

Maymundo (desolado no fim de 5 dias) dia 24 a 1 hora
p.e Prof. Martins
V. Prof. Maymundo
R. Lima

1404

VITO CHAVES

PESQUISA DO BACILO DA TUBERCULOSE
PELOS METHODOS DA ANTIFORMINA

Trabalho effectuado no Laboratorio
do Prof. A. d'Aguiar.

THESE INAUGURAL

apresentada á

FAKUSDADE DE MEDICINA DO PORTO

148/5 F.M.P.

1911

Faculdade de Medicina do Porto

Director

Secretaria interino
Alvaro Teixeira Bastos

Corpo docente

Lentes cathedraes

- | | |
|---|--|
| 1. ^a cadeira - Anatomia descriptiva geral | Luiz de Freitas Figueira |
| 2. ^a cadeira - Physiologia | Antonio Placido da Costa |
| 3. ^a cadeira - Historia natural dos med. ^{tos} e med. ^{ica} medica | José Alfredo Mendes de Mag. ^{as} |
| 4. ^a cadeira - Pathologia externa e therapeutica externa | Carlos Alberto de Lima |
| 5. ^a cadeira - Medicina operatoria | Antonio J. de Sousa Junior |
| 6. ^a cadeira - Partos | Candido Augusto Corra de Pinho |
| 7. ^a cadeira - Pathologia interna e ther. ^{ica} interna | José Dias d'Almeida |
| 8. ^a cadeira - Clinica medica | Thiago Augusto d'Almeida |
| 9. ^a cadeira - Clinica cirurgica | Roberto Bellarmino do Rio. ^{to} Frias |
| 10. ^a cadeira - Anatomia pathologica | Augusto Theob. ^{do} d'Almeida Brandão |
| 11. ^a cadeira - Medicina legal | Maximiano Aug. ^{to} d'Almeida Lemos |
| 12. ^a cadeira - Pathologia geral | Alberto Pereira Pinto d'Almeida |
| 13. ^a cadeira - Hygiene | João Lopes da Silva Martins J. ^{or} |
| 14. ^a cadeira - Histologia e physiologia geral | Vaga |
| 15. ^a cadeira - Anatomia topographica | João Alberto Pires de Lima |

Lentes jubiladas

Secção medica

Secção cirurgica

{ José d'Andrade Grammao
Antonio d'Azevedo Alvaia
Pedro Augusto Dias
Antonio J.^{unior} de Moraes Cabdas

Lentes substitutos

Secção medica *} vaga*
} vaga

Secção cirurgica *{ João Monteiro de Menezes*
{ José d'Oliveira Lima

Lente demonstrador
Secção cirurgica *Alvaro Figueira Bastos.*

~ Prologo ~

O diagnostico da tuberculose tem sido objecto de muitos e recentes trabalhos dos quaes uns pertencem ao dominio da clinica e outros ao laboratorio.

Foi principalmente sobre estes ultimos que nos fixamos a attenção escolhendo-os para assumpto da nossa prova final.

O nosso trabalho e' modesto para a obra da importancia d'este assumpto, mas os limitados conhecimentos de tecnica laboratorial e sobre tudo a escassez do tempo não nos permittiram tratá-lo com a proficiencia merecida, embora empregassemos o melhor dos nossos esforços.

Se algum valor tem a nossa obra, em de-se o unicamente ao Sr. ^{mo} Prof.^{or} D.^o Alberto d'Aguiar que sempre nos guiou nos estudos a que procedemos dando ao nosso director todos os seus vastos conhecimentos sobre o assumpto.

Sinceramente reconhecida lhe agradecemos não só os ensinamentos e auxilios prestados, mas tambem a sincera amizade com que sempre nos distinguem.

I Bacillo da tuberculose

A notável descoberta do bacillo de Koch por Roberto Koch em 1882 permittiu o estudo bacteriologico desta doença.

E' facil pôr em evidencia o agente especifico nas lesões tuberculosas, e' possível cultivá-lo e finalmente reproduzir a doença em furemmentas por inoculação de culturas puras.

O contagio da tuberculose havia sido demonstrado, muito antes da descoberta do bacillo, por Willemin, em 1865, por inoculações positivas em coelhos e caoias de productos tuberculosos humanos.

Finalmente o estudo dos productos tóxicos do bacillo iniciado com tanto emito e brilho por Koch e continuado por Ehrlich, Roux e outros permittiu a posse d'um novo meio de diagnostico da bacillare e o começo de medidas de immunização e serotherapie especifica.

a) Morfologia

O bacillo da tuberculose apresenta-se nas culturas como um bacillo delgado, forma de bartonete, de 1,5 a 3 μ , 5 de comprimento por 0,5 de largura, mas como todos os bacillos estas dimensões são variaveis, corando-se dif-

ficilmente pelas soluções aquosas ordinárias das cores da anilina.

A sua forma não é perfeitamente definida, pois que, embora geralmente se assemelhe a um bastonete, tambem se apresenta rami-
ficado, entunecido em maça e muitas vezes granuloso.

Este ultimo aspecto é devido a granações protoplasmáticas que não tomam a cor.

Sobre a natureza d'estas granações variam as opiniões dos auctores: um dizem ser esporos, outros vacuolos.

Até hoje porém ainda se não chegou a uma conclusão definitiva.

Segundo Ferran e outros auctores o bacillo da tuberculose é dotado nas culturas puras de ligeiros movimentos de ondulação.

É conveniente notar que estes movimentos só podem ser observados em preparações húmidas e não coradas.

b) Culturas

As culturas do bacillo de Koch são sempre difficis de realizar, porquanto não só é necessario empregar varios meios especiais para obter uma primeira cultura e ao mesmo tempo reincar productos tuberculosos que não contenham impurezas, mas tam-

hem é um processo demorado, especialmente para o fim de diagnósticos médicos, pois que as primeiras culturas, em caso de êxito, só se obtêm 15 ou 20 dias depois da semeadura, esta realidade qualquer que seja o meio cultural empregado (de preferência os meios glicerinados) o desenvolvimento do bacillo é muito lento.

Se o meio de cultura recebe microbios de infecção, estes desenvolvem-se mais rapidamente impedindo por completo a aparição das culturas do bacillo de Koch.

É por isso que os excretos, contendo sempre grande numero d'outras bacterias, não convêm para a sementeira.

O meio escolhido para as primeiras culturas é a batata glicerinada a 4%.

Semina-se numa serie de tubos com um producto tuberculoso o mais puro possivel, tendo previamente o cuidado de o triturar com todos os cuidados de assepsia.

Se a cultura nos não apresenta o aspecto typico, em arabescos montanhosos, é conveniente inocular uma cavidade sob a pelle, de preferencia na coxa e esperar que o ganglio correspondente á região inoculada (no caso de inoculação na coxa o ganglio crural) seja atacado e se torne caseoso; toma-se então com uma pipeta um pouco d'um pus caseoso e

com elle se semia a batata glicerinada.

Em geral o pus amim obtido contém o bacillo em estado de pureza.

Se se pôr este pus em contacto com o liquido glicerinado que banca a batata, desenvolve-se á sua superficie uma pellicula muito fina que poderá servir para novas culturas, principalmente se estas se fazem em meios liquidos.

Deposita á superficie dos liquidos nutritivos e glicerinados a umear uma pequena porção desta pellicula, ella desenvolve-se ha rapidamente invadindo como um mycodermis toda a superficie, formando espessos veus, ricos em bacillos tuberculosos.

Outros meios tem sido propostos para excultar as culturas, porem os mais recomendavos são os glicerinados, caldo, gelao, soro, batata, etc..

Como já dissemos, o processo cultural, pela sua morosidade, infidelidade e difficuldade, não se presta a servir a clinica para o diagnostico rapido de tão commun e mortifera doença.

Pondo de parte a inoculação, processo precioso e sobre tudo reservado para os casos em que a abundancia de exudato liquido se associa a baridade extrema do bacillo, como nos derrames serosos da pleurite e da peritonite tuberculosas, os methodos mais correntes para a

pergunta dos bacillos de Koch são os que se
lançam na sua pesquisa directa (microscopica)
nos crustaceos em que se supõe a sua
existencia.

II

Investigações e demonstrações dos bacillos da tuberculose

Exame directo

Logo após a descoberta do agente específico da tuberculose se lançou mão para o diagnóstico clinico exacto da presença de tales bacillos nos productos de excreção.

Este bacillo apresenta-se nas culturas e nos productos a examinar, como um bacillo delgado, ciliado-se difficilmente pelas soluções aquosas ordinarias das cores de anilina.

Pora-se forem facilmente e com bastante rapidez empregando a fuchrina phenicaada de Ziehl,

Fuchrina	uma gramm
Acido phenico	cinco grammas
Alcool	dez grammas
Agua destillada	cem grammas,

aquecendo a preparação a cerca de 50 ou 60° durante uns cinco minutos; uma vez corado o bacillo tem por si a propriedade de se não decolorar facilmente mesmo empregando os meios mais energicos acidos

de differenciação: por isso se dizem tais tais bacillos acido-resistentes ou impropriamente acidophilos.

Este facto distingue os de quasi todas as outras bacterias: apenas entre os microbios pathogenicos e saprophytarios humanos figuram o bacillo de Hansen (lepra) e o bacillo de smegma perineal (saprophyta das vias genitales) como possuindo identicas propriedades d'acidophilicia.

Esta resistencia a' descoloração do bacillo de Koch e' devida ao invólucro gorduroso especial do corpo da bacteria.

O methodo de coloração acima mencionado e' devido a Ziehl-Neelsen, modificação do primitivo methodo de Ehrlich, possui dois defeitos capitales: umas vezes mostra mais, outras vezes menos bacillos do que na realidade existem na preparação.

Dizemos de mais porque alem do bacillo da tuberculose outras bacterias ha, como vimos já, acido-resistentes, de menos porque nem todos podem ser corados convenientemente devido á espessura da preparação o que succede muitas vezes.

Para obviar a alguns d'estes defeitos, têm-se proposto, com mais ou menos êxito, numerosos meios de coloração.

D'entre todos porém, algum do de Ziehl que

é a mais utilizada e recomendada, é digna de menção a de Much designada por grammethodo de Much.

O grammethodo de Much baseia-se na coloração demorada da preparação, durante cerca de 24 horas com violeta phenico de Gram, seguido da acção do iodo e finalmente d'uma decoloração miúda por ácidos (nitrico a 5% e chlorhydrico a 3%) e por álcool acetona em partes iguais.

Muitas vezes o mau resultado da observação não depende somente do processo de coloração mas também do diminuto numero de bacillos existentes na substancia a examinar.

Para se obter um resultado positivo no exame de escarro ou d'outros productos, pertencentes a individuos clinicamente doentes como tuberculosos ou sujeitos de bacillos, a tres condições se deve attender para esse exame:

- 1º Homogenisação,
- 2º Enriquecimento,
- 3º Demonstração por coloração, cultura e inoculação.

Demora muito tempo se tem procurado um methodo que reunia em si todas estas condições

essenciaes, porém até hoje ainda se não conseguem por completo tal intuito.

É certo porém que nos ultimos annos algumas descobertas de valor se fizeram, dando lugar a discussões bastante animadas entre os bacteriologistas mais distinctos sob a base de numerosas observações.

Dessas descobertas algumas referem-se especialmente ao enriquecimento do liquido a examinar em bacillos de Koch, outras representam variantes de coloração, que pela sua morosidade as tornam impróprias para um exame rapido.

Que estas descobertas são d'uma importancia capital para a demonstração do bacillo tuberculoso, principalmente na accção homogenizante e de enriquecimento, é um facto, porém todas ellas possuem mais ou menos defeitos, já notados por varios auctores e que a nossa experiencia se bem que limitada nos mostrou.

A homogenização pode ser obtida por qualquer dos novos methodos: Agua oxygenada (Sergo, Sachs-Wüch), autodigestão (Ehrmann-Ersland), Lixivia (Lange-Widach) e antiformina (Walentz), etc; destes porém nenhuma dá todos os resultados enriquecidos e que d'elles se esperavam.

a) Methodo da agua oxygenada

O methodo da agua oxygenada alem de dispendioso tem principalmente o inconveniente de ser muito moroso sobre tudo se o producto a examinar for de consistencia muito espessa tendo entao de ser auxiliada a sua digestão com um pouco de alcool. Alem destes defeitos temos tambem de ponderar, que a formação d'uma maior ou menor camada de espuma a superficie livre do liquido impede, que a colheita se possa fazer convenientemente dando lugar a uma diminuição da sua riqueza bacillar.

b) Methodo da autodigestão

Este methodo da autodigestão, tambem chamado methodo duplo de Ellermann-Ortander para a demonstração dos bacillos da tuberculose nos excreos, fôcos, etc, consiste na homogenização de uma pequena porção do producto a examinar por meio de auto digestão a 37° com a addição d'um resíduo a 6% de carbonato de sodio.

Depois de 24 horas de repouso retira-se

uma porção do líquido e ao restante junta-se um pouco de solução de hydrato de sodio a 25%, centrifugando-se em seguida durante 10 minutos.

Este methodo afine d'outros defectos, como por ex. o de tempo de execução, tem um capital que o torna pouco recommendavel e tem a ver o cheiro repugnante que o liquido exhalava durante a autodigestão, sendo portanto incommoado para qualquer analysta.

c) - Methodo da antiformina.

Este methodo foi introduzido na technica por Uhlenhuth o qual observou em varias experiencias, que a antiformina, possuindo altas qualidades desinfectantes e por isso utilizada nas fabricas de cerveja para limpeza do material, tem a propriedade de dissolver muitas bacterias e productos organicos, deixando com tudo intacto o bacillo de Koch.

O nome de antiformina poder-nos-ha levar a julgar erroneamente como sendo este liquido um derivado do formol com o qual nada tem de commun pois

é considerada como uma simples mistura de hypochlorito de sodio e hydrato de sodio em determinada proporção.

A acção de forte dissolução é principalmnte derivada d' intensa oxidação produzida pelo hypochlorito de sodio, ao passo que o segundo componente auxilia o primeiro provocando a tumefacção das substancias organicas dando-lhes assim uma maior superficie de oxidação.

Este processo, que está hoje generalizado a quasi todos os grandes laboratorios estrangeiros, consiste no seguinte:

A uma certa quantidade de materia a examinar, por ex. escuras, junta-se uma determinada quantidade de um resíduo de antiformina, variavel segundo o grau de concentração d' este resíduo.

Agita-se a mistura duas ou tres vezes, começando logo a fazer-se a dissolução do material de observação, dissolução esta que se faz mais ou menos rapidamente segundo o escurro é mais ou menos concreto ou o grau do resíduo é maior ou menor.

Passado um periodo de tempo, que pode variar de um quarto d' hora a tres horas, obtem-se um liquido completamente homogéneo e d' uma cor amarello-acastanhada.

A dissolução pode ser activada collocando

a mistura n'uma estufa ou aquecendo a d' lampada o que e' desnecessario e incomum de por causa das projeções.

Neste liquido obtem-se a agglomeração dos bacillos (enriquecimento) por simples sedimentação, centrifugação ou por agitação com hidrocarbonetos ou com chloroformio.

A sedimentação tem a desvantagem de dar lugar a perder-se a maior parte dos bacillos, pois muitos ficam em suspensão no liquido, em virtude do seu pequeno peso especifico e d' superficie relativamente grande.

Uma outra desvantagem notamos e tem a ver que o deposito onde existe, como vimos, um numero reduzido de bacillos, não fica adherente ao fundo do tubo d'ensayo, mas sim reparado d'iste por uma delgada camada de liquido o que torna difficil a reparação por decantação.

A centrifugação que deve ser feita num centrífugador de cerca de 4000 voltas por minuto, segundo a tecnica dos auctores, dá-nos um sedimento mais rico em bacillos.

Nem todos os bacillos que existiam na mistura se encontram no sedimento, por los motivos ja' acima apontados, sabendo alguns fiara a superficie livre do liquido e' ardo por em que, se empregarmos um centri

fugados que não oscille e se deixarmos fazer a centrifugação durante dez a quinze minutos, obtemos um depósito onde estará reunida a quasi totalidade dos bacillos.

Por decantação separaremos do liquido o sedimento que com o auxilio d'uma pipeta collocaremos nas laminaes para ser estendido, fixado e depois corado.

Para se obter uma adherência completa á lamina e' conveniente addicionar ao sedimento um pouco da materia a examinar, isto por esta ser mais viscosa, ou então juntar-lhe um pouco de soro sanguineo ou soluto de albumina que produzem o mesmo effeito.

Procedendo depois da respectiva coloração ao exame microscopico, nota-se, que do esarro só ficaram alguns restos amorphos sendo a maior parte do preparado constituido por pequenas granações indistinctas, por bacillos da tuberculose e varios outros agentes pathogenicos.

Da importancia d'este methodo podemos apresentar algumas considerações visto que o utilizamos para o exame de varios esarras de individuos tuberculosos e suspeitos de tuberculose.

Comparando os resultados obtidos por este methodo com os conseguidos pelo de Joffe

Até aqui nós notamos que, sendo o exame positivo pelos dois methodos, aquelle nos dava, por campo microscopico, o triplo ou o quadruplo de bacillos.

Como obtivemos em que, como se vê das observações adiante archivada, a pesquisa sendo negativa pelo methodo Ziehl-Neelsen era positiva pelo da antiformina.

Estes factos bastam para definir o valor do methodo.

É certo porém que é um pouco moroso e tem os seus defeitos.

Assim, dizendo varios bacteriologistas, que a simples solução a 20% de antiformina basta para fazer a digestão do esecarro, não é essa a nossa opinião, porque se o esecarro for muito espesso ou temos de empregar uma quantidade muito maior do resíduo o que nos dará um sedimento pouco rico em bacillos, a não ser que façamos a centrifugação de todo o liquido, ou se nos forçados a empregar um resíduo mais concentrado, a 40 ou 50%, na maior parte dos exames o que é mais conveniente.

Muitas vezes ainda somos obrigados a recorrer ao auxilio do calor para obter uma digestão rapida e um producto limpo e fluido.

Procedendo assim nós teremos em menor

volume a mesma riqueza bacillar e mais facilmente obtemos um sedimento conveniente para o exame microscopico.

Julgamos tambem ser desnecessario um centrifugador de 4000 voltas por minuto, porque sendo nos utilizado de apparatus d'elles, que davam 2500, 4000, 8000 e 15000 voltas por minuto, obtivemos o mesmo resultado talvez porque o de menor velocidade esteve em melhores condicoes de conservacao.

De todos os centrifugadores julgamos mais convenientes os de turbina que os electricos e os de mao.

Estes nao tem uma velocidade regular e aquelles nao param suavemente, como deviam, podendo portanto novamente em suspensao grande numero de bacillos.

A simples centrifugacao tem por um inconveniente de nao reunir no fundo do tubo todos os bacillos, pois muitos vem a superficie pelas razoes ja' apontadas quando tratamos da sedimentacao e mesmo pela accao da forza centrifuga.

Tem-se procurado obviar a este defeito addicionando a rotacao um pouco d'alcool que faria diminuir o peso especifico d'ella, mas augmentariamos o seu volume

o que prejudicaria bastante o resultado desejado ou então, o que seria melhor, usando os chamados processos mistos, Antiformina e cloroformio, antiformina e ligroina e antiformina e clorato de sódio de que vamos tratar.

III

Methodos mistos

Antiformina e cloroformio

Devido ao facto de o methodo da antiformina ser moleros e de certa difficuldade na execucao, convindo que na pratica se procure um methodo, que seja o mais simples possível, de rapida execucao e ao mesmo tempo de confi-
aneca, Loeffler depois de varias experimen-
cias conseguiu encontrar um processo que
satisfaz a essas exigencias.

Esse processo e denominado methodo da antiformina e cloroformio e consiste no seguinte:

A uma certa quantidade de esgarro, collocada
num tubo de ensaio, mistura-se equal
quantidade de antiformina a 50%.

A digestão, auxiliada pelo calor, produz-
se rapidamente formando a liquida espuma
e tornando-se mais ou menos amarelada.

O producto de digestão funde-se numa ole-
terminada quantidade, circa de um decimo
do seu volume, de uma mistura de 10 par-

des de chloroformio e 90 de alcohol.

Agita-se fortemente e centrifuga-se em seguida durante dez a quinze minutos.

Succede então o seguinte: o chloroformio é rapidamente separado da mistura, agglomera-se no fundo do tubo do centrifugador, devido ao seu peso específico (1,489) ser bastante elevado.

Entre o chloroformio e a antiiformina, que ficam nitidamente separados, forma-se um disco contendo a quasi totalidade dos bacillos de Koch, arrastados mechanicamente pelas gotticulas de chloroformio.

O disco é retirado in toto e estendido numa lamina para, depois de fixação com auxilio de albumina, ser corado e examinado.

Fizemos o emprego deste methodo extremamente simples na analyse de varias expectorações e obtivemos os melhores resultados possiveis, porem não superiores aos obtidos pelo methodo da antiiformina.

Ita verdade este methodo é de facil execução, porem uma difficuldade se nos apresenta.

Essa difficuldade consiste em retirar o disco, a que acima alludimos, do tubo do centrifugador. Para o conseguir auxiliamo-nos d'uma pipeta com a qual retiramos primei-

ramente a antiformina.

Depois de retirada esta, inclinando um pouco o tubo de centrifugação, absorvemos cuidadosamente o chloroformio vindo e cuida da de encostar a extremidade da pipeta às paredes do tubo para não tocarmos no disco.

Se o disco estiver bem formado, inclinamos o tubo sobre uma tábua de vidro, aquelle deslizará facilmente ao longo do tubo em virtude de estar ainda humedecido pelo chloroformio e murro porque algumas gotas deste alli ficaram as quaes absorvemos depois com papel de filtro.

Se a centrifugação n não fizer convenientemente será difficil retirar o disco, pois este se desagregara, em virtude de não ter ficado completamente formado e bem ligado, perdendo-se portanto grande parte da bacillos de Koch.

~ Methodo simples da ligroina ~

Este methodo deve-se a Lange e Schmidt.

O processo consiste no seguinte:

Agita-se um macero ou fuso bacillar em meio aquoso com ligroina, benzol, futhol, etc., mas principalmente com ligroina; depois de algum tempo de repouso e hydrogênio de carbono, de peso especifico mais leve, sobe á superfície do liquido arrastando consigo os bacillos da tuberculose.

O aquecimento pode activar a separação das duas camadas do liquido.

O facto mencionado é devido á que o envoltorio cirroso dos bacillos de Koch tem maior força de adherência para os hydrocarbonetos que para os liquidos aquosos, sendo por isso arrastado por aquelles.

Depois de algum tempo de repouso nota-se que se formaram duas camadas liquidas distinctas, uma inferior constituida pelo liquido aquoso primitivo, outra superior formada pela ligroina ou producto analogo contendo os bacillos da tuberculose na camada limite das duas superficies sob a forma d'um liquido ven, perfeitamente perceptivel á vista, mas muito difficil de

retirar.

Consegue-se retirá-lo com o auxilio d'uma
"ore ou pipeta" através da camada de ligroi-
na que se evapora sobre a lamina ou di-
nando evaporar naturalmente o liquido va-
satil que constitui a camada superior, faci-
litando assim a separação do seu bacillar.
Depois de collocado o seu na lamina faz-se
a sua cultura, fixação e coloração como pa-
ra os outros methodos.

Methodo duplo. Antiformina e ligroina

Do Dr. Georg Bernhardt se deve o ter conseguido
unir os dois methodos, antiformina e
ligroina, obtendo magnificos resultados mesmo
quando os bacillos são esporádicos.

A homogenização dos productos a examinar
é feita pela antiformina por se obter mais
rapidamente e muito mais completa que
com a linuvia de roda, afim de que não
são precisas tão grandes quantidades de
liquido.

A primeira parte do methodo faz-se como
se se tratasse do simples methodo pela antiformina;
depois de obtida a homogenização e cla-
rificação do liquido junta-se-lhe, segundo a

quantidade do liquido, um a tres centimetros cubicos de ligroina, agita-se fortemente e espera-se pela reposicao ou pela centrifugacao a subida d'esta.

A quantidade de ligroina a adicionar depende tambem do formato do tubo empregado, pois e' conveniente que a camada d'esta tenha 3 a 5 mm. de espessura.

Em seguida procederem como foi dito para o simples methodo da figroina.

Estas lições occorriam de experimentar estes dois methodos da ligroina pela falta d'este producto no nosso mercado e mesmo porque tudo o mandado vir do estrangeiro não veio a tempo de o utilizarmos.

Methodo duplo da antiformina e chloreto de sodio.

A homogenizaçao por este processo e' feita ainda pela antiformina.

Depois de obtida a clarificaçao do liquido adiciona-se the chloreto de sodio ate a saturacao e que augmenta consideravelmente o peso especifico d'este, vindo portanto as bacillas da tuberculose a superficie formando uma delgada camada que se retira com o auxilio d'um ore ou d'uma pipeta.

Fizemos algumas experiencias com este processo mas não obtivemos os resultados desejado e que esperavamos embora tiveremos deixado estar em repouso o liquido durante cerca de 36 horas.

Não queremos com isto dizer que o methodo não dá os resultados conseguidos pelos outros; e' apenas que este facto não duvida de nossa pouca tecnica.

— I Quadro de expensas realizadas —

Doente	Emp ^o	Diagnóstico	Despesa de facilla de Koch	
			Mult. kind	M. de audy ^o M. de gdo. ant. e de gdo.
M. de C. S. P. M.	1	anquillo de L.	0	0
C. S. Cabral	4	Tuberculose	2 fac.	4
A. Costa	1	"	0	0.5
M. M. M. M.	10	"	1	8
J. M. M.	10	"	0	0.5
M. de T. M.	10	"	0	3.5
M. de A. M.	10	"	1	4.5
M. de C. M.	10	"	3	4
A. de J. M.	10	Tuberculose	2	6.5
M. de C. M.	10	"	1	2
M. J.	4	"	3.5	4.5
M. de M.	4	anquillo de L.	0	0
J. de M.	4	"	0	0

- II Cuadro de experiencias realizadas -

Paciente	Edad	Circunstancias	Experiencia de vacillas en el est		
			Indicador	Nu. Multiplicado	Indicador
M. Juana C.	4	Indicador de vacillas	0	2	2
M. Experto	4	Indicador de vacillas	0	0	0
A. A. P. Balle	4	"	0	0	0
C. Costa	4	Indicador de vacillas	0	1	1
J. de C. López	4	Indicador de vacillas	0	0	0
M. Hilda	4	"	0	Indicador	Indicador
A. M. Rodríguez	4	"	0	0	0
M. M. Juana	4	"	0	Indicador de vacillas	Indicador
M. M.	4	Indicador de vacillas	0	2	2
M. de S. de M.	4	"	Indicador	Indicador	Indicador
M. B.	10	Indicador de vacillas	0	0	0
A. Costa	4	Indicador de vacillas	0	0	Indicador de vacillas

Conclusões

I.^a Para os casos de raridade bacillar quer em es-
carro, fús, fêjes ou derrames convém do proces-
so tendentes ao enriquecimento bacillar prece-
dido de homogeneização, caso o processo Ziehl-Ne-
elsen seja negativo.

II.^a Dentre os processos de homogeneização prefiro o
da antiformina.

III.^a Dentre os processos de enriquecimento em con-
centração bacillar prefiro o método do cloroformio
(método de antiformina-cloroformio) com centrifu-
gação.

Bibliographie

- Funck — Bacteriologie clinique.
- Walter Larrier — Diagnostie de la tuberculose par les nouveaux procédés de laboratoire.
- Chazovain-Wetzel — La bactériologie de la tuberculose professionnelle.
- Institut Pasteur (Paris) — Enseignement de la bactériologie.
- Walter Teichmann — Tuberkelbazillennachweis — Deutsche Medizinische Wochenschrift — 1810
- Albers Schönberg — Allgemein Diagnostie D. M. W. 1810
- Theodor Houzella — Deber Nachweis sehr spärlicher Mengen von Tuberkelbazillen — D. M. W. — 1810
- Hoffmann — Anwendung des Uhlenhuthschen Verfahrens zum Nachweis spärlicher Tuberkelbazillen im Gewebestücken D. M. W. 1810
- Georg Bernhardt — Ueber die Verwendung von Antiformin und Ligroin für den Nachweis

nachweis der Tuberkelbazillen im Sputum D. M. W. 1860

Seheven ————— Nachweis spärlicher Tuberkelbazillen im Sputum. D. M. W. 1808

Kögel ————— Über den Nachweis von Tuberkelbazillen im Sputum nach der Doppelmethode von Cellermaier Erlangen. D. M. W. 1808

Lange und Mitsch — Eine neue methode des Tuberkelbazillen-nachweises. D. M. W. 1808

Proposições

Anatomia descriptiva — A carotida externa não de faltar, nascendo os seus ramos directamente da carotida primitiva.

Histologia — As células do corpo amarello estão em contacto directo com os capillares sanguíneos.

Anatomia topographica — Não existe a anatomia topographica visceral.

Physiologia — Não admitta uma saturação activa dos vasos.

Pathologia geral — A homogenização e enriquecimento bacillar constitue o processo de escolha para a pesquisa do bacillo de Koch.

Anatomia pathologica — Não existem nem traços anatomicos.

Materia medica — A coelenterina é um medicamento de preferencia nos casos de setano.

Pathologia externa — No tratamento dos ab-
cessos frios prefiro a punctação à
incisão.

Hygiene — As ereções são focos
de doenças.

Pathologia interna — D'entre as pseudo-
appendicites tem mereção espe-
cial a typhlotomia.

Operações — A rapidez é a con-
dição essencial para o bom êxi-
to d'uma operação.

Partos — Os apertos da bacia
não authorizam o parto prematu-
ro.

Medicina legal — O melhor meio de de-
struição dos cadáveres é sem duvi-
da a cremação.

Visto.
J. Peres
priv. g^{te}