

# MÉTODO FÁCIL E RÁPIDO PARA COLORAÇÃO DE TREPONEMAS.\*

LUÍS DE SALLES GOMES

Do Instituto "Adolfo Lutz"

No curso de algumas pesquisas realizadas com materiais fornecidos por 2 casos de bouba, em princípios de 1949, ocorreu-me a tentativa de coloração do *Treponema pertenuae* pelas modernas tintas utilizadas para escrever, seja de origem norte-americana, seja de origem nacional, e que contêm em sua composição um forte fixador.

Devo dizer que a idéia foi coroada do mais completo êxito, logo com a primeira das tintas norte-americanas experimentadas: a tinta azul-escura (*blue-black*), "Super-chrome", destinada a alimentar as canetas "Parker 51".

A mistura de uma gôta de serosidade colhida de uma boubide ou pianoma, com outra gôta da tinta acima referida, colocada na extremidade de uma lâmina bem limpa, e espalhada com a borda de uma lamínula como se fôra uma gôta de sangue, deu-me preparações belíssimas e que até hoje, decorridos já mais de um ano e meio, conservam absoluta nitidez e perfeita fixação.

O método não necessita do calor nem de substâncias químicas estranhas para fixação do esfregaço. O fixador contido na própria tinta é suficiente para manter o esfregaço fixo à lâmina e a tinta fixa aos treponemas. Êstes apresentam-se com sua morfologia praticamente inalterada (ver microfotografia).

Feita a mistura rápida da serosidade a examinar com a gôta de tinta, num dos extremos da lâmina, executa-se o esfregaço também rapidamente, procurando-se obter sempre uma preparação fina e outra mais espessa. Deixados em repouso, cêrca de 3 minutos (podendo ser também ligeiramente agitados ao ar), os preparados estão prontos para serem examinados ao microscópio, com

---

Recebido para publicação em agosto de 1950.

(\*) Trabalho apresentado ao Quinto Congresso Internacional de Microbiologia, realizado, em agosto de 1950, no Rio de Janeiro.

objetiva de imersão, sem receio de que o material ou a tinta dêles se destaquem.

Sôbre um fundo em que se vêem, finamente espalhados, miríades de minúsculos pontos azul-claros (no caso de se usar a tinta "Super-chrome" *blue-black*) percebe-se, com absoluta nitidez e destaque, o treponema integralmente impregnado de uma coloração azul-escura.

As hemácias, eventualmente existentes na preparação, mantêm sua coloração normal, ligeiramente amarelada, não sendo atingidas pelo corante, a não ser, às vêzes, ao longo da sua borda.

Aplicado às serosidades obtidas dos protosifilomas, o método de coloração deu, para o *Treponema pallidum*, os mesmos excelentes resultados obtidos com a espécie *pertenue*.

Após o exame, o óleo de cedro utilizado para a pesquisa poderá ser retirado com xilol da superfície da lâmina, sem que o esfregação sofra qualquer alteração.

A tinta revelou também afinidade para espirilos de Vincent, porém, algumas tentativas de coloração de leptospiras em cultura, foram completamente frustradas.

Devo assinalar que as tintas da mesma espécie, porém de côres diferentes, tais como a vermelha, a verde, a azul-clara e a preta, várias vêzes experimentadas, foram incapazes de corar os treponemas como corou a azul-escura (*blue-black*) por mim inicialmente usada.

Parece-me que a própria tinta "Super-chrome *blue-black*" não obedece a uma fórmula uniforme de preparação, pois, segundo pude observar, de quatro outras amostras experimentadas, duas não foram capazes de corar os treponemas, e outras duas coraram-nos mal, isto é, sem a perfeição e a nitidez da primeira amostra utilizada. Ignoro se tôdas estas amostras pertenciam à mesma partida.

Não me parece que a idade da tinta possa ter grande influência nos resultados obtidos, pois a pequena quantidade ainda restante da amostra "Super-chrome" azul-escura que possuo há já cêrca de dois anos, continua até hoje, dando excelentes colorações.

Acredito, antes, que a ação desigual das várias amostras, dependa diretamente de variações na dosagem dos vários elementos de cada partida.

A tinta "Quink", cujo pó é importado dos Estados-Unidos e posteriormente diluído no nosso país, bem como a tinta de fabricação nacional "Tin-Goy", não deram coloração alguma.

Enquanto, porém, não puderem ser suficientemente esclarecidas as razões dessa ação desigual de uma mesma espécie de tinta, aconselho àqueles que desejarem executar o método, o uso da tinta "Super-chrome *blue-black*", tendo o cuidado de agitá-la ligeiramente antes do uso, quer esteja no estôjo da caneta, quer dentro do frasco.

Em tais condições, é possível que aquêles que tenham à mão tinta da mesma partida que a experimentada por mim, possam confirmar plenamente as minhas observações.

Apresentando esta modesta contribuição sôbre um novo método de coloração dos treponemas, de execução fácil e rápida, espero ter concorrido para tornar mais ao alcance dos pesquisadores a confirmação diagnóstica pelo laboratório, de casos de boubá, de sífilis e, talvez, de pinta (*T. carateum*), sobretudo quando há necessidade de tais provas laboratoriais, em lugares longínquos, desprovidos de maiores recursos, e onde se tornam impossíveis as práticas dos clássicos métodos de pesquisa de Giemsa, da impregnação argêntica de Fontana-Tribondeau e da microscopia em campo escuro.

#### AN EASY AND RAPID STAINING METHOD FOR *TREPONEMATA* \* SUMMARY

Towards the beginning of 1949, while studying two cases of framboesia, it occurred to the Author the idea of trying the modern american writing inks to stain *Treponema pertenuae*. From the start he employed very successfully the "Super-Chrome" blue-black ink used to feed the "Parker 51" fountain pen.

A droplet of serosity from a framboesia lesion is mixed with a droplet of ink on a clean slide, close to one of the extremities. The mixture is spread with the edge of a cover slide as is done for blood smears. The manipulations ought to be done as quickly as possible and two slides ought to be prepared, one with a thicker smear and the other with a lighter one. In about three minutes the smears will be dried and ready for oil immersion examination. The treponemata will stand out clearly and heavily blue-black stained on a light blue background. The staining is permanent.

Material from syphilitic lesions stained by the method described, also showed excellent staining of *Treponema pallidum*.

Vincent's spirillae also took the stain, but *Leptospira icterohaemorrhagiae* in cultures did not take it at all.

Red, green, light-blue and black inks of the same kind do not stain treponemata well.

With the ink "Quink" whose powder is imported from the United States and prepared here in Brazil, the A. did not succeed in obtaining staining at all.

The A. thinks that even the "Super-chrome blue-black" ink is not always prepared according to the same formula, because as he could show, from four other samples tested, two of them did not stain the treponemata at all and the other two samples stained them poorly. He did not know if all those samples belonged to the same batch.

The A. did not think that age might influence the staining power of the ink because the remaining of his original sample, already two years old, still stains well.

He rather believes that the difference in staining behaviour of the various samples is due to variation in the dosage or quality of the components of each batch.

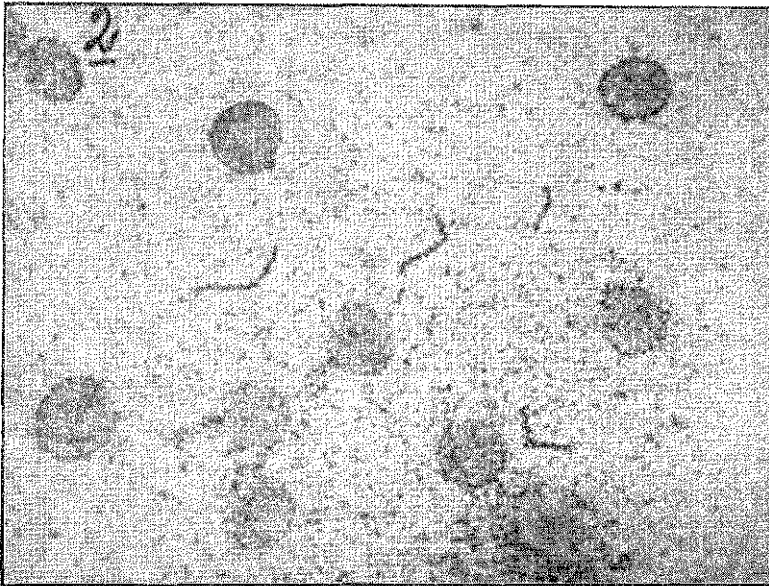
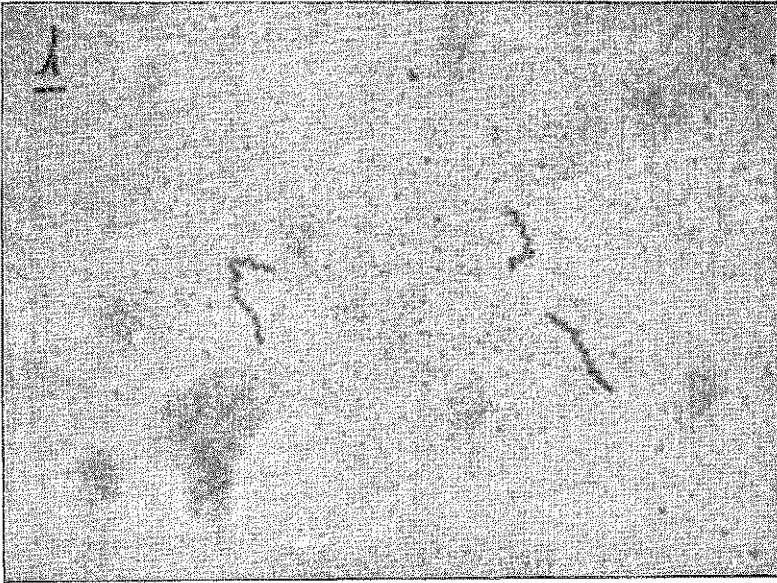
While the reasons for such staining power variations can not be determined, the A. advises the use of the "Super-chrome blue-black" ink in the hope that those who may like to try it, hit a sample equal to that first employed successfully by him.

He is endeavouring to ascertain with the "Super-chrome blue-black" ink makers the right formula for a surely standardized uniformly staining product.

This staining method, after the standardization of the ink, the A. hopes, will render easier the diagnosis of framboesia, syphilis and perhaps pinta (*T. carateum*) where the use of the classical methods such as dark field, Giemsa staining and Fontana-Tribondeau's silver impregnation are not feasible.

---

(\*) Presented to the 5th Intern. Congress of Microbiology assembled in Rio de Janeiro in August 1950, by L. de Salles Gomes.



*T. pertenuis* (1) e *T. pallidum* (2) corados pela tinta Parker  
"Super-chrome" azul-escura (*blue-black*). x 1.575.