

DA MENINGITE TUBERCULOSA

Diagnóstico bacteriológico — Frequência da meningite tuberculosa — O tipo de bacilo bovino em São Paulo

BRUNO RANGEL PESTANA

Assistente do antigo Instituto Bacteriológico — Chefe da Sub-divisão de Bromatologia e Química do Instituto Adolfo Lutz

A presença do bacilo de Koch no líquido céfalo raquidiano é o ponto principal, no qual repousa o diagnóstico da meningite tuberculosa. Da segurança da técnica e dos métodos empregados para sua pesquisa, quer no exame direto, quer na inoculação, ou dos meios de cultura usados para o seu isolamento, depende em grande parte o resultado do diagnóstico.

O diagnóstico da tuberculose pelo método da cultura do bacilo tem sido investigado por vários pesquisadores, com o fim de substituir o método de inoculação em cobaia, e diversos são os autores que têm obtido resultados favoráveis: Hohn, Carper, Cerruti, Loewenstein, Bezançon e Buc, Herrold, L. Costil e H. Saens.

Vários têm sido os sucessos obtidos por diferentes pesquisadores podendo, no entanto, ser divididas essas opiniões em 3 grupos: 1) Iguais resultados foram obtidos com cultura e inoculação; 2) melhores resultados foram obtidos com cultura que com inoculação; 3) melhores resultados foram obtidos com inoculação que com cultura.

O que não resta dúvida, porem, é que a inoculação é de real valor, mas que se torna um meio caro e que nem sempre está ao alcance de todos, ao contrário do método de cultura, que é mais barato e acha-se ao alcance de qualquer técnico. Além disso, os resultados alcançados por grande número de investigadores são tão satisfatórios que, no momento atual, o método de cultura torna-se um meio prático de aplicação diária na clínica para estabelecer um diagnóstico bacteriológico da tuberculose.

Diversos têm sido os meios recomendados por diferentes bacteriologistas, sendo que bons resultados têm sido relatados por grande número deles, com largo número de meios.

A escolha de um meio depende largamente da preferência individual dada pelo técnico. Várias são as suas fórmulas tendo por base ovo, leite, batata, diferentes matérias corantes, substâncias químicas diversas, hemoglobina e sangue.

Hohn foi quem introduziu o uso da hematina no meio de Lubenau, para o cultivo do bacilo da tuberculose. Verificou que a hemoglobina favorecia o desenvolvimento do bacilo, principalmente o do tipo bovino, classificando este como hematinófilo e o humano como glicerófilo.

Bezançon e Griffin (1899) foram os que primeiro empregaram o meio de agar sangue glicerinado para a cultura do bacilo da tuberculose. Clough (1918) empregou agar extrato de sangue como meio para cultura do bacilo de Koch.

E. Buc (1930) empregou a gelose peptonada e glicerinada, com sangue, segundo a fórmula de Bezançon e Griffin, para o isolamento do bacilo da tuberculose em líquidos da pleura, com bons resultados. L. Mishlow (1932) demonstrou o interesse que representa o meio de Bordet Gengou para cultura do bacilo de Koch, e, mais particularmente, para o isolamento do tipo bovino.

Galton (1937) usou o meio de Clough, para substituir o sangue humano por 5% de sangue citratado de coelho. Achou que os melhores meios eram o agar extrato de sangue e o de Petragnani.

C. Gemez, P. Crampon e Graux (1938), confirmaram os trabalhos de Mishlow, usando, sistematicamente, durante três anos o meio de Bordet Gengou, verificando que além de ser um bom meio para cultura do tipo bovino, tem a grande vantagem de sua simplicidade na preparação, o que possibilita o uso de meio sempre fresco.

Durante quatro anos vimos usando para a cultura do bacilo da tuberculose, no isolamento do líquido céfalo-raquidiano, o meio de agar sangue de coelho ou o de agar chocolate. Esses meios, além de serem de fácil preparação, são usualmente empregados nos laboratórios, tendo a vantagem de servirem para as pesquisas de outros germes que podem também ser encontrados com frequência nos líquidos céfalo-raquidianos.

A técnica seguida por nós foi a seguinte:

Depois de centrifugado o líquido, nunca menos de uma hora, e com a velocidade de 3.000 rotações por minuto, fazíamos algumas preparações do sedimento, que, depois de coradas, eram examinadas.

Queremos salientar que o resultado do exame direto depende, em grande parte, não só da centrifugação, como do tempo levado para se pesquisar cada lâmina. Quanto maior fôr o tempo de centrifugação, a sua velocidade e o exame das lâminas, maiores probabilidades teremos nos resultados dos exames. Havendo depósito de fibrina no líquido poderá o bacilo ser pesquisado no floco que se forma, tendo sido observado por nós, como verificaram outros autores, como De Santes Momald e F. Natoli, que, deixando-se o líquido à temperatura do laboratório durante 18 a 24 horas, forma-se, quasi sempre, um floco de fibrina, onde poderá ser pesquisado o bacilo.

O restante do centrifugado, novamente misturado ao líquido, era semeado nos meios de agar sangue, agar chocolate, meio de Loewenstein com e sem tomate, e meio de Petraghani com cêra ou sem cêra. Usámos também os meios de Loewenstein com e sem glicerina e também sem o verde malachita.

Os meios de Loewenstein e de Petraghani por nós usados, foram preparados segundo as fórmulas recomendadas por Mac Nabbe e M. Brown. Deixámos de usar o verde malachita no meio de Loewenstein, por termos observado que essa substância impede o crescimento do bacilo de Koch.

Quando os tubos, depois de semeados e de terem ficado na estufa a 37°C. durante 48 horas para ser feita a pesquisa de meningococos, pneumococos e bacilos de Pfeiffer, eram negativos para esses germes, eram parafinados e levados novamente à estufa a 37°C., onde ficavam por 3 meses em observação.

As nossas pesquisas foram feitas não só com o fim de experimentarmos alguns meios de cultura, mas também para verificarmos a frequência do tipo bovino em São Paulo. Tivemos ocasião de proceder à cultura de líquidos céfalo-raquidianos, enviados ao Instituto Bacteriológico de São Paulo, tendo sido encontrado o bacilo de Koch em 172, do modo seguinte:

	<i>Exame direto</i>	<i>Cultura</i>	<i>Total</i>
Em 1934	13 positivos	9	22
" 1935	17 "	14	31
" 1936	19 "	19	38
" 1937	25 "	14	39
" 1938	28 "	14	42
Total	102 "	70	172

Dos 102 positivos no exame direto, fizemos cultura de 54; foram todas positivas.

Damos, então, abaixo, o total de culturas obtidas:

	<i>Exame direto neg. e cultura positiva</i>	<i>Exame direto e cultura positivos</i>	<i>Total</i>
Em 1934	9	4	13
" 1935	14	8	22
" 1936	19	4	23
" 1937	14	22	36
" 1938	14	16	30
Total	70	54	124

Empregando o método de cultura, obtivemos, pois, mais 40% de resultados positivos, que haviam sido negativos pelo exame direto.

O resultado de cinco anos (1934 a 1938) de observações feitas foi o seguinte, comparando com outros meios de cultura, os de Loewenstein e de Petragnani, aconselhados como dos melhores para isolamento e cultura do bacilo da tuberculose.

Dos líquidos semeados obtivemos cultura de 124, sendo 108 em meio de agar sangue, 97 em meio de agar chocolate e 81 em meio de Loewenstein.

Eis a porcentagem de isolamento por nós obtida com os diversos meios empregados:

Agar sangue de coelho	87,0%
Agar chocolate de sangue de coelho	78,2%
Loewenstein com glicerina	65,3%
Petragnani com glicerina	25,0%

Usando, porem, o meio de Loewenstein e o de Petragnani, sem glicerina, o resultado obtido por nós foi o seguinte:

Agar sangue de coelho	91,1%
Agar chocolate sangue de coelho	85,3%
Loewenstein sem verde malachita	88,2%
Petragnani	58,6%

Quanto ao tempo de crescimento das culturas, foi o seguinte:

Em 20 dias	2
Em 25 dias	6
Em 30 dias	35
Em 40 dias	26

Em 45 dias	18
Em 60 dias	28
Em 75 dias	9
	<hr/>
Total	124

As culturas do tipo humano apareciam de 20 a 60 dias, enquanto que, as do tipo bovino levavam sempre 60 dias ou mais.

Dos resultados obtidos por nós vemos que o meio de agar sangue de coelho foi o que maior número de culturas nos deu, tanto para o tipo humano como para o bovino (91,1%), vindo, depois, o agar chocolate (85,3%) e em seguida o meio de Loewenstein com 65,3% e o de Petragnani com 25,0%.

O meio de Loewenstein, sem glicerina e sem o verde malachita nos deu uma porcentagem maior de resultados positivos (88,2%) do que com glicerina (65,3%).

Não conseguimos com o meio de Petragnani os mesmos resultados obtidos por seu autor e outros pesquisadores, pois só obtivemos cultura nesse meio sem glicerina em 58,6% dos casos e com glicerina em 25,0%.

Para a determinação do tipo de bacilo, seguimos a seguinte técnica:

Sempre que obtínhamos uma cultura partindo diretamente do produto inoculado, as culturas de desenvolvimento eugônicos, rugosos, eram estabelecidas pelo aspecto, sem recorrermos à prova biológica; diagnosticávamos bacilo humano, fazendo, no entanto, os transplantes em outros meios para confirmação definitiva.

As colônias de desenvolvimento disgônico, colônias lisas e que não cresciam em subculturas em meios glicerinados, é que inoculávamos em coelhos.

A identificação dos tipos humanos e bovinos, das raças isoladas, foi feita tendo em conta em primeiro lugar as características das culturas e das subculturas em meios diferentes, glicerinados.

As colônias dificilmente emulsionáveis, tendo em menos de 5 semanas atingido o seu pleno desenvolvimento de forma característica, de verruga, superfície seca, eram dadas como do tipo humano. Nos casos atípicos e duvidosos, a inoculação foi feita em animais, para estabelecer o tipo.

As colônias disgônicas, lisas, aderentes ao meio de cultura, emulsionando facilmente na solução fisiológica, que transplantadas para os meios glicerinados não davam, mesmo depois de repicadas

nesse meio de cultura, senão desenvolvimento muito lento e eram patogênicas para os coelhos, eram classificadas como do tipo bovino. As culturas, quando semeadas em meio líquido, não formavam véu na superfície, mas cresciam na profundidade.

A diferenciação das nossas culturas em tipos bovinos e humano foi feita por culturas e inoculação endovenosa em coelhos. O diagnóstico diferencial de eugônicas e disgônicas das raças foi feito em meios glicerinados e sem glicerina. O meio de batata glicerinado foi para nós o de maior valor na diferenciação, conforme haviam já observado John Blacklock e Mary A. Griffin (1935), Park e Krumwied (1910) e Griffith (1934) os quais notaram que a batata glicerinada era o meio que dava mais uniforme resultado diferencial entre o tipo bovino e o humano. Usámos também o meio de Petraghani com cêra.

Para isolamento do bacilo da tuberculose o meio que deu melhor resultado, quer para a tipo humano, quer para o tipo bovino, foi o de agar sangue de coelho, o qual além de dar maior número de culturas positivas em comparação com os outros meios, tem ainda a vantagem de sua simplicidade e da facilidade de se obter no laboratório.

Todas as culturas de tipo bovino por nós isoladas foram sempre de agar sangue de coelho ou de agar chocolate sangue de coelho. Somente 3 foram isoladas também do meio de Loewenstein sem glicerina e verde de malachita e uma única vez de meio de Petraghani sem glicerina. Todas as colônias eram lisas, aderentes ao meio, emulsionando facilmente em solução fisiológica, não crescendo em batata glicerinada quando transplantadas para esse meio, dando no meio de Loewenstein e no de Petraghani com glicerina, quando cresciam, desenvolvimento muito lento.

O meio de Loewenstein, mesmo sem glicerina e matéria corante, é muito bom para o isolamento do tipo humano, mas desfavorável para o isolamento do tipo bovino, pois falha o crescimento, que só se verifica quando transplantado de outros meios.

Tivemos ocasião de isolar 16 vezes o bacilo da tuberculose bovina, que identificámos pelos seus caracteres culturais e por ser patogênico para coelho em injeções venosas, produzindo tuberculose generalizada. Algumas colônias, disgônicas, atípicas e duvidosas, do bacilo humano, foram inoculadas em coelho, produzindo, porém, somente pequenas lesões no pulmão e no fígado.

Os 124 casos de meningite cérebro espinhal em que isolámos bacilo de Koch eram de pessoas das seguintes idades:

<i>Idade</i>	<i>Casos</i>
De 0 a 1 ano	14
De 1 a 2 anos	12
De 2 a 3 anos	5
De 3 a 4 anos	10
De 4 a 5 anos	12
Total	53
De 5 a 6 anos	9
De 6 a 7 anos	7
De 7 a 8 anos	7
De 8 a 9 anos	2
De 9 a 10 anos	4
Total	29
De 10 a 20 anos	21
De 20 a 30 anos	9
De 30 a 50 anos	11
De 50 a 100 anos	1
Total	42

O quadro abaixo mostra a proveniência, por idade, dos casos de meningite tuberculosa bovina, por nós isolados. Interessante é assinalar que 75,0 % dos casos foram isolados de crianças menores de 10 anos, sendo que 56,2 % tinham menos de 5 anos.

<i>Idade</i>	<i>Número de casos</i>	<i>Total</i>	<i>Porcentagem</i>
De 0 a 1 ano	2	9	56,2%
De 1 a 2 anos	1		
De 2 a 3 anos	1		
De 3 a 4 anos	1		
De 4 a 5 anos	4		
De 5 a 6 anos	0	3	18,8%
De 6 a 7 anos	0		
De 7 a 8 anos	1		
De 8 a 9 anos	0		
De 9 a 10 anos	2	4	25,0%
De 10 a 15 anos	1		
De 15 a 20 anos	1		
De 20 a 30 anos	2		
De 30	0		

Tipos de bacilos isolados de casos de meningite tuberculosa, de acordo com a distribuição da idade:

<i>Idade</i>	<i>Número de casos</i>	<i>Tuberculose humana</i>	<i>Tuberculose bovina</i>	<i>Porcentagem do tipo bovino</i>
De 0 a 5 anos	52	43	9	17,3%
De 5 a 10 anos	29	26	3	10,3%
Acima de 10 anos	40	36	4	10,0%
Total	121	105	16	13,2%

A maioria dos casos em que foram isolados bacilos do tipo bovino eram de doentes de nacionalidade brasileira (12 casos), tendo se verificado somente um caso positivo de um doente alemão (menos de 8 anos), um iugoslavo, um português e outro espanhol, todos os três maiores de 20 anos. As crianças abaixo de cinco anos eram todas brasileiras. Dos 16 casos de tuberculose bovina isolados, 12 eram masculinos e 4 femininos.

A porcentagem por nós achada do tipo bovino, não é tão elevada como tem sido encontrada por outros autores. Foi de 13,2 % para o total de casos em que obtivemos cultura.

A porcentagem de incidência por bacilo bovino na meningite tuberculosa varia em diferentes localidades.

John Blacklock e Mary A. Griffin (1935) acharam a porcentagem de 22,5 %; Griffith (1934), na Escócia (incluindo Glasgow), em crianças menores de 14 anos encontrou 42,9 %; Stanley, Griffith (1934) achou que para a Inglaterra, a seguinte porcentagem segundo a idade: 0 a 4 anos 31,3 %; 5 a 14 anos, 23,3 % e acima de 5 anos, 10 %. Mac Gregor, Kripatrik e Craig (1933-1934) isolaram em crianças de menos de 14 anos, em Edimburg, 29,8 % de bacilo bovino; Jensen (1932) encontrou 40,9 % em crianças da Dinamarca; Goshing e Montanus (1932-1934), nas crianças menores de 14 anos em New York achou a porcentagem de 7,7 % e Novick (1919-1920), na mesma cidade, achou 5 % nas crianças de menos de 13 anos.

A porcentagem por nós encontrada de bacilos do tipo bovino em casos de meningite tuberculosa nas crianças menores de 10 anos, foi de 14,8 % para o total de casos em que obtivemos cultura, nessa idade.

A presença do bacilo da tuberculose tipo bovino, no líquido céfalo-raquidiano, mostra que não é pequena a sua frequência entre nós.

Não só a meningite tuberculosa, como os tipos de bacilos encontrados não foram ainda bem estudados entre nós de modo a poder-se precisar a sua posição no problema da tuberculose, principalmente

no que diz respeito a crianças. Parece-nos interessante chamar a atenção para esse problema, tanto mais que é fato verificado não só pelo bacteriologista como pelo tisiologista que o bacilo do tipo bovino pode manifestar para a espécie humana uma virulência igual a da tuberculose do tipo humano. De outra parte, a sua posição é tanto mais importante quando se considera que o problema da contaminação da criança está estreitamente ligado ao seu modo de alimentação, particularmente nos casos, não excepcionais em que o contágio humano é impossível.

Infelizmente não nos foi possível fazer um inquérito a respeito da alimentação das crianças afim de podermos verificar a fonte de contágio, se foi devida ao leite ou aos seus derivados, ou ao contágio. Em vista, porem, da grande quantidade de vacas tuberculosas existentes no gado leiteiro de São Paulo, estimado pelo Departamento de Indústria Animal em 40,0 %, não resta dúvida que o leite e os seus derivados deverão ser incriminados como a fonte de infecção na maior parte das crianças de São Paulo com meningite tuberculosa do tipo bovino. Tivemos mesmo ocasião de isolar o bacilo da tuberculose do leite e da manteiga que abastece a cidade de São Paulo, e, ultimamente, Alexandre Melo e Natalino Mastrofrancisco, bacteriologistas do Departamento de Indústria Animal, isolaram em 30 % das amostras de leite de diversas procedências, que abastecem a população da cidade de São Paulo, o bacilo da tuberculose.

Ultimamente se tem feito uma campanha a favor do uso do leite cru, principalmente dos leites de granja, mas nós pensamos como Nocard e damos aqui às mãis brasileiras os mesmos conselhos que aquele ilustre cientista dava às mãis de França: "Mère de famille, ne donnez jamais de lait de vache á vos enfants sans l'avoir fait bouillir", porque os leites que abastecem a cidade de São Paulo não oferecem garantia absoluta sob o ponto de vista higiênico.

A meningite tuberculosa entre nós não é tão rara como parece. E' que ela é diagnosticada como outra moléstia, como acontece com os casos que são removidos para o Hospital de Isolamento "Ermílio Ribas". Os casos removidos para esse Hospital vêm com diagnóstico de Meningite (27 %), Meningite cérebro espinhal (45 %), ou Febre tifóide (28 %), sendo que depois de examinados os doentes, pelos clínicos do Hospital, são por êles modificados os diagnósticos para o de meningite tuberculosa.

O diagnóstico de meningite tuberculosa feito nos casos aqui relatados foram todos clinicamente diagnosticados pelos médicos do Hospital de Isolamento ao entrarem, recebendo mais tarde, todos eles, a confirmação bacteriológica feita pelos exames do Instituto Bacteriológico. Nos casos de cultura essa confirmação era somente tardiamente feita.

Interessante é aqui vermos qual a idade, a nacionalidade e o sexo nos casos de meningite tuberculosa diagnosticados pelos médicos do Hospital de Isolamento "Emílio Ribas" e confirmados pelos exames do Instituto Bacteriológico de São Paulo, quer por exame direto, quer por cultura.

Dos 166 casos entrados no Hospital, 90 % são de nacionalidade brasileira, tendo sido registados somente 1 caso de nacionalidade italiana, 3 espanhola, 4 alemã, 5 portuguesa, 3 lituana e 1 iugoslava.

Do total de casos, 50,6 % eram do sexo masculino e 49,4 % do feminino, sendo que nas crianças predominam as do sexo feminino. Em 1937, entre 12 culturas positivas, de crianças, 11 eram de doentes do sexo feminino.

	<i>Masculino</i>	<i>Feminino</i>	<i>Total</i>
1934	13	9	22
1935	17	14	31
1936	19	16	35
1937	16	22	38
1938	19	21	40
Total	84	82	166

A porcentagem de crianças de 0 a 5 anos foi de 37,7 % (63 casos); de 20,4 % (34 casos) nas crianças de 5 a 10 anos, e de 40,9 % (68 casos) nos maiores de 10 anos.

Eis a relação dos 166 casos removidos para o Hospital e confirmados como meningite tuberculosa, discriminados por idade:

<i>Idade</i>	1934	1935	1936	1937	1938	<i>Total</i>
0 - 1	6	1	4	2	5	18
1 - 2	—	5	2	8	6	21
2 - 3	1	—	—	1	2	4
3 - 4	—	1	3	3	2	9
4 - 5	3	4	2	—	2	11
5 - 10	3	8	9	6	8	34
10 - 15	3	4	3	5	4	19
15 - 20	2	3	2	6	1	14
20 - 30	1	3	7	2	9	22
30 - 50	1	2	3	5	1	12
50 -	1	—	—	—	—	1

Bem elevada é a porcentagem de crianças abaixo de 10 anos (58,4 %) nos casos de meningite tuberculosa.

Ao terminarmos o nosso trabalho consignamos os nossos agradecimentos à Da. Lidia C. de Carvalho, Da. Maria F. Quirino Ferreira, Da. Maria Arantes e Sr. Ettore Rugai, os quais nos auxiliaram na técnica deste trabalho, e ao Dr. José Augusto Arantes, diretor do Hospital de Isolamento “Emílio Ribas” a quem devemos as informações que nos foram gentilmente prestadas e que contribuíram, em grande parte, para a confecção deste trabalho.

RESUMO

O autor encontrou o bacilo de Koch em 172 líquidos céfalo-raquidianos, dos quais 102 revelaram o bacilo no exame direto e 70 em cultura. Os últimos foram de exame direto negativo; com o emprego do método de cultura conseguiu, portanto, o autor mais 40 % de resultados positivos do que só por exame direto.

De 124 líquidos semeados, obteve cultura de 108 em meio de agar sangue, 93 em meio de agar chocolate e 81 em meio de Loewenstein.

O meio de agar sangue de coelho foi o que maior número de culturas deu, tanto para o tipo bovino como para o humano, (91,1%) vindo depois o agar chocolate (85,3%) e, em terceiro lugar, o meio de Loewenstein (65,3%) seguido do de Petraghani (25,0%)

O meio de Loewenstein sem glicerina e sem o verde de malachita deu maior porcentagem de resultados positivos (88,2%) do que com glicerina (65,3%).

O meio de agar sangue de coelho, além dos resultados superiores já mencionados acima, tem a vantagem de sua simplicidade e facilidade de obtenção em laboratório.

As pesquisas do autor foram feitas para experimentar diversos meios de cultura para o isolamento do bacilo de Koch e para verificar a frequência do tipo bovino em S. Paulo.

Isolou 16 vezes o bacilo bovino, que foi identificado pelos seus caracteres culturais e por ser patogênico para coelho, em injeções venosas, produzindo tuberculose generalizada.

Algumas colônias, disgônicas, atípicas e duvidosas do bacilo humano, foram inoculadas em coelhos, produzindo somente pequenas lesões no pulmão e fígado.

A porcentagem do tipo bovino achada pelo autor foi de 13,2 % para o total de casos em que obteve culturas, não sendo tão elevada como tem sido encontrada por outros autores em diversos países.

Nas crianças de menos de 10 anos, foi de 14,8 % para o total de casos em que obteve cultura.

Acha o autor não ser tão rara entre nós a meningite tuberculosa, sendo que ela é diagnosticada como outra moléstia, como acontece com os casos que são removidos para o Hospital de Isolamento. Os casos removidos para esse Hospital vêm com o diagnóstico de Meningite (27 %), Meningite cérebro-espinal (45 %), ou de Febre tifóide (28 %).

Estudou os 166 casos de Meningite tuberculosa, confirmados por exame direto ou cultura, entrados no Hospital "Emílio Ribas", sendo que 90 % são de brasileiros. Do total dos casos 50,6 % eram do sexo masculino e 49,4 % do feminino, sendo que nas crianças predomina nas do sexo feminino.

A porcentagem de crianças de 0 a 5 anos foi de 37,7 %; de 5 a 10 anos 20,4 % e em maiores de 10 anos de 40,9 %

A porcentagem de casos em crianças abaixo de 10 anos foi de 58,4 %

Não foi possível ao autor obter informes a respeito do contágio, dos casos em que isolou bacilo bovino, porém, deve-se atribuir ao leite que abastece a cidade, pois 40 % das vacas são tuberculosas, tendo sido o bacilo de Koch isolado do leite pelo autor e por A. Melo e N. Mastrofrancisco, da Indústria Animal.

SUMMARY

The bacteriological examination of 172 cerebrospinal fluids has tubercle bacilli: 102 were positive by the direct microscopic examination and 70 by culture only.

Thus, the use of culture media has proved itself superior to direct microscopic examination; in 40% of the cases that gave positive results by culture methods, no tubercle bacilli were revealed by the direct examination.

Out of 124 specimens inoculated, 108 positive cultures were obtained on rabbit blood agar, 93 on chocolate agar medium and 81 on Loewenstein's medium.

The cultural findings with various media in comparative study to determine their relative value for the primary cultivation of tubercle bacilli from cerebrospinal fluid were as follows: rabbit blood agar, 91,1%; chocolate agar, 85,3%; Loewenstein's medium, 65,3%; Petraghani's medium, 25,0%.

Loewenstein's medium without glycerol and malachite green gave better results (88,2%) than with glycerol (65,3%). Petraghani's medium with glycerol gave 25,0%; without, 63,3%.

Loewenstein's medium has proved suitable for the isolation of human strains of tubercle bacilli, but entirely unsuitable for the bovine type, as the latter failed to grow on it in primary cultures.

Rabbit blood agar has given the best results for the isolation of both of them, from cerebrospinal fluid. For this reason and because of its simplicity of preparation, it is recommended for primary cultivation of tubercle bacilli from cerebrospinal fluid.

In the present investigation the author's researches have been undertaken to determine the relative value of various media for primary cultivation of tubercle bacilli from cerebrospinal fluid and the type of bacilli causing tuberculous meningitis in S. Paulo.

Out of 124 cases from which those bacilli were isolated from cerebrospinal fluid, 16 strains were of the bovine type; these results were confirmed by cultural tests and by inoculation into the vein of a rabbit's ear.

For the differential diagnosis between eugonic and dysgonic strains, cultures of the first generation on glycerol free media, were inoculated on Loewenstein's first with 5% glycerol, then without it and finally on glycerol-potato. The last one gave the

best results. This fact had already been noticed by Park and Krumwied in 1910 and by Griffith in 1934; they obtained on glycerolpotato, the most uniform results for the above mentioned diagnosis. Dysgonic, atypical strains of human tubercle bacilli were inoculated into the vein of a rabbit's ear. Only small lesions were found in the lungs and the liver.

The percentage (13.2%) for the bovine type obtained by the author is much lower than that found in other countries.

The percentage found for that type in cases of meningitis in children under 10 was 14.8%.

Types of bacilli isolated from cases of tuberculous meningitis classified according to age:

<i>Years</i>	<i>Number of cases</i>	<i>Human</i>	<i>Bovine</i>	<i>Percentage bovine</i>
Under 5...	52	43	9	17.3 per cent.
Over 10 ..	29	26	3	10.3 per cent.
5 to 10 ...	40	36	4	10.0 per cent.
	121	105	16	13.2 per cent.

Tuberculous meningitis is more frequent in S. Paulo (Brazil) than it seems to be. It has not been exactly diagnosed clinically as we can see by the cases admitted to the Isolation Hospital "Emílio Ribas": Meningitis, 27%; Cerebrospinal Meningitis, 45%; Typhoid fever, 28%. In all these cases the diagnosis has been changed in the Hospital for Tuberculous meningitis, which the bacteriological examination confirmed, since tubercle bacilli were shown in spinal fluids by the direct microscopic examination or by culture methods.

Investigations were made in 166 of these cases: 90% were from Brazilians (50.6% males and 49.4% females). In children the highest percentage was that of girls.

The percentage of children under 5 was 37.7%, of 5 to 10 years, 20.4% and of over 10, 40.9%. The percentage of children under 10 was, therefore, 58.4%.

According to the author, the above-mentioned cases may be due to bovine infection, in view of the great prevalence of tuberculosis in cattle in S. Paulo, Brazil, (about 40% of the cattle being

affected, according to veterinary estimation) and because the author and A. Melo and N. Mastrofrancisco verified the presence of tubercle bacilli in raw milk.

REFERÊNCIAS

- BENZANÇON, F. e BUC, E. — 1931 — *Présse Medical*, 39, 1493.
- BENZANÇON e GRIFFIN — 1899 — *Comp. Rend. Soc. Biol.*, 51, 71
- BLACKLOCK, John e GRIFFIN, Mary A. — 1935 — *Journ. Pathology and Bacteriology*, 40, DRT.
- BUC, E. — 1930 — *Compt. Rend. Soc. Biol.*, 103, 220.
- CERRUTI — 1932 — *Journ. Trop. Med.*, 35, 157.
- CORPER, H. J. — 1928 — *Journ. Am. Med. Assoc.*, 91, 371.
- CORPER, H. J. — 1932 — *Journ. Am. Med. Assoc.*, 99, 1315.
- CLOUGH — 1918 — *Am. Rev. Tuberc.*, 1, 598.
- COSTIL, L. e SAENS, H. — 1936 — *Monographie de l'Institut Pasteur, Masson, Paris.*
- DE SANTES, Momald e NATOLI, F. — 1938 — *Zentr. f. Bakt. Ref.*, 130, 108.
- GALTON, M. — 1937 — *Amer. Journ. of Hygiene*, 26, 259.
- GERNEZ, Ch., CRAMPON, P. e GRAUX — 1938 — *Compt. Rend. Soc. Biol.*, 128, 1141.
- GOSLING e MONTANUS — 1924 — *Journ. of Med. Research*, 44, 13.
- GRIFFITH, A. S. — 1932 — *Journ. Pathology and Bacteriology*, 35, 97.
- GRIFFITH, A. S. — 1934 — *Lancet*, I, 1382.
- GRIFFITH, A. S. e MUNRO, W. T. — 1933 — *Lancet*, I, 399.
- GRIFFITH, A. S. e EMITH, J. — 1938 — *Lancet*, I, 739.
- HERROLD, R. D. — 1931 — *Journ. Inf. Diseases*, 48, 236.
- HOHN, J. 1926 — *Munch. Med. Woch.*, 73, 2162.
- HOHN, J. — 1926 — *J. Zentr. f. Bakt. I Orig.*, 98, 460.
- JENSEN, K. — 1932 — *Zentr. f. Bakt. I Orig.*, 125, 222.
- LAUGE, L. — 1932 — *Zentr. f. Bakt. I Orig.*, 127, 10.
- LESNÉ, E., SAENZ, A., SALEMBIER, M e COSTIL, L. — 1936 — *Bull. de l'Académie de Médecine*, 116, 373.
- LOEWENSTEIN, — 1930 — *Deut. Med. Woch.*, 56, 1010.
- MELLO, A. e MASTROFRANCISCO, N. — 1938 — *Rev. Ind. Animal*, 1, 1938.
- MAC NABRE e BROWN, M. — 1935-36 — *Sith Annual Year Book — American Publ. Health Assoc.*, p. 188.
- MISHULOW, L. — 1932 — *Journ. Inf. Diseases*, 51, 416.
- MISHULOW, L., RONANO, M. MELMAN, M. e KERESZTURE, C. — 1934 — *Journ. of Inf. Diseases*, 55, 402.
- MISHULOW, L., REAVIN, Sadie — 1940 — *Journ. Lab. and Clin. Med.*, 25, 876.
- MISHULOW, L., SINGER, SIEGEL, MELMAN e ROMANO — 1935 — *Journ. Lab. and Clin. Med.*, 20, 1063.
- MUNRO, W. T. e SCOTT, H. VTCF — *The Lancet*, I, 293.
- PARK, W. e KRUMWIED — 1910 — *Journ. of Med. Research*, 205.
- SAENZ, A. — 1939 — *Paris Medical*, 25, 536.
- SQUIBEL, Amancio C. — 1937 — *Publicação da Secretaria da Agricultura.*