em certos pontos; exsudato peritoneal presente; os organs não mostraram lesões macroscopicas.

Os esfregaços dos organs, liquido peritoneal e sangue do coração foram positivos. Culturas do sangue do coração positivas.

RÃ VI — Em 23 de janeiro de 1931, recebeu, por via peritoneal, 0,100 mgr. de bacillos.

Amanheceu morta a 25 de janeiro. A' necropsia não se observaram lesões macroscopicas dignas de nota.

Os esfregaços dos organs e sangue do coração mostraram um grande numero de bacillos acido-resistentes.

RÃ VII — Inoculada por via peritoneal com 0,100 mgr. de bacillos, em 23 de janeiro de 1930.

Amanheceu morta em 25 de janeiro. A' necropsia notou-se exsudato peritoneal sero-fibrinoso e os organs de aspecto mais ou menos normal, com deposito de fibrina na superficie.

Todos os esfregaços mostraram um grande numero de bacillos.

RÃ VIII — Inoculada em 25 de fevereiro de 1930 com 0,05 mgr. de bacillos, reisolados da giboia I.

Em 12 de março foi inoculada com 1 cc. de tuberculina de Friedmann.

Morte em 30 minutos após a inoculação da tuberculina. A' necropsia: exsudato hemorrhagico na cavidade; no epiploon notaram-se numerosas granulações amarelladas; pulmão congesto.

Todos os esfregaços mostraram numerosos bacillos acido-resistentes.

TARTARUGA V — Inoculada em 27 de março com 0,060 mgrs. de bacillos de Friedmann, reisolados da giboia I (4.º repique em batata glicerinada). (*Chelone mydas*)

Amanheceu morta em 21 de maio. A' necropsia: derrame seroso na pleura esquerda, amarello citrino e um tanto viscoso; ganglios de aspecto normal; no figado um pequeno nodule esbranquiçado, maior que a cabeça de um alfinete. Pulmão com pequenos nodulos esbranquiçados.

Sómente os esfregaços com o nodule do figado e com a polpa deste organ foram positivos.

TARTARUGA VI — Inoculada por via muscular com 2 tubos de cultura de bacillo de Friedmann em batata glicerinada, em 16 de agosto de 1930.

Amanheceu morta em 23 de setembro. A' necropsia não se notaram lesões para o lado dos organs.

Os esfregaços com polpa do figado mostraram poucos bacillos e os demais foram negativos.

TARTARUGA VII — Em 16 de agosto foi inoculada com 2 tubos de cultura de bacillo de Friedmann em batata glicerinada.

Amanheceu morta em 9 de outubro de 1930. A' necropsia não se notaram lesões para o lado dos organs; na folha parietal do peritoneo, 2 pequenos nodulos.

Os esfregaços do figado, pulmão e do nodule peritoneal mostraram bacillos acido-resistentes.

A pathogenicidade do bacillo de Friedmann para os animaes de sangue frio mostra-se um tanto irregular. Enquanto que nas rãs e lagartos se observou uma invasão immediata de todos os organs com desenvolvimento abundante de bacillos, nas tartarugas e em certas serpentes essa invasão mostrou-se muito menos intensa.

As lesões macroscopicas dos organs só foram encontradas na giboia I. Nas tartarugas e em outros animaes houve quasi que completa ausencia. Alguns

cortes praticados com o figado da giboia I mostraram zonas de necrose espalhadas por todo o orgam e amontoados de bacillos acido-resistentes. Em cortes de figado de outros animaes foram encontrados grupos de bacillos e, por vezes, as cellulas mais proximas em necrose.

Os factores tempo e dóse parece-nos que pouco influiram na formação de lesões extensas e incompativeis com a vida. As tartarugas e certas serpentes, inoculadas com grandes doses e resistindo á infecção por largo espaço de tempo, não apresentaram á necropsia lesões apreciaveis.

Temos a impressão de que o factor individual muito concorre para esses resultados, tal como pensam Weber e Taute; o factor especie tambem parece exercer importante papel no caso. As nossas tartarugas não apresentaram lesões de extensão tal que pudessem ser responsabilizadas pela morte desses animaes. As condições anormaes de vida por que passaram no laboratorio explicam melhor o desfecho lethal.

Para rãs e lagartos a pathogenicidade foi evidente, com a invasão de todos os organs e reproducção abundante do bacillo.

e) *Produção da tuberculina.* — Para o estudo da actividade da tuberculina preparada com o bacillo de Friedmann realizámos pesquisas comparativas com a tuberculina do typo humano, usando animaes de sangue quente e sangue frio, e provas sub-cutanea e intra-dermica.

Para o preparo da tuberculina usámos cultura de 40 dias em caldo glicerinado a 5 %, mantida a 26°. Concentrámos em banho-maria até reduzir de 10 vezes o volume primitivo.

Para as provas por via sub-cutanea, a tuberculina foi usada em natureza e injectada na dóse de 1cc. e para as provas por via intra-dermica foi diluida a 1/10 e inoculada na dóse de 0,1 cc..

Nesta parte do nosso estudo daremos sómente os resultados obtidos com a tuberculina preparada com o bacillo de Friedmann e com o bacillo tuberculoso do typo humano; em capitulo aparte, estudaremos as provas cruzadas que realizámos.

Os quadros 1 e 2 resumem os resultados dessas pesquisas.

O estudo desses quadros mostra-nos que a tuberculina preparada com o bacillo de Friedmann se revelou activa para as rãs previamente inoculadas, matando-as em poucos minutos, enquanto que a rã testemunha supportou perfeitamente a acção toxica da tuberculina; á necropsia, os esfregaços feitos com a polpa dos organs das rãs III e VIII mostraram um grande numero de bacillos, donde se explica a hyper-sensibilidade que apresentaram esses animaes. O mesmo não se verificou, ainda no grupo de animaes pecilotermicos, com a giboia II que, como a testemunha, resistiu á tuberculina, mas, á necropsia, os esfregaços dos organs revelaram poucos bacillos, embora os ganglios apresentassem um grande numero delles.

Em animaes de sangue quente inoculados com o bacillo de Friedmann o effeito é pequeno, comparativamente com o que se costuma obter em animaes inoculados com o b. de Koch e ensaiados com a tuberculina do typo humano. Por via intra-dermica, por vezes, obtêm-se resultados mais accentuados, nos 2 primeiros mezes em seguida á inoculação de bacillos. Do terceiro para o quarto mês, as provas são todas negativas.

Dos animaes inoculados com o bacillo de Koch, um apresentou reacção fraca e outro morreu em 18 horas, na prova por via sub-cutanea, enquanto que nas provas por via intra-dermica os resultados foram na maioria negativos.

Mais adeante e comparativamente com os resultados das provas cruzadas, estudaremos com maiores elementos a actividade da tuberculina preparada com o bacillo de Friedmann para animaes inoculados com o bacillo da tuberculose humana.

II — Relações do bacillo de Friedmann com o da tuberculose humana

Como justificativa para o emprego do bacillo de Friedmann como elemento preventivo e curativo da tuberculose humana, indispensavel seria a verificação experimental de qualquer possivel influencia deste micro-organismo na infecção tuberculosa experimental ou a presença de propriedades pathogenicas, embora attenuadas ou modificadas, mas que em todo caso auctorizassem aquella conclusão.

Estão hoje estudadas as condições em que se processa a immuidade na tuberculose. Certos processos pathogenicos precisam ser estabelecidos para que se manifeste a resistencia organica, que persistirá a despeito da involução daquelles processos, si outras condições tambem não influirem.

Differentes são, portanto, os meios de que se poderá lançar mão afim de se verificar a possibilidade da existencia de qualquer actividade antigenica em relação á tuberculose. Entre esses meios poderemos recorrer á pesquisa da pathogenicidade para animaes de laboratorio, onde a existencia de lesões, embora de natureza regressiva e attenuada, nos auctorize a pensar, não só na presença de processos que indiquem uma possivel relação de causa e effeito, mas ainda na evidencia de alguma acção immunizante contra a infecção. Tambem a verificação da acção cruzada ou não de tuberculinas nos pode dar indicações seguras sobre a existencia daquelles processos que provocam a formação dos anticorpos tuberculosos, apesar de estas provas, como hoje se sabe, não indicarem verdadeiramente uma immuidade. Finalmente, pode-se recorrer á prova de protecção do antigeno em relação á infecção experimental que pretende influenciar. Esta ultima prova, no caso da tuberculose e em virtude da extrema sensibilidade da cobaia não é decisiva, sómente o sendo quando praticada em determinadas condições, mas que poderá mostrar qualquer influencia si se levar em conta o tempo

de sobrevivencia dos animaes inoculados em relação ás testemunhas, nas mesmas condições.

Foram estes os meios de que lançámos mão para verificarmos a possibilidade de qualquer relação do bacillo de Friedmann com a infecção tuberculosa.

As pesquisas de anticorpos *in vitro* (agglutininas, anticorpos, fixadores do complemento) são desprovidas de valor para o nosso caso, pois é sabido que os acido-resistentes para-tuberculosos soffrem a acção desses anticorpos, de identica maneira que os bacillos da tuberculose dos mammiferos (Valtis, Nobain e Fried, Boquet e Negre, Verge, etc.).

a) *Resultado das inoculações e passagens.* — O bacillo de Friedmann não se mostrou pathogenico para os animaes de sangue quente ensaiados, mesmo com o emprego de doses elevadas (0,500 mgrs.) As lesões passageiras observadas, sempre localizadas, sem prejuizo algum para o estado geral do animal, lembram o quadro symptomatologico dos animaes inoculados com outros acido-resistentes de sangue frio, saprophytas e certos corpos extranhos que determinam apenas uma reacção local, com encystamento. Como estes, o bacillo de Friedmann é tambem a pouco e pouco destruido, eliminado ou absorvido pelo organismo.

Um ou outro nodulo que se possa formar num dos organs desses animaes, não parece, pelo menos por seu aspecto macroscopico, interessar grandemente o parenchyma. Sua côr branco-acinzentada, brilhante, o seu destacamento facil, os seus esfregaços mostrando grande accumulo de bacillos, indicam uma possivel re-produção *in loco* do germe, o que distingue esses nodulos das verdadeiras formações tuberculosas. O facto de se observarem, em cortes histo-pathologicos, certas formações (cellulas gigantes) que lembram estes processos, não indica identidade, pois o mesmo se obtem, não só em estados pathologicos de origem diversa, como nos produzidos por outros acido-resistentes saprophytas e certos corpos extranhos.

A absorpção do bacillo ou a sua eliminação foi observada mais ou menos após 50 dias, observando-se, nesse periodo de tempo, uma grande phagocytose e alterações em lyse do bacillo, o que mostra a facil reacção organica do animal, cujo estado geral não chega a ser abalado. Isto ainda mais se affirma com os resultados das provas de allergia, que, praticadas após 3 meses da inoculação, foram completamente negativas á tuberculina homologa, sabido como é hoje que ellas estão em relação estreita com o tecido tuberculoso.

Os ensaios de augmento de virulencia do bacillo por passagens em animaes não nos deram resultados positivos. As cobaias 221 e 452 foram inoculadas com o pús repleto de bacillos dos abcessos locaes produzidos nas cobaias 323 e 53, respectivamente, e nenhuma alteração apresentaram, nem mesmo perda de peso, durante um longo periodo de observação, o que nos faz pensar que a desintegração e eliminação do bacillo continuaram a ser processadas no organismo dos novos hospedeiros, como vinha sendo feita no organismo dos anteriores.

QUADRO Nº 1

PROVA SUB-CUTANEA com a Tuberculina do B. de <i>Friedmann</i>								
	Animaes	Bacillos inoculados			Tuberculina		Resultados	Observações
		Dose	Via	Data	Dose	Data		
Animaes inoculados com o bacillo de <i>Friedmann</i>	Cobaia 323	0,500	sub-cut.	23/1/30	1cc	12/3/30	+	
	” 434	0,100	periton.	”	”	31/3/30	+	
	” 263	0,100	testicu.	”	”	”	+	
	” 7	0,001	periton.	”	”	16/3/30	⊖	
	Rã III	0,001	—	”	”	12/3/30	†	† em 20 minutos
	” VIII	0,050	—	25/2/30	”	”	†	† em 30 minutos
	Güboia II	0,100	—	23/1/30	”	”	⊖	
Animaes inoculados com o bacillo da Tuberculose humana	Cobaia 291	0,002	periton.	3/3/30	1cc	16/3/30	+	
	” 34	0,002	”	”	”	”	†	† em 18 horas
Animaes normaes	Cobaia 244	—	—	—	1cc	16/3/30	⊖	
	” 250	—	—	—	”	12/3/30	⊖	
	Güboia V	—	—	—	”	”	⊖	
	Rã X	—	—	—	”	”	⊖	

LEGENDA

⊖ = Negativo

+ = Reacção thermica não ultrapassando de 1 gráo

† = Morte

QUADRO N.º 2

<p style="text-align: center;">PROVA INTRA-DERMICA com a Tuberculina do B. de <i>Friedmann</i></p>								
	Animaes		Bacilos inoculados			Tuberculina a 1/6		Resultados
			Dose	Via	Data	Dose	Data	
Animaes inoculados com o bacillo de <i>Friedmann</i>	Cobaia	72	0,500	sub-cut.	23/1/30	0,1	20/3/30	+
	"	440	"	periton.	"	"	"	+
	"	483	0,100	sub-cut.	"	"	"	+
	"	55	"	"	"	"	"	+ + +
	"	359	"	periton.	"	"	"	+
	"	187	"	testicu.	"	"	"	+
	"	22	0,001	sub-cut.	"	"	"	+
	"	123	"	testicu.	"	"	"	+ +
	"	208	"	sub-cut.	"	"	"	+
	"	480	0,100	"	"	"	19/3/30	⊖
	"	265	"	testicu.	"	"	"	⊖
	"	2	0,0001	sub-cut.	"	"	"	⊖
	"	477	Pis gib. 1	"	13/2/30	"	20/3/30	⊖
	"	221	Pis cobas	"	28/1/30	"	"	⊖
"	452	Pis cobas	"	"	"	"	⊖	
Animaes inoculados com o bacillo da Tuberculose humana	Cobaia	405	0,002	sub-cut.	7/3/30	0,1	20/3/30	+
	"	37	"	periton.	"	"	"	⊖
	"	150	0,0025	"	26/3/30	"	19/3/30	⊖
	"	465	0,0005	sub-cut.	24/4/30	"	"	⊖
	"	328	"	"	"	"	"	⊖
	"	158	"	"	"	"	"	⊖
	"	405	0,002	"	7/3/30	"	"	⊖
Animaes normaes	Cobaia	278	—	—	—	0,1	20/3/30	⊖
	"	453	—	—	—	"	"	⊖

LEGENDA

- ⊖ = Negativo
- ± = Duvidoso (ligeiro edema e ligeira vermelhidão nas 24 hs.)
- + = Ligeiramente positivo (ligeiro edema e ligeira vermelhidão nas 48 hs.)
- + + = Positivo (vermelhidão e edema nas 72 hs.)
- + + + = Francamente positivo (edema, vermelhidão, escara nas 96 hs.)

L. G. G. G.

A ausencia de papel pathogenico, pois, do bacillo de Friedmann para os animaes de sangue quente, á luz das nossas verificações, não pode ser posta em duvida. A sua innocuidade é manifesta, não chegando a alterar o estado geral do animal, o que deve estar ligado á sua avirulencia e atoxicidade. As lesões nodulo-suppurativas, sempre semelhantes ás dos corpos extranhos mal reabsorvidos, parecem effeito de uma irritação mecanica devida á enorme massa de bacillos inoculados, ou de uma irritação chimica devida ás substancias proteicas e lipoidicas dos corpos bacillares (Collo).

b) *Comportamento dos animaes infectados com os bacillos da tuberculose humana, com bacillos de Friedmann e com B. C. G., em relação ás tuberculinas do bacillo da tuberculose humana e de Friedmann.* — As nossas verificações foram realizadas em 4 grupos de animaes: 1) animaes inoculados com o bacillo de Friedmann; 2) animaes inoculados com o bacillo da tuberculose humana; 3) animaes inoculados com o B. C. G.; 4) animaes normaes. Cada um desses grupos foi experimentado em relação ás tuberculinas preparadas com o bacillo de Friedmann e com o bacillo da tuberculose humana. Foram feitas experiencias por via sub-cutanea, injectando-se 1cc. das tuberculinas concentradas, e usando-se, por via intra-dermica, as tuberculinas concentradas diluidas a 1/10 e na dose de 0,1cc..

Os quadros 3 e 4 resumem os resultados obtidos com essas provas.

Do estudo desses resultados, que confirmam as verificações de L. Lange, Furth, Meyer, B. Lange, Dietrich, Selter, etc., podem-se tirar as seguintes conclusões:

a) *provas por via sub-cutanea:* 1) os animaes de sangue frio inoculados com o bacillo de Friedmann reagem á tuberculina de Friedmann; 2) os animaes de sangue quente inoculados com o bacillo de Friedmann reagem fracamente á tuberculina de Friedmann, mas não reagem á tuberculina humana; 3) os animaes de sangue quente inoculados com o bacillo da tuberculose humana reagem á tuberculina de Friedmann;

b) *provas por via intra-dermica:* 1) as cobaias inoculadas com o bacillo de Friedmann não reagem á tuberculina humana, mas reagem, em sua maioria fracamente, á tuberculina de Friedmann; 2) as cobaias inoculadas com o bacillo da tuberculose humana e com o B. C. G. reagem fortemente á tuberculina humana, mas não reagem, ou reagem fracamente, á tuberculina de Friedmann.

A tuberculina preparada com o bacillo de Friedmann mostra-se para os animaes inoculados com o bacillo de Koch menos activa do que a tuberculina preparada com o bacillo tuberculoso typo humano e bovino. Essa differença de actividade tem sido verificada por varios experimentadores (L. Lange e outros) e, neste particular, o bacillo de Friedmann se identifica com outros acido-resistentes de sangue frio, segundo as verificações que têm sido realizadas por Weber,

Loewenstein, Ramon e Ravaud, etc., afastando-se, assim, dos bacillos da tuberculose dos mamíferos. Nas nossas verificações, quando foram usadas grandes doses (prova por via sub-cutanea), os animaes inoculados com o bacillo de Koch reagiram á tuberculina de Friedmann, mas os animaes inoculados com o bacillo de Friedmann não reagiram á tuberculina humana. Nas provas por via intradérmica foram muito mais accentuadas essas differenças: enquanto que os animaes inoculados com o bacillo da tuberculose humana reagem fortemente á tuberculina do typo Koch e quasi não reagem ou não reagem á tuberculina do bacillo de Friedmann, os animaes inoculados com o bacillo da tuberculose da tartaruga reagem fracamente á tuberculina homologa e não reagem á tuberculina heterologa. Estas provas mostram-nos a differença frisante entre o bacillo de Friedmann e o bacillo de Koch, e, ainda, o parentesco do B. C. G. a este ultimo germe. Si, como quer Friedmann, o bacillo da tuberculose da tartaruga nada mais é que o bacillo de Koch adaptado ao organismo da tartaruga, elle deveria dar um producto tuberculínico que evidenciasse uma proximidade cabal desse germe ao de Koch e é, justamente, o que se não verifica, pois: a) os animaes inoculados com o bacillo de Friedmann não reagem á tuberculina heterologa que, na hypothese, é de effeito muito mais toxico; b) os animaes inoculados com o bacillo de Koch só reagem ás grandes doses da tuberculina heterologa, tal como se dá com as chamadas para-tuberculinas; c) a ausencia do papel nosogenico para animaes de sangue quente por adaptação ao organismo da tartaruga si revela perda de uma das propriedades do bacillo de Koch não é comtudo um argumento a favor da hypothese da adaptação, pois o B. C. G. que tambem não é nosogenico responde francamente á tuberculina de Koch; d) si, ainda, o bacillo de Friedmann provoca na cobaia, como diz o seu descobridor, lesões passageiras e regressivas semelhantes ás do bacillo de Koch (sendo aquelle bacillo nada mais que o da tuberculose humana adaptado ao organismo da tartaruga) com maior razão deveria dar provas allergicas positivas em face á tuberculina humana, pois esta é de effeito sempre maior, tal como se verifica com o B. C. G., que tambem produz lesões passageiras e regressivas.

Estas provas experimentaes, tão evidentes, afastam de uma maneira frisante o bacillo da tuberculose humana do bacillo da tuberculose da tartaruga, ou, melhor, do bacillo estudado por Friedmann.

c) *Comportamento das cobaias inoculadas com o bacillo de Friedmann em relação á infecção tuberculosa experimental.* — Friedmann, em sua segunda publicação, refere resultados, por elle obtidos, de immunização de cobaias pelo bacillo da tuberculose da tartaruga e submettidas posteriormente á prova de infecção pelo bacillo da tuberculose humana (dose infectante de 0,001 grs. e 0,003 grs., por via peritoneal). Esses resultados não foram confirmados por outros experimentadores, acreditando alguns, entretanto, em uma maior sobrevivencia das cobaias vaccinadas em relação ás testemunhas, tal como é

QUADRO N^o 3

PROVA SUB-CUTANEA

com
as Tuberculinas Humana e do B. de Friedmann

	N ^{os} ANIMAES	INOCULAÇÕES BACILOS			TUBERCULINAS			RESULTADOS COM A TUBERCULINA		OBSERVAÇÕES
		DOSE em cc	VIA	DATA	FRIEDMANN DOSE	HUMANA DOSE	DATA	FRIEDMANN	HUMANA	
EXPERIENCIAS EM ANIMAES INOCULADOS COM O BACILLO DE FRIEDMANN	COBAIA 323	0,500	subcut.	23/1/30	1cc	—	12/3/30	+	—	
	• 434	0,100	periton.	•	•	—	31/3/30	+	—	
	• 263	0,100	testicu.	•	•	—	31/3/30	+	—	
	• 7	0,001	periton.	•	•	—	14/4/30	0	—	
	RÃ III	0,001	—	•	•	—	12/3/30	±	—	± em 20 minutos
	• VIII	0,050	—	25/2/30	•	—	•	±	—	± em 30 minutos
	GIBOIA II	0,100	—	23/1/30	•	—	•	0	—	
	COBAIA 81	0,500	periton.	•	—	1cc	24/2/30	—	0	
	• 480	0,100	subcut.	•	—	•	31/3/30	—	0	
	• 468	0,100	testicu.	•	—	•	•	—	0	
	• 182	0,001	subcut.	•	—	•	16/4/30	—	0	
	RÃ II	0,001	—	•	—	•	12/3/30	—	0	
BOIPEVA II	0,100	—	•	—	•	•	—	±	± em 48 horas	
EXPERIENCIAS EM ANIMAES INOCULADOS COM O BACILO DA TUBERCULOSE HUMANA	COBAIA 291	0,002	periton.	7/3/30	1cc	—	16/4/30	+	—	
	• 37	0,002	periton.	•	•	—	26/3/30	±	—	± em 18 horas
	• 365	0,001	subcut.	28/1/30	—	1cc	7/3/30	—	±	± em 16 horas
	• 405	0,002	subcut.	7/3/30	—	•	16/4/30	—	+++	
EXPERIENCIAS EM ANIMAES NORMAES	COBAIA 250	—	—	—	1cc	—	12/3/30	0	—	
	• 244	—	—	—	•	—	16/4/30	0	—	
	• 493	—	—	—	—	1cc	7/3/30	—	0	
	• 334	—	—	—	—	•	16/4/30	—	0	
	GIBOIA V	—	—	—	1cc	—	12/3/30	0	—	
	RÃ X	—	—	—	•	—	•	0	—	

LEGENDA:

- 0 = negativo
 + = Reacção térmica não ultrapassando de 1 grau centigrado
 ++ = Reacção térmica de 1 a 2 graus
 +++ = Reacção térmica ultrapassando de mais de 2 graus
 ± = Morte

QUADRO N: 4

PROVA INTRADERMICA
com as
Tuberculinas do B. de Friedmann e Humana

	NÚMEROS DOS ANIMAES	INOCULAÇÕES DE BACILLOS			DATA DA INOCULAÇÃO DO TUBERCULO	RESULTADOS A TUBERCULINA		OBSERVAÇÕES
		DOSE	VIA	DATA		FRIEDMANN	HUMANA	
EXPERIÊNCIAS EM ANIMAES INOCULADOS COM O BACILLO DE FRIEDMANN	COBAILA 477	0,500	SUB-CUTANEA	22-11-30	20-3-30	0	0	
	72	0,500	"	"	"	±	0	
	440	0,500	PERITONEAL	"	"	±	0	
	452	0,100	SUB-CUTANEA	"	"	0	0	
	483	0,100	"	"	"	±	0	
	53	0,100	"	"	"	+++	0	
	559	0,100	PERITONEAL	"	"	±	0	
	147	0,100	TESTICULAR	"	"	+	0	
	22	0,001	SUB-CUTANEA	"	"	±	0	
	123	0,001	TESTICULAR	"	"	++	0	
	203	0,0001	SUB-CUTANEA	"	"	±	0	
	430	0,100	"	"	19-3-30	0	0	
	243	0,100	TESTICULAR	"	"	0	0	
	2	0,0001	SUB-CUTANEA	"	"	0	0	
	221	0,100	"	"	"	0	0	
	452	0,100	"	"	"	0	0	
	477	0,100	"	"	"	0	0	
	COELHO 426	0,100	VENOSA	"	23-3-30	0	0	
	304	0,001	"	"	23-3-30	0	0	
EXPERIÊNCIAS EM ANIMAES INOCULADOS COM O BACILO DA TUBERCULOSE HUMANA	COBAILA 445	0,002	SUB-CUTANEA	7-3-30	20-3-30	±	+++	
	37	0,002	PERITONEAL	7-3-30	20-3-30	0	+++	
	150	0,0025	"	20-3-30	19-5-30	0	+++	4 ^o dia
	465	0,0005	SUB-CUTANEA	24-4-30	19-5-30	0	+++	1 ^o dia
	328	0,0005	"	24-4-30	19-5-30	0	+++	
	158	0,0005	"	24-4-30	19-5-30	0	+++	
	405	0,002	"	7-3-30	19-5-30	0	++	
	11	0,00001	SUB-CUTANEA	2-2-30	20-3-30	0	+	
	103	0,001	"	12-2-30	"	0	++	
	423	0,01	"	12-2-30	"	±	+++	
EXPERIÊNCIAS EM ANIMAES INOCULADOS COM O B.C.G.	340	0,01	TESTICULAR	12-2-30	"	±	++	
	243	0,03	SUB-CUTANEA	12-2-30	"	+	++	
	251	0,03	PERITONEAL	12-2-30	"	±	+++	
	405	0,0001	SUB-CUTANEA	5-3-30	19-5-30	0	++	
	340	0,01	TESTICULAR	12-2-30	"	0	0	
	211	0,03	SUB-CUTANEA	12-2-30	"	0	++	
	251	0,03	PERITONEAL	12-2-30	"	0	+	
	COBAILA 278				20-3-30	0	0	
	953				20-3-30	0	0	

LEGENDA

- 0 = NEGATIVO
- ± = LIGERAMENTE POSITIVO (LIGERAS ESTIMAS E LIGERAS REACÇÕES NAS 24 HORAS)
- +
- ++ = POSITIVO (REACÇÕES E ESTIMAS NAS 72 HORAS)
- +++ = FORTISSIMO POSITIVO (FORTES REACÇÕES, ESTIMAS NAS 72 HORAS)

obtido com animaes vaccinados com outros acido-resistentes de animaes de sangue frio, mas todos perecendo finalmente de tuberculose generalizada.

Neufeld, tratando desse ponto, assim se refere: "O que está verificado com toda a segurança é que a amostra de Friedmann possui sempre a mesma virulencia diminuta e sempre a mesma minima capacidade protectora em ensaios de immunização, em condições perfeitamente eguaes ás de outros acido-resistentes isolados de pecillothermicos ou de qualquer material. O cultivo artificial em nada lhe alterou as propriedades".

E' sabida a grande sensibilidade da cobaia para o bacillo da tuberculose humana. As provas de immunização nesses animaes podem, em todo caso, ser baseadas no tempo de sobrevivencia em relação ás cobaias testemunhas. As doses do bacillo infectante devem, do mesmo modo, ser minimas e a via de inoculação escolhida. Como era o nosso intuito o de revisão das experiencias de Friedmann, procurámos nos approximar o mais possivel das condições em que se collocou. E assim é que foram usados animaes vaccinados por uma unica inoculação, em differentes doses, e a prova infectante por via peritoneal (0,0025) e por via sub-cutanea (0,0005). Concomitantemente procedemos á prova em animaes vaccinados pelo B. C. G., tambem por uma unica inoculação.

Os quadros 5 e 6 resumem os resultados.

Nos animaes que succumbem poucos dias após a inoculação infectante, notam-se lesões de pequena intensidade, o que não é para extranhar. Os que resistem mais tempo morrem sempre com os organs e ganglios completamente tomados.

No que diz respeito á maior sobrevivencia dos vaccinados em relação aos testemunhas, verificou-se, numa primeira serie de experiencias, que sómente 36,36% resistiram mais que aquelles, ao passo que 63,63% morreram no mesmo espaço de tempo. Em uma segunda serie de experiencias, os animaes recebendo a dose infectante de 0,0005 grs. por via sub-cutanea, 3 meses após a dose vaccinante, verificou-se que os animaes vaccinados morreram todos, enquanto que 33,33% apenas dos testemunhas pereceram no mesmo periodo.

O factor individual muito contribue nessas demonstrações e não nos é licito tirar deducções maiores sobre effeitos de immunização quando a maior parte dos animaes vaccinados perece em um periodo igual ás testemunhas. Si uma maior sobrevivencia existe, ella, como diz Neufeld, é minima. Alem disso, esse pequeno effeito protector constatado, é de pouca duração. Já no fim de 3 meses elle desaparece inteiramente.

DISCUSSÃO E SUMMARIO

Friedmann, ao lançar a sua vaccina preventiva e curativa da tuberculose, expoz varios argumentos que, no seu modo de pensar, justificavam, por si só, o emprego.

QUADRO N: 5

		62 DIAS APÓS A INOCULAÇÃO DO BACILLO W FRIEDMANN					36 DIAS APÓS A INOCULAÇÃO DO B. C. G.					TESTE MUNHAS			OBSERVAÇÕES		
		NUMEROS	DOSE VACCINANTE	VIA	DIAS DE SUBCUTANEA	GRÃO DE TUBERCULOSE	NUMEROS	DOSE VACCINANTE	VIA	DIAS DE SUBCUTANEA	GRÃO DE TUBERCULOSE	NUMEROS	DIAS DE SUBCUTANEA	GRÃO DE TUBERCULOSE			
COBIAS VACCINADAS COM OS BACILLOS DE FRIEDMANN E BCG POSTERIORMENTE INFECTADAS COM BACILLOS DA TUBERCULOSE HUMANA NAS DOSES DE		0,0025 VIA PERITONEAL					223	0,030	SUBCUTANEA	96	+++	355	16	++			
							423	0,100	"	56	++	151	5	+++			
							367	0,001	"	256	+++	384	18	+			
							22	0,001	"	119	+++	114	40	+++			
							136	0,0001	"	18	+	214	38	++++			
							203	0,0001	"	30	++	496	29	+++			
							167	0,100	TESTICULAR	251	+++	354	38	+++			
							123	0,001	"			150	59	++++			
							440	0,500	"								
							359	0,100	PERITONEAL								
							289	0,001	"								
								MEDIA									
										118			30,37				
		0,0005 VIA SUBCUTANEA		29 DIAS APÓS A INOCULAÇÃO DO BACILLO DE FRIEDMANN										TESTE MUNHAS			
									53	0,100	SUBCUTANEA	118	+++	465	27	+++	† para tuberculose
					182	0,001	"	112	++++	528	197	+++					
					468	0,100	TESTICULAR	42	+++	158	132	++++					
					476	0,001	"	84	+++								
					434	0,100	PERITONEAL	150	++++								
					7	0,001	"	79	+++								
						MEDIA		94,14			118,66						

LEGENDA

- + - LESÕES TUBERCULOSAS NO PONTO DE INOCULAÇÃO COM OU SEM LESÕES NOS GANGLIOS SATELITES. TUBERCULOSAS INCLASADAS NO BAÇO, FÍGADO OU PULMÃO
- ++ - TUBERCULOSE EM DOS OU TRES DOS ORGÃOS GERALMENTE ATRACADOS. TUBERCULOSE GANGLIONAR
- +++ - TUBERCULOSE GENERALISADA
- ++++ - TUBERCULOSE GENERALISADA ORGÃOS LARGAMENTE INFECTADOS, FENOMENOS ALLERGIOS, DEKRAMES NAS CAVIDADES ABDOMINAL E TORACICA, RUPTURA DO BAÇO

Partindo das idéas de Koch, que relacionou a immuniidade tuberculosa ao tecido tuberculoso, Friedmann acreditou que um bacillo por elle isolado de uma tartaruga tuberculosa (?) encerrava todas as condições de uma vaccina ideal, por isso que as suas propriedades eram as mais proximas possiveis das do bacillo da tuberculose humana, produzindo, entretanto, lesões ligeiras na cobaia, de character regressivo e sendo completamente atoxicos para esses animaes. Primitivamente do typo humano (?), o bacillo perdera as suas propriedades pathogenica, nosogenica e toxica por adaptação ao organismo da tartaruga.

As idéas de Friedmann não puderam ser confirmadas e uma grande pleiade de scientists de renome se tem insurgido na Alemanha contra o remedio, no qual não encontra bases scientificas que o recommendem.

Procurámos estudar experimentalmente alguns aspectos desta questão, hoje tão em ordem do dia entre nós.

Preliminarmente, assignalámos os trabalhos de Friedmann e seus principaes argumentos, como os argumentos que lhe têm sido oppostos por grande numero de observadores, citando, a este respeito, a bibliographia dos mais importantes trabalhos já realizados. Na parte verdadeiramente experimental do nosso trabalho, estudámos o bacillo de Friedmann que conseguimos isolar de uma empola de sua propria vaccina.

Sem qualquer prevenção a favor ou contra o emprego desse meio prophylactico e curativo da tuberculose na pratica corrente, nos cingimos a assignalar os nossos resultados experimentaes, procurando tirar delles os commentarios que fossem possiveis.

A nossa experimentação baseou-se, primeiramente, no estudo do bacillo isolado, seus caracteres morphologicos e biologicos, e, em segundo logar, na verificação das suas possiveis relações com o bacillo da tuberculose humana e com a infecção tuberculosa, baseando-nos nos resultados do comportamento dos animaes com elle inoculados em relação ás tuberculinas homologa e a preparada com o bacillo da tuberculose humana, assim como sobre o comportamento desses animaes em relação á infecção tuberculosa experimental.

Quanto á primeira parte do problema, ficaram bem evidenciadas as differenças entre o bacillo de Friedmann e o *Mycobacterium tuberculosis*. Estas differenças dizem respeito aos caracteres culturaes, biologicos e pathogenicos destes micro-organismos, embora apresentem certos pontos de contacto proprios a todos os do grupo dos acido- alcool-resistentes.

A verificação da pathogenicidade para os animaes de sangue quente e frio, por si só, é sufficiente para separal-os biologicamente. A hypothese de ter provindo do bacillo da tuberculose humana e que se tenha modificado em sua biologia e propriedades pela passagem na tartaruga, não se poderá apoiar pelos nossos resultados experimentaes. As lesões determinadas nos animaes de sangue quente, não se approximam das devidas ao germe tuberculoso, mesmo acceitando-se a hypothese invocada. Não se trata de lesões de aspecto seme-

lhante ao que se verifica na tuberculose (capazes de determinar immuniidade), mesmo de character attenuado e regressivo; porém o germe de Friedmann parece comportar-se como um corpo extranho, que se localiza geralmente, provocando reacções de defesa e que é, a pouco e pouco, destruido e eliminado pelo organismo.

Para certos animaes de sangue frio (rãs, lagartos) a sua pathogenicidade é evidente, havendo invasão do organismo e localização em certos organs; para outros, este effeito é pouco accentuado, como acontece para a propria tartaruga do mar, de onde fôra primitivamente isolado, segundo Friedmann.

Em relação á segunda parte do problema, e sobre o comportamento dos animaes inoculados com o bacillo de Friedmann em relação á tuberculina homologa e á tuberculina preparada com o bacillo de Koch, não se evidenciaram, a este respeito, resultados que auctorisassem a confirmação da hypothese de Friedmann. O bacillo estudado se comportou como outros acido-resistentes, sendo que os nossos resultados se approximaram dos já obtidos por Weber, Loewenstein, Ramon e Revaud, L. Lange, Dietrich, Selter, etc.

Sobre, finalmente, o comportamento dos animaes inoculados com o bacillo de Friedmann em relação á tuberculose experimental, ou, em outras palavras, sobre o seu valor antigenico para a tuberculose, os nossos resultados foram tambem negativos.

No que diz respeito á tuberculose, esta verificação do poder protector deve ser analysada sob reservas, com qualquer que seja o antigeno empregado, em virtude da extrema sensibilidade do animal de experimentação (cobaia) á tuberculose e por ser difficil nos collocarmos muito proximos das condições naturaes da infecção.

Nas nossas experiencias não nos procurámos collocar nestas ultimas condições, visto como apenas nos cingimos a repetir as experiencias do proprio Friedmann. Este havia verificado que uma só dose do seu bacillo era capaz de proteger as cobaias reinoculadas com doses de 0,001 a 0,003 grs. de bacillos tuberculosos virulentos que determinavam a morte das testemunhas em 18 a 30 dias.

Lançámos mão de differentes doses, algumas elevadas, e diversas vias para a introducção do bacillo de Friedmann. A titulo de comparação, foram tomadas cobaias normaes, testemunhas e cobaias inoculadas, em doses geralmente menores, com o B. C. G.. As doses infectantes do bacillo tuberculoso que empregámos foram de 0,0025 e 0,0005 grs., esta ultima menor que a usada por aquelle auctor.

Mesmo tomando-se como base para o indice de immuniidade ou de protecção o tempo de sobrevivencia em relação ás testemunhas, os nossos resultados não foram favoraveis para a serie de animaes inoculados com o bacillo de Friedmann.

Numa primeira serie de experiencias, com a dose infectante de 0,0025 grs. de bacillos tuberculosos o tempo de sobrevivencia das cobaias testemunhas foi em media de 30 dias, das inoculadas com o B. C. G. de 118 dias e de 71 dias das inoculadas com o bacillo de Friedmann; na segunda serie, porém, com a dose infectante de 0,0005, a sobrevivencia das testemunhas foi em media de 118 dias, ao passo que as inoculadas com o bacillo de Friedmann foi de 94 dias apenas.

Estudando, em relação ás testemunhas, os resultados destas duas series de experiencias, verifica-se na 1.^a serie (com 0,0025 grs. de bacillos infectantes): enquanto haviam morrido 100% das testemunhas num periodo de 60 dias, succumbiram 63,63% dos animaes inoculados com o bacillo de Friedmann e 42,85% dos inoculados com o B. C. G.; os restantes 36,36% inoculados com o Friedmann succumbiram e mais 28,56% dos animaes inoculados com o B. C. G. num periodo de 200 dias, permanecendo ainda vivos 28,56% dos B. C. G., que succumbiram, finalmente, num periodo de 260 dias. Na 2.^a serie (com 0,0005 de bacillos infectantes), enquanto que 33,33% das testemunhas normaes haviam succumbido num periodo de 130 dias, morreram 100% das inoculadas com o bacillo de Friedmann; as restantes 66,66% das testemunhas succumbiram num periodo de 160 dias. Os quadros publicados no texto dão melhor idéa e resumem os resultados que obtivemos.

Embora, como já deixámos assignalado, esta prova, nas condições em que foi feita, não auctorize conclusão sobre o valor immunizante do antigeno empregado, os nossos resultados confirmam os obtidos por Libbertz e Ruppel, Uhlenhuth, Schroeder, Kuchner, Aronson, Neufeld, etc., que verificaram que os animaes vaccinados apresentam apenas uma diminuta e passageira resistencia ao bacillo de Koch, tal como se observa nos animaes vaccinados com outros acido-resistentes de sangue frio.

CONCLUSÃO

Os nossos estudos experimentaes sobre um micro-organismo acido-resistente isolado da vaccina de Friedmann, encarado sob o ponto de vista de seus caracteres culturaes e biologicos, assim como sob o de suas reacções allergicas e propriedades immunizantes, não nos auctorizam a acreditar na possibilidade de exercer elle qualquer influencia propria, especialmente immunizante, sobre a *infecção tuberculosa experimental*.

ABSTRACT

In the course of an experimental investigation made of both the cultural and biological characteristics, and the immunizing properties and allergenic reactions of and acid-fast bacteria as isolated from Friedmann's bacterin (anti-

tuberculous vaccin) it has been found that there is no ground on which to justify any possibility of such a germ bearing any specific power on the experimental tubercle infection on which it also proved to be devoid of any immunizing property.

BIBLIOGRAPHIA

1. *Auché & Hobbs* — C. R. Soc. Biologie, sessão de 8/1/1898.
2. " " — C. R. Soc. Biologie, sessão de 30/10/1897.
3. *Aujesky, A.* — Centralbl. f. Bakt. Originale XLII:397.1906.
4. *Bataillon, Dubard & Terre* — C. R. Acad. Sciences CXXIV:1933.1897.
5. *Bertarelli, E. & Bocchia, I.* — Boll. Soc. M. Parma. Dez. 1910.
6. " " — Bull. Inst. Pasteur IX:208.1911.
7. *Betegh, L. V.* — Centralbl. f. Bakt. Originale LIV:211.1910.
8. *Brauer, L.* — Deut. Med. Woch. XL:833.1914.
9. " — Deut. Med. Woch. XL:1019.1914.
10. *Baumann, E. J.* — Deut. Med. Woch. XL:1216.1914.
11. *Barnes, L. H.* — The Prov. Med. 1913 (cit. L. Lange)
12. *Bischoff & Schimtz* — Med. Klin. Woch. XXII:1135.1914.
13. *Beck, M.* — Tub. Arb. a. Kaiserl. Ges. Amt. XXIV:145.1907 (cit. L. Lange)
14. *Buschke* — Berl. Klin. Woch. LVIII:3.1921.
15. *Boquet, A. & Negre, L.* — C. R. Soc. Biologie LXXXVIII:1013.1923.
16. *Collo, G. P.* — Boll. Inst. Sierot. Mil. III:95.1924.
17. *Dostal, H. & Ender, Fr.* — Wiener Klin. Woch. XLIV:1121.1913.
18. *Dietrich, W.* — Deut. Med. Woch. XLVII:406.1921.
19. *Ehrlich* (relatorio de 4/VIII/1913) cit. L. Lange.
20. *Friedmann, F. F.* — Deut. Med. Woch. XXIX:464.1903.
21. " " — Deut. Med. Woch. XXIX:953.1903.
22. " " — Deut. Med. Woch. XXX:166.1904.
23. " " — Deut. Med. Woch. XXX:1673.1904.
24. " " — Berl. Klin. Woch. XLIX:2214.1912
25. *Fromme* — Med. Klin. Woch. XXII:1136.1914.
26. *Furth* — Zeitschr. f. Hyg. XCI:197.1920.
27. *Gottstein, E.* — Hyg. Rundschau :281.1905 (cit. L. Lange)
28. *Herzog* — Centralbl. f. Bakt. Originale XXXI:78.1912.
29. *Iansco & Elferbrangers* — Beitr. XVIII.1911 (cit. L. Lange)
30. *Jakobitz, K.* — Munch. Med. Woch. LVII:1172.1910.
31. *Klemperer, F.* — Zeit. f. Klin. XLVIII:250.1904.
32. *Kruse, W.* — Deut. Med. Woch. XLIV:147.1918.
33. *Kaufmann, K.* — Beitr. z. Klin. Tub. XXXII:249.1914.
34. " — Deut. Med. Woch. XL:1430.1914.
35. *Kirch, E.* — Arch. f. Hyg. LXXVIII:327.1913.
36. *Kolle, W. & Schlossberger, H.* — Deut. Med. Woch. XLVI:1381.1920.
37. *Lubarsh* — Centralbl. f. Bakt. Originale XXVII:710.1900.
38. *Lange, L.* — Zeit. f. Immunitätsf. XXXII:229.1924.
39. *Libbertz & Ruppel* — Deut. Med. Woch. XXXI:139.1905.

40. " " — Deut. Med. Woch. XXXI:182.1905.
41. *Lurie, M.* — Bull. Inst. Pasteur IX:682.1911.
42. *Moriya, G.* — Centralbl. f. Bakt. Originale XLV:294.1908.
43. *Moeller, A.* — Therap. d. Gegenwart LIV:125.1913 (cit. L. Lange)
44. " — Zeitschr. f. Tub. u. Heilst. — Wes. V:206.1904.
45. *Meinicke, E.* — Deut. Med. Woch XL:1372.1914.
46. *Meyer, S.* — Zeitschr. f. Hyg. XCVII:443.1923.
47. *Nicolas & Lesieur* — C. R. Soc. Biologie, sessão de 7/X/1899.
48. *Neumann, W.* — Wiener Klin. Woch. XLV:731.1914.
49. *Neufeld, F.* — Deut. Med. Woch. LVI:320.1930.
50. *Orth & Rabinowitsch* — Virchows Arch. Beihefts CXC:1.1907.
51. *Piorkowski, M.* — Deut. Med. Woch. XL:840.1914.
52. *Ramon & Ravaut* — C. R. Soc. Biologie, sessão de 28/5/1898.
53. *Rabinowitsch, L.* — Deut. Med. Woch. XXXII:866.1906.
54. " — Deut. Med. Woch. XL:686.1914.
55. " — Virchows Archiv Beihefts CXC:196.1906.
56. *Sion, V.* — Centralbl. f. Bakt. Originale XXVII:710.1900.
57. *Sorgo, J. & Suess, E.* — Centralbl. f. Bakt. Originale XLIII:422.1907.
58. " — Centralbl. f. Bakt. Originale XLIII:529.1907.
59. *Sorgo, J.* — Wiener Klin. Woch. XXXVIII:1126.1907.
60. *Schroder, G.* — Deut. Med. Woch. XLV:197.1919.
61. *Selter, H.* — Zeitschr. f. Hyg. XCV:197.1922.
62. *Schutz, W., Neufeld, F. & Miessner, H.* — Zeitschr. f. Hyg. LI:300.1905.
63. *Tsukiyama, K.* — Inaug. Diss. Gieszen. 1908 (cit. L. Lange).
64. *Ulenhuth, P. & Lange, L.* — Deut. Med. Woch. XLVI:1407.1920.
65. *Urbain, A. & Fried, B.* — Ann. Inst. Pasteur XXXIV:294.1921.
66. *Verge, J.* — C. R. Soc. Biologie LXXXVIII:185.1923.
67. *Valtis, J.* — C. R. Soc. Biologie LXXXVII:1030.1922.
68. *Westenhofer* — Berl. Klin. Woch. L:1245.1913.
69. *Windrath* — Med. Klin. Woch. XXII:926.1914.
70. *Weber, A.* — Arb. a. Kaiserl. Gesundheitsamt XIX:251.1902.
71. " — Centralbl. f. Bakt. Originale LXIV:240.1912.
72. *Weber & Taute* — Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamt XXII:110.1905.
73. *Weber & Titze* — Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamt XXIV:1.1907.
74. *Weber & Dieterlen* — Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamt XXV:217.1908.

(Trabalho da Secção de Virus e de Immunologia do Instituto Butantan, publicado como nota previa in Brasil Medico XLV (41): 949-953. 1931).

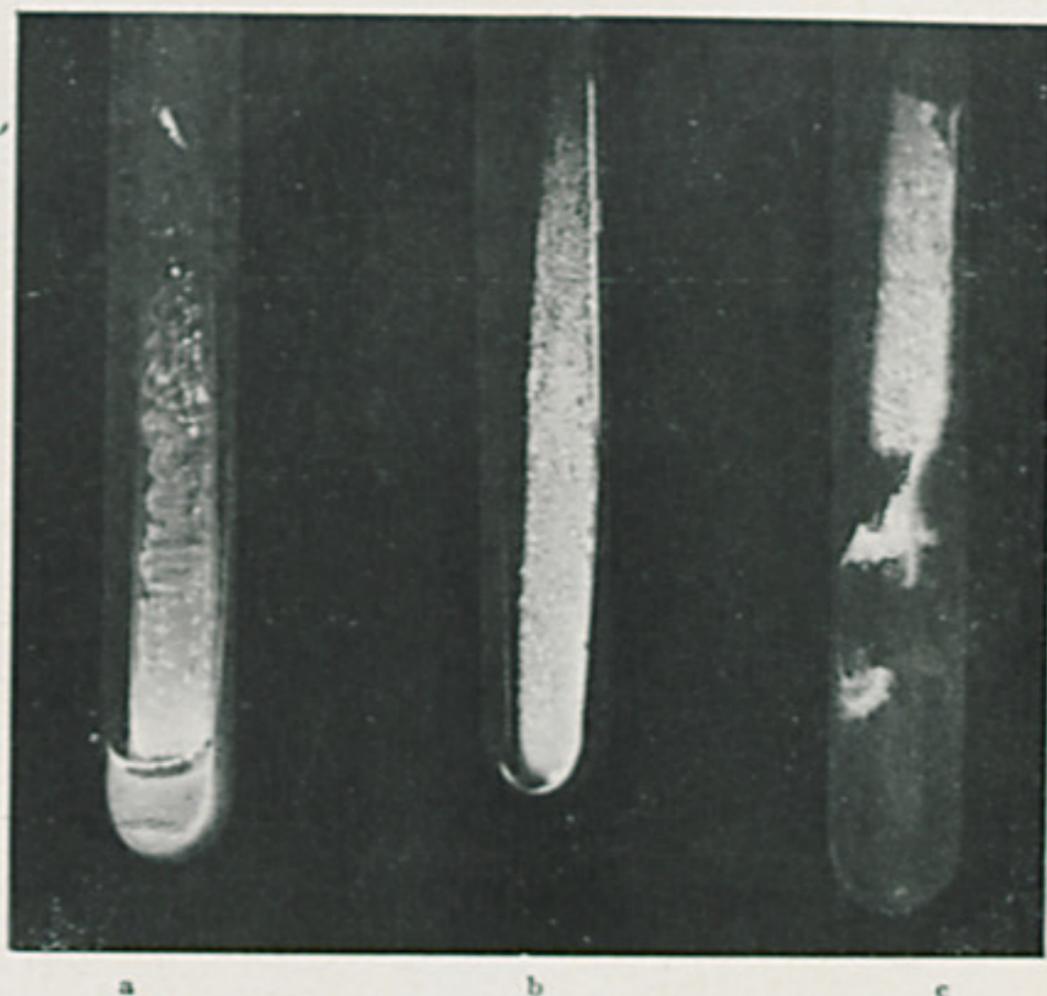


Fig. 1

- a) aspecto em melo ovo de Dorset à temperatura de 26°
 b) aspecto em gelose glicerinada à temperatura de 26°
 c) aspecto em bafata glicerinada, 1.ª sub-cultura, à temperatura de 26°

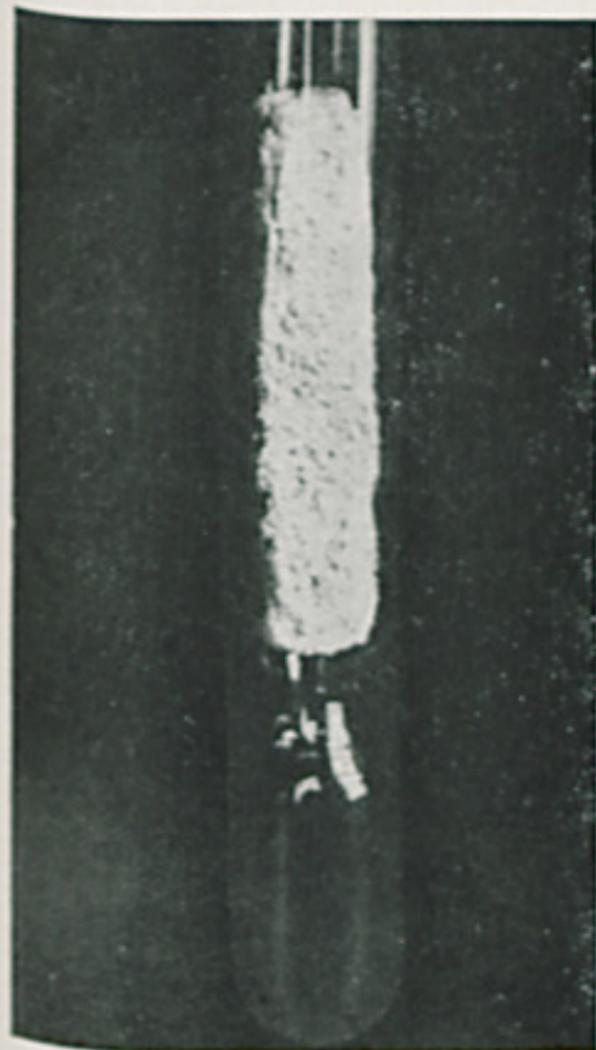


Fig. 2

Aspecto em batata glicerinada após a 3.ª sub-cultura, à temperatura de 37°



Fig. 3

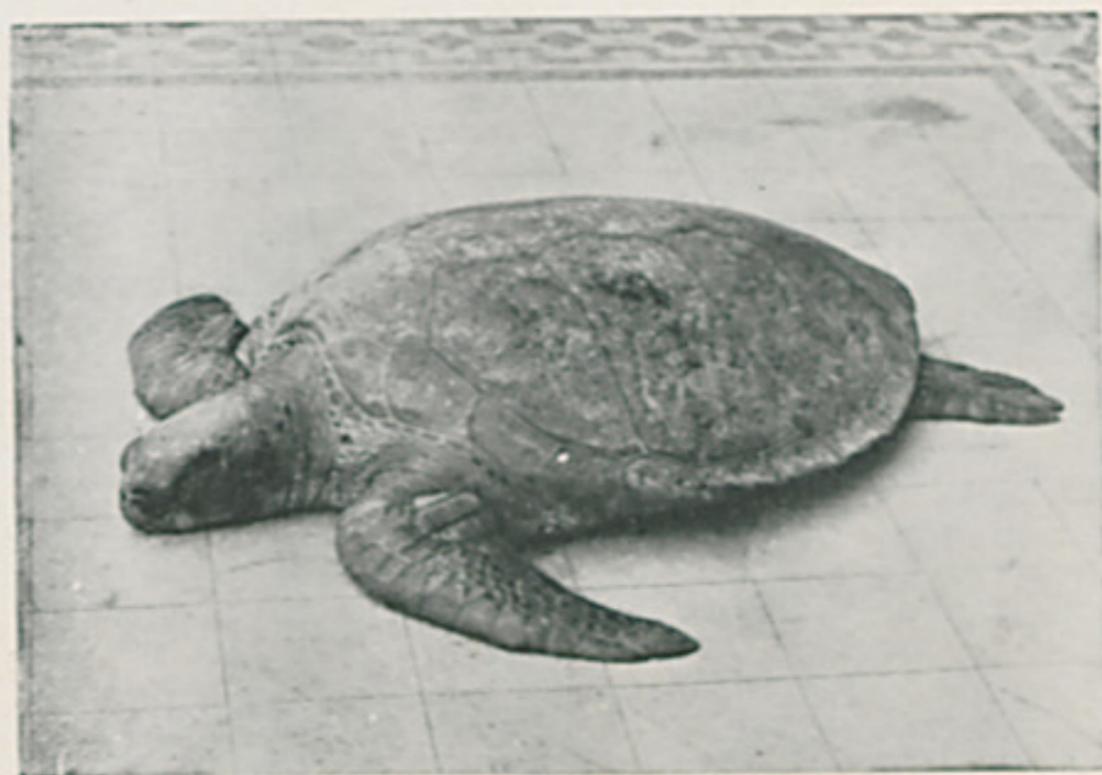
Aspecto em caldo glicerinado, à temperatura de 26°



Serpente (*Constrictor constrictor*) com lesões produzidas por inoculação do bacillo de Friedmann.



Rã (*Hyla faber*) com idênticas lesões



Tartaruga (*Chelone mydas*) das usadas nas inoculações.