

Guilherme d'Azevedo Lima

Vacinas antiestafilocócicas

AUTOGENICAS

Trabalho do Laboratorio de Bacteriologia
da Faculdade de Medicina do Porto

DISSERTAÇÃO INAUGURAL

APRESENTADA Á

Faculdade de Medicina do Porto

161/4 F 77

Porto--Outubro, 1915

V. A. Vasconcelos

AUTOGRAFIA

Faculdade de Medicina de Porto

Faculdade de Medicina de Porto

FACULDADE DE MEDICINA DO PORTO

DIRECTOR

CANDIDO AUGUSTO CORREIA DE PINHO

LENTE SECRETÁRIO

ÁLVARO TEIXEIRA BASTOS

CORPO DOCENTE

Professores Ordinários e Extraordinários

- | | | |
|--|---|---|
| 1. ^a classe—Anatomia | { | Luís de Freitas Viegas
Joaquim Alberto Pires de Lima |
| 2. ^a classe—Fisiologia e Histologia . . . | { | António Plácido da Costa
José de Oliveira Lima |
| 3. ^a classe—Farmacologia | | Vaga |
| 4. ^a classe—Medicina legal e Anatomia
Patológica | { | Augusto Henrique de Almeida Brandão
Vaga |
| 5. ^a classe—Higiene e Bacteriologia . . . | { | João Lopes da Silva Martins Júnior
Alberto Pereira Pinto de Aguiar |
| 6. ^a classe—Obstetrícia e Ginecologia . . | { | Cândido Augusto Correia de Pinho
Álvaro Teixeira Bastos |
| 7. ^a classe—Cirurgia | { | Roberto Belarmino do Rosário Frias
Carlos Alberto de Lima
António Joaquim de Sousa Júnior |
| 8. ^a classe—Medicina | { | José Dias de Almeida Júnior
José Alfredo Mendes de Magalhães
Tiago Augusto de Almeida |
| Psiquiatria. | | António de Sousa Magalhães e Lemos |

Professores jubilados

José de Andrade Gramaxo
Pedro Augusto Dias
Maximiano Augusto de Oliveira Lemos

A Escola não responde pelas doutrinas expendidas na dissertação e enunciadas nas proposições.

(Regulamento da Escola, de 23 de abril de 1840, art. 155.º).

A meus queridos Pais

A' MEMORIA

DE

minha tia e madrinha


A. Carolina d'Azevedo Pinheiro

A meu irmão

A MEU PADRINHO

Plácido de Sousa

Nunca esquecerei a vossa
amisade. Dedicando-vos este
modesto trabalho, viso apenas
a patentear-vos a minha pro-
funda gratidão.

 minha prima

D. Estela d'Azevedo Pinheiro

Aos meus amigos

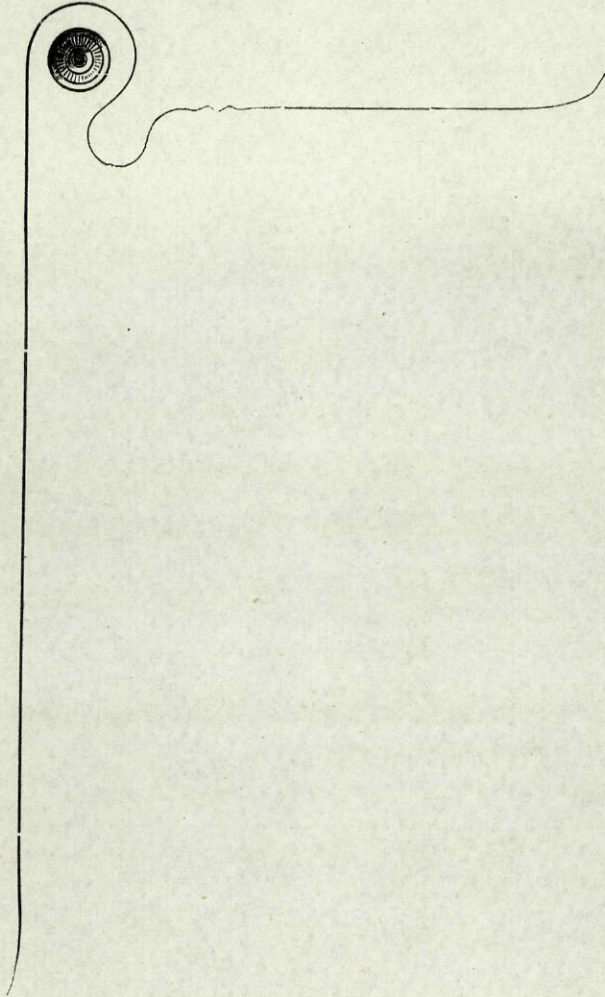
Aos meus discípulos e contemporâneos

Ao Dr. Carlos Ramalhão

AO MEU ILUSTRE PRESIDENTE DE TESE

o *Senior Professor*

Dr. Alvaro Teixeira Bastos



Prólogo

A cúpula do edifício, representado pela nossa árdua e longa carreira escolar, impõe-nos a apresentação duma tese inaugural que represente, por assim dizer, o cutelo que scinde a cadeia que prende o aluno à Escola onde foi armazenar conhecimentos que ao descer à prática da vida forçoso se lhe torna colocar na verdadeira ordem para que deles possa tirar proveito. Mas, devemos confessá-lo, êste último sacramento, prestes a desaparecer, e naturalmente porque foi reconhecida a sua inutilidade, é para nós um verdadeiro embaraço, porque saídos duma Escola com conhecimentos gerais sôbre todas as cadeiras ali professadas e sem tempo para nos prepararmos proficientemente, vemo-nos obrigados, pela exigência da lei, a escrever sôbre qualquer dos ramos do vasto

campo da medicina ou da cirurgia, como se já fôsemos um velho, carregado de experiênciã e saber, quando apenas somos um novo, sem competênciã e a quem a pena emperra sôbre o papel.

¿Que fazer porêem?

Perdido o mêdo e depôsto o receio, enveredamos pela senda do dever a cumprir com o pensamento sempre fito na benevolênciã dos nossos mestres, que não deixarão de reconhecer as difficuldades que se nos antolharam, até na escolha de assunto, quanto mais no mesquinho desenvolvimento que lhe demos.

E assim, lançando um olhar vago e indeciso para a já longa sêrie de descobertas, iniciadas por Pasteur, o descobridor da vacina antirrâbica, e continuadas por outros sâbios até hoje, ficâmos deveras maravilhados ao vermos quantos casos de cura se operam actualmente, considerados incuráveis noutros tempos.

E', pois, devido ao aturado estudo dos benemêritos scientistas, que possuímos hoje a vacina da variola, difteria, tifo, peste, gonococcica, estafilocócica, etc., com as quais se teem operado curas que teem feito o espanto do mundo inteiro e como tal uma revolução completa na sciência médica.

E' esta última, a estafilocócica, que escolhemos para servir de base ao nosso modesto trabalho, chamado dissertação inaugural, que temos o arrojo de apresentar à Faculdade de Medicina do Pôrto.

E ao fazê-lo, praticaríamos uma indignidade e cometeríamos uma ingratidão, imprópria dos corações bem formados, se não consignássemos neste lugar o nosso profundo reconhecimento a todos aqueles que tam generosamente nos auxiliaram, especializando os nomes do nosso ilustre presidente de tese, o Ex.^{mo} Sr. Prof. Dr. Álvaro Teixeira Bastos, por quem temos a mais funda admiração e a quem devemos a fineza de ter aceitado o nosso convite; e do Ex.^{mo} Snr. Dr. Carlos Ramalhão, digníssimo primeiro assistente de Bacteriologia, a quem devemos ensinamentos preciosos para a elaboração desta tese.

*
* *
*

Antes, porém, de apresentarmos o plano do nosso trabalho, cumpre-nos dizer que êle foi praticado no laboratório de Bacteriologia da Faculdade de Medicina, tendo-nos sido cedidas algumas observações, do assunto que versámos, no laboratório do Prof. Dr. Alberto de Aguiar e que a preparação das vacinas antiestafilocócicas portuguezas tinha sido já iniciada no laboratório Câmara Pestana, de Lisboa.

Pôsto isto, dividiremos o nosso trabalho em três partes:

Na primeira—O estafilococo—A'cêrca dêste

agente microbiano diremos o que seja absolutamente indispensável conhecer e que mais de perto se relacione com a preparação das vacinas.

Na segunda — **Vacinas antiestafilocócicas** — Descreveremos a maneira como preparámos e conservamos as vacinas autogénicas e faremos um pouco de história sobre a vacinoterapia antiestafilocócica.

Na terceira — **Parte clínica** — Apresentaremos as observações referentes ao emprêgo das nossas vacinas bem como algumas de médicos estrangeiros, tirando por último, ainda que a traços rápidos, as conclusões ao nosso modesto trabalho.

1.^a PARTE

CAPÍTULO I

O estafilococo

Tendo intitulado o nosso despretencioso trabalho «Vacinas autogénicas antiestafilocócicas», incorreríamos numa falta grave se não descrevêssemos, ainda que rápidamente, a bactéria que foi, por assim dizer, a matéria prima das vacinas que inoculámos.

Bem sabemos que não vamos apresentar novidades nas páginas que se seguem, nem a isso nos propomos; mas apenas preencher o que supomos seria uma lacuna. Claro está, que para bem se poder preparar uma vacina, seja ela colibacilar, estreptocócica, gonocócica, etc., é forçoso conhecer de perto as diferentes propriedades do agente bacteriano, que tivermos de manipular, para conseguir um produto injectável.

¿Sendo assim, deveríamos descrever a técnica da preparação das vacinas que empregamos, falar na sua aplicação etc., sem fazermos uma ligeira descrição do estafilococo?

Seria incorreremos, parece-nos, em grave erro...

*

* *

Estafilococo é a bactéria cujos elementos se encontram divididos irregularmente, apresentando-se agrupados em *amas* ou *cachos*.

Klebs, em 1874, e Eberth, em 1875, descobrem-no no pus das lesões ósseas.

Em 1880 Pasteur, o grande cientista, encontra-o no pus do furúnculo e da osteo-mielite, cabendo-lhe a honra de o cultivar pela primeira vez.

No ano seguinte, Ogston vai encontrá-lo no pus de numerosos abscessos.

Em 1884 e 1885, Rosenbach e Passet, apresentaram trabalhos em que dizem terem-no podido isolar no estado puro.

Foi, portanto, com os estudos levados a efeito por estes dois bacteriologistas, que a bactéria, de que nos vimos ocupando, ficou bem descrita.

*

* *

O estafilococo, podemos afirmá-lo, é o micrococo que mais espalhado se encontra na natureza.

Este agente bacteriano, encontra-se espalhado por toda a parte, sendo facilímo encontrá-lo quer nos meios cósmicos—*ar, água, solo, poeiras*, etc. — quer sôbre o corpo humano — *vestidos, pele, mucosas, cavidades naturais acessíveis ao ar, matérias fecais*, etc.

Vive no corpo humano, como saprofita, à espera que chegue a ocasião propícia em que se lhe abra uma porta, que possa dar-lhe ingresso no organismo, podendo então tornar-se—*agente mórbido*.

Ele produz, em certos casos, apenas uma doença local—*acne, furúnculo, antraz, abcesso quente, etc.*; noutros, porém, generaliza-se, destrói os tecidos por *fleimão* e chega às vezes a entrar na rede circulatória, assistindo-se então a uma verdadeira *estafilococcia* com infartos, abcessos metastáticos nas vísceras, nas articulações e até na *médula óssea*.

Outrora consideravam-se duma grande gravidade as afecções produzidas pelo estafilococo nos diabéticos, porque attribuía-se ao açúcar a propriedade de favorecer a acção patogénica deste germen.

Mas Nicolas, que se dedicou ao estudo d'este assunto, concluiu que nem sempre o açúcar influi na virulência do estafilococo, variando portanto a sua acção segundo os casos e as condições experimentais.

Devemos dizer, que entre as causas que mais favorecem a infecção estafilocócica nos diabéticos, se devem colocar em primeiro lugar as seguintes:

- a) Alterações vasculares.
- b) Alterações pancreáticas.
- c) Lesões nervosas.
- d) Associações microbianas.

Nem só o homem é atacado por este agente microbiano:—são-no também os bovídeos e os solípedes.

O coelho possui a propriedade de ser extremamente receptivo.

Alguns autores demonstraram também que elle exerce uma certa acção sobre os peixes e as aves.

Caracteres morfológicos

Não resta dúvida que o estafilococo é o verda-

deiro tipo do micrococo, quer dizer, da *bactéria exacta e absolutamente esférica*.

Ao microscópio, os seus elementos celulares teem todos diâmetros idênticos e apresentam a forma dum círculo perfeito.

Quanto às suas dimensões, convém ter bem presente que apresentam grande variabilidade, quer em uma mesma preparação, quer em preparações provindo de fontes diversas, tais como:—*pus, culturas sôbre meios sólidos, culturas sôbre meios líquidos, etc.*

As dimensões variam, ordinariamente, entre meia micra e três micras, devendo notar-se que os elementos estafilocócicos, provenientes de culturas, são tanto mais grossos quanto mais elevadas tiverem sido as temperaturas empregadas para activar o seu desenvolvimento. Acontece, por vezes, que em certas culturas realizadas sôbre *agar, sôro, batata*—os cocos apresentam-se ainda muito mais grossos, não tendo já forma esférica e corando-se muito mal.

Estes constituem portanto, as chamadas *formas monstruosas*.

E àcerca dos caracteres morfológicos, restanos falar do modo como se agrupam os elementos; e pôsto que eles correspondam quasi sempre ao *tipo estafilococo*, (amas ou cachos), variam contudo um pouco em certas circunstâncias.

Pelas razões expostas, não é raro observarem-se, simultânea ou sucessivamente, isolados, em diplococos, em tetracocos, em certas cadeias e por fim em estafilococos, quer dizer, em montão, (*amas*) mais ou menos volumosos.

Os *amas*, no *pus*, apresentam-se de ordinário pouco volumosos e constituídos, a maior parte das

vezes, por 2, 3, 4 e 5 elementos microbianos e mais raramente por 9 e 10.

Convém frisar que elles apparecem frequentemente cercado as células de pus, mas pode acontecer que sejam intracelulares; e este facto tem por vezes acarretado enganos, tendo-se chegado a confundi-los com os gonococos de Neisser.

Os estafilococos podem ser corados por todas as cores da anilina, e gozam da propriedade de conservarem muito bem o Gram.

Nós, em todos os exames directos, a que procedemos, usámos o método de coloração—Gram-Nicolle, por que tem a vantagem de os fazer sobresair, corados em violeta, com fundo róseo.

Propriedades biológicas

E' já bem conhecido hoje, não só pelo que dizem os tratados de bacteriologia, mas ainda pela experiência, que o estafilococo possui uma resistência notável à acção dos agentes físicos e químicos.

E somos levados a registrar este facto, porque elle por si só mostra claramente ser de grande facilidade conservá-lo, e daí poder-se proceder a todas as operações necessárias para conseguir obter uma boa vacina, sem que seja preciso usar das precauções que a preparação doutras, entre ellas a gonocócica, exigem, a fim de não ser comprometida a vitalidade do agente microbiano.

E' fora de dúvida, que a resistência do estafilococo facilita extremamente a preparação das vacinas; mas, apesar disto, exporemos, ainda que rapidamente, a influencia que a dissecação, o calor, o frio e os antisépticos exercem sobre o agente mórbido de que vimos tratando.

Dissecção — A dissecção é-lhe pouco sensível, porque se tem visto o estafilococo, no estado sêco e sôbre lâminas, resistir durante 10 dias.

Igualmente se tem verificado que as suas culturas em calor, conservadas à luz difusa, são depois de quatro meses e mais, susceptíveis de rejuvenescer.

Calor — O estafilococo possui um certo grau de resistência para o calor, sendo Steruberg de opinião que as suas culturas necessitam duma temperatura de 56° a 58° para serem esterilizadas.

Outros autores, e entre eles Rodet, são de opinião que para esterilizar uma cultura são necessárias as seguintes temperaturas :

41°	durante 2 dias
45°	» 1 dia
e para matá-las	
44°	durante 5 dias
50°	» 2 »
72°	» 1 ^h 35'
80°	» 1 ^h 15'

A experiência tem demonstrado que êle, depois de sêco, é muito menos sensível à acção do calor, podendo até resistir, durante algum tempo, à temperatura de 100°.

Frio — Pelo que diz respeito à acção de baixas temperaturas, o estafilococo resiste muitíssimo, conservando portanto a sua vitalidade.

Wolch, depois de o ter submetido, durante muitos dias, à temperatura de 8°, verificou que êle conservava as suas propriedades.

Antisepticos — O estafilococo oferece também uma certa resistência quando em contacto com os antisépticos.

Lubber conseguiu impedir o seu desenvolvi-

mento em caldo, adicionando-lhe um dos seguintes antisépticos:--*ácido bórico, ácido acético, ácido láctico, ácido salicílico, iodo e sublimado*, respectivamente nas proporções 1:327, 1:350, 1:655, 1:1000 e 1:8000; mas para os matar, será necessário o emprego de doses mais consideráveis.

Bollau diz que o ácido fénico, a 1:100, serve perfeitamente para esse fim, desde que esteja em contacto com a cultura durante duas horas pelo menos.

Vários autores preconizam o sublimado a 1:1000, como um bom microbicida; mas quanto ao tempo que elle deve actuar para exercer a sua acção estão em desacordo.

Mas o certo é que, se existem diferenças notáveis na acção dum microbicida, como o sublimado, elas não podem ser senão attribuídas ao facto do meio ser mais ou menos albuminoso e à sua riqueza em sais.

A acção do iodofórmio tem sido também muito discutida, havendo quem diga que apesar de esta substância ser tam eficaz no tratamento das feridas, não influencia de maneira nenhuma a vitalidade do estafilococo.

Mourel, porém, é de opinião que este antisséptico atenua um pouco a sua virulência.

Produtos solúveis tóxicos

E' da máxima conveniência saber a maneira como o estafilococo actua sobre o organismo e além disso conhecer os seus produtos tóxicos.

Esta descoberta cabe a Brieger, que foi o primeiro que em 1888 conseguiu isolar das culturas deste micróbio uma ptomaína, e a Leber, que pouco tempo depois separou do extracto alcoólico das

culturas uma substância não azotada cristalizável, a que deu o nome de flogosina, que possui propriedades piogénicas e necrosantes.

Em 1891, Courmont e Rodet, depois de terem precipitado pelo alcohol culturas filtradas de estafilococos, separam-nas em dois grupos possuindo propriedades acentuadamente antagónicas.

Assim, êstes dois observadores notaram nestas culturas a presença de duas substâncias, a saber:

- a) Substâncias solúveis no alcohol.
- b) Substâncias precipitadas pelo alcohol.

Verificaram depois que as primeiras possuíam uma actividade que era destruída a 55° e que injectadas em animais, os predispunham para poderem sofrer a acção patogénica do estafilococo etc. Estas substâncias parecem actuar impedindo a fagocitose; quanto às segundas, verificaram igualmente que gozavam de propriedades vacinantes comprovadas por experiências feitas em coelhos.

Em 1896, Van de Velle inoculou na pleura de diversos coelhos culturas de estafilococos, e viu nessa ocasião, que se formava um exsudato contendo uma substância que destruía enérgicamente os glóbulos brancos do sangue:—e a esta substância, que apresentava todos os caracteres de um fermento solúvel e cuja actividade cessava a 58°, deu-lhe o nome de leucocidina.

Não se pode afirmar ainda hoje se a leucocidina é fabricada pelo estafilococo ou se constitui um produto de reacção do organismo infectado.

Caracteres de cultura

Ao terminar êste capítulo, algumas considerações faremos àcerca da maneira de cultivar o estafilococo, agente microbiano, que não exige grandes

cuidados para o seu cultivo nos meios nutritivos artificiais.

Se para cultivar outros micróbios são necessários meios especiais, que só o estudo aturado dos bacteriologistas conseguiu obter, para o estafilococo basta empregar apenas os meios habitualmente usados nos laboratórios, tais como:—cálido, gelose, gelatina etc.

Em caldo, este micróbio pulula facilmente, turvando muito o líquido dentro em poucas horas e produzindo um depósito abundante de côr amarela ou branca no fundo do tubo, conforme a variedade de estafilococo cultivada.

Semeado em gelose a 37°, notam-se no fim de vinte horas, numerosas colónias, ao longo da estria, arredondadas e esbranquiçadas, que se tornam rapidamente confluentes, formando uma larga faixa granulosa, gordurosa e húmida, que toma a côr da espécie predominante.

Se, porém, a sementeira se faz em placas de gelatina, conservadas à temperatura de 20°, apresenta no dia seguinte pequenas colónias punctiformes, ligeiramente discoidais à lupa e de contornos muito nítidos, regulares e sem asperezas.

Pouco depois verifica-se que as colónias superficiais se coram, e que ao mesmo tempo começa a liquefacção do meio, notando-se também, que a coloração se torna cada vez mais nítida e que as colónias se dissociam e se fragmentam à medida que a liquefacção progride.

Procedendo-se à sementeira, por picadas em gelatina, acontece que ela apresenta uma faixa cheia de colónias acinzentadas; mas o botão superficial, a princípio acinzentado, não leva muito tempo a tomar a côr da variedade predominante.

A liquefacção também se produz rapidamente,

ganhando bem depressa as paredes do tubo e descendo até abaixo do traço da sementeira.

Poderíamos ainda descrever outros meios de culturas; mas como já dissemos o mais importante à cerca dos principais: — *caldo, gelose, gelatina* — finalizamos este capítulo terminando por frisar o seguinte: *todas as vacinas autogénicas, que inoculámos, foram preparadas à custa de colónias de estafilococos, obtidas por culturas sôbre gelose peptonada.*



2.^a PARTE

CAPITULO II

História

A humanidade regista todos os dias novas descobertas.

Elas representam o produto do trabalho dos que caminham a passos agigantados e conseguem alcançar o alcantilado cume dessa imensa e grandiosa montanha:—o *aperfeiçoamento*.

Em todos os ramos de actividade vêem-se surgir dia a dia, como por encanto, homens que, pelos seus estudos, concorrem poderosamente para beneficiar a humanidade, notabilizando-se tanto, que na história ficam gravados, a lêtras de ouro, os seus nomes illustres.

Mas descobertas há que, apesar de valiosíssimas, ficam muitas vezes sepultadas no esquecimento, ou porque a fôrça inevitável do destino fez desaparecer seus autores, ou porque êles tiveram a infeliz sorte de não encontrar quem os auxiliasse na árdua tarefa de propaganda, espalhando profusamente e aos quatro ventos, tudo quanto de bom elas encerravam.

Outras existem, porém, que não tendo ainda atingido o seu verdadeiro aperfeiçoamento, encontram desde logo admiradores, que as recebem de braços abertos, prontos a divulgá-las ou a introduzir-lhes modificações, chegando até muitas vezes, e ao cabo dum aturado estudo, a conseguir que possam vir a ser duma grande utilidade.

A medicina, vasto campo onde milita uma enorme legião de espíritos cultos, é diáriamente enriquecida por trabalhos científicos de extraordinário valor e duma multiplicidade extrêma.

E' à *arte de curar* que cabe nos últimos anos a suprêma glória; e assim, processos novos tem sido introduzidos na terapêutica, havendo portanto novas descobertas a registrar.

A vacinoterapia, que até hoje já obteve inúmeros louros, estamos certos de que, num futuro muito proximo, há de vir a alcançar o verdadeiro apogeu de gloria no mundo científico.

*
* *
*

Não pretendemos de forma alguma, neste capítulo do nosso modesto trabalho, mencionar tudo quanto sôbre *bacterioterapia estafilocócica* se tem feito e escrito até hoje, não só porque a sua leitura se tornaria fastidiosa, mas também porque, para o podermos fazer conscientemente e duma maneira completa, éramos obrigados a compulsar livros cuja aquisição, na época presente, se torna impossível.

E por isso limitar-nos hemos a fazer apenas uma pequena resenha dos principais trabalhos realizados até hoje, salientando sempre que possamos, tudo quanto seja digno de ser conhecido e registando ao mesmo tempo o nome de todos aque-

les que, tendo-se dedicado a trabalhos desta natureza, tenham enriquecido por qualquer forma a vacinoterapia estafilocócica.

*
* *
*

Divulgada na Inglaterra e na América, a seguir aos trabalhos de Wright, a vacinoterapia estafilocócica encontrara também nos últimos anos em França admiradores, não se devendo esquecer entre eles Mauté, que escreveu valiosos trabalhos sobre tam palpitante assunto e tem vindo ensaiando as vacinas com grande êxito num avultado número de portadores de estafilocócias cutâneas.

Devemos dizer que o nome de Wright se impõe, por que representa no estudo da vacinoterapia um papel primacial, apesar de alguns autores serem de opinião que os seus trabalhos derivam da obra de Pasteur.

E se somos levados a colocar em destaque o nome dêste bacteriologista inglez, é porque êle foi o autor da teoria sobre as opsoninas, que tam poderosamente concorrera para estimular os ensaios de imunização nas doenças microbianas, circunscritas e generalizadas.

Pode dizer-se, sem prejuízo de errar, que Wright enriqueceu, duma maneira assombrosa, a terapêutica das doenças inficiosas, descobrindo mais uma arma de combate.

Mas os seus trabalhos e os do seu colaborador Douglas, serviram também, pelo estudo das opsoninas, para bem definir o papel da fagocitose.

Nós sabemos que os fagocitos absorvem e digerem os micróbios, desempenhando um papel importante na defesa do organismo contra as doenças inficiosas.

Mas pode-se ser obrigado a perguntar: — os fagocitos gozam da propriedade de absorver os micróbios, ou a fagocitose é activada pela intervenção duma substância que circula no sôro?

Antes de Wright as opiniões dividiam-se. Metchnikoff admitia a fagocitose espontânea, mas acreditava na existência de certas substâncias no sôro, que actuavam sobre os fagocitos, estimulando o seu poder, a que ele chamou — *estimulinas*.

Flügge, Büchner e outros autores, negavam a fagocitose espontânea; mas Bordet e Loehleine demonstraram que a fagocitose era um acto celular, que podia operar-se sem intervenção de princípios contidos nos humores.

A demonstração experimental dêstes dois homens de sciência era a seguinte: — collocavam *in vitro* micróbios patogénicos (vibrião colérico, bacterídia carbunculosa, etc) em presença de leucocitos de cobaia, préviamente lavados muitas vezes, e por conseguinte desembaraçados do sensibilizador contido nos humores e de toda e qualquer substância solúvel capaz de favorecer a fagocitose, e verificaram que os micróbios eram englobados e digeridos pelos leucocitos.

Esta experiência, veio, pois, provar evidentemente que a fagocitose espontânea era um facto; mas deve-se contudo salientar, que a fagocitose aumenta sempre que os leucocitos e bacilos são postos em presença do sôro sanguíneo.

Eis aqui, com efeito, o resumo das experiências fundamentais de Wright.

— Em certas condições, os leucocitos agarram *in vitro* micróbios suspensos no sôro. Acontece, porém, que se se substitui o sôro por uma solução salina isotónica e que por uma lavagem se tira aos

leucocitos todo o traço de sôro, a fagocitose não se produz, ou manifesta-se levemente.

Pelo contrário, a fagocitose realiza-se, quando numa solução salina se lançam leucocitos lavados e micróbios que permaneceram no sôro e que foram em seguida desembaraçados dêste por lavagens repetidas.

E para demonstrar, duma forma evidente, tam importante assunto, três experiências se realizaram, não podendo nós deixar de as esquematizar no quadro seguinte:

Experiências	Agrupamento dos elementos	Resultados
I	Leucocitos+Micróbios+Sôro	} Fagocitose +
I I	Leuc. lavados (a)+Micr.+Sol. salina	
I I I	Leuc. lavados (b)+Micr.+Sol. salina	Fagocitose —

Comparando a experiência I com a III, conclui-se, que no sôro se encontra uma substância que desperta, por assim dizer, a acção fagocitária dos leucocitos.

A experiencia II mostra-nos que esta substância actua, não só sobre os leucocitos mas sobre os micróbios, a ponto de que lavagens repetidas não podem roubá-la.

E' a esta substância, que ainda até hoje não foi possível isolar, que Wright deu o nome de opsonina e cuja etimologia, oriunda do grego, quiere dizer—*eu o preparo para ser comido*.

Nota—a) Estes leucocitos estiveram mergulhados no sôro antes de serem lavados.

b) Estes leucocitos foram lavados para eliminar a influencia do sôro.

Actualmente, pouco se conhece sôbre opsoninas, a não ser o facto de que o sôro, aquecido a 55°-60°, perde rápidamente todo o poder opsonizante.

Numerosas hipóteses teem sido emitidas sôbre a sua origem, pelos que teem versado o assunto; mas como todas elas são muito nebulosas, preferimos deixá-las entregues ao silêncio.

Foram portanto os estudos sôbre opsoninas, realizados por Wright, que serviram de pedestal para a realização do seu método vacinoterápico.

Ele, porém, não fez applicações práticas do seu método, sem primeiro precisar bem o sentido da expressão *poder opsónico*, dizer o que se entendia por *índice opsónico* e qual a maneira de o poder determinar.

Incorreríamos numa falta grave, se omitíssemos neste lugar uma das partes mais importantes da técnica do seu método, e por isso vamos passar a expô-la.

Para determinar o poder opsónico do sôro de um doente qualquer, em face dum determinado agente bacteriano, procedeu êle da seguinte maneira:—colocou em contacto, numa mesma proporção, glóbulos brancos lavados, uma emulsão de bacilos e o sôro do doente; a seguir fez com esta mistura preparações microscópicas, que corara pelos métodos gerais.

Finalmente contou ao microscópio a proporção média de bacilos englobados por cada leucocito polinuclear.

Logo:—*poder opsónico*, é a relação entre o numero de micróbios fagocitados e o número de polinucleares que são necessários para os englobar.

Para poder determinar o *índice opsónico* repetiu a mesma experiência com a mesma emulsão de

bacilos e os mesmos glóbulos brancos, mas empregando, desta vez, sôro dum indivíduo normal.

De posse dêstes dois *poderes opsónicos*, foi-lhe possível calcular facilmente o índice opsónico.

O *índice opsónico*, é representado pela relação do coeficiente fagocitário do sôro a estudar em função do coeficiente fagocitário dum indivíduo normal.

Mas, para bem salientar o que acaba de ser dito, é que apresentamos os três quadros seguintes:

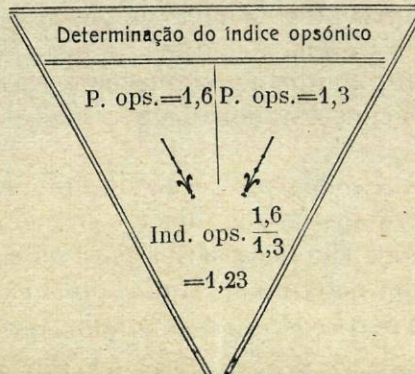
QUADRO I

Mistura em partes iguais	Contagem	Poder opsónico
Glóbulos bran. lavados	Bacilos fagocitados m (m=160) Polinucleares empregados n (n=100)	$P. ops. = \frac{m}{n} = \frac{160}{100} = 1,6$
Emulsão de bacilos α		
Sôro do doente		

QUADRO II

Mistura em partes iguais	Contagem	Poder opsónico
Glóbulos bran. lavados	Bacilos fagocitados p (p=130) Polinucleares empregados n (n=100)	$P. ops. = \frac{p}{n} = \frac{130}{100} = 1,3$
Emulsão de bacilos α		
Sôro de indiv. normal		

QUADRO III



Pelo que a traços largos acabamos de expôr, conclui-se que o método consiste em apreciar a impulsão particular dada pelo sôro aos leucocitos, tornando-os desta maneira aptos a fagocitar os bacilos.

*
* *
*

Depois dos trabalhos de Wright e Douglas, sempre que se encontrava um índice opsónico elevado, no decorrer duma doença inficiosa qualquer, isso equivalia a dizer-se que a fagocitose se fazia mal.

Podemos portanto afirmar, que a procura do índice opsónico dá-nos ensinamentos interessantes sôbre o diagnóstico e prognóstico de certas doenças inficiosas.

Assim, suponhamos que num indivíduo suspeito de tuberculose encontrávamos um índice superior à unidade.

Este facto viria em favor da tuberculose; e, ao contrário, um índice elevado, mostraria ter havido já uma infecção bacilar que tinha curado e vacinado ao mesmo tempo, numa certa medida, o organismo.

Mas a determinação do índice opsónico não dá apenas ensinamentos, debaixo do ponto de vista do diagnóstico e prognóstico; ela tem um valor maior pelo que de útil tem para a prática da vacinoterapia.

Foi Wright que valorizou a determinação do índice opsónico, porque tendo estudado cuidadosamente a curva das suas variações, reconheceu o inconveniente que havia em injectar doses muito fortes de vacina e também o de praticar as inoculações em certos e determinados momentos.

Está demonstrado que uma inoculação é seguida dum fase negativa, (diminuição do índice opsónico, isto é, da quantidade das opsoninas que circulam no sangue), à qual succede, mais ou menos rápidamente, uma fase positiva, (aumento do índice opsónico.)

Pelo que acaba de ser dito, se vê claramente que, sempre que se tinham de fazer séries de inoculações, impunha-se o dever de as efectuar durante a fase positiva — isto é, quando o índice opsónico se encontrava aumentado.

Não resta dúvida alguma de que uma inoculação feita durante a fase negativa, é sempre inútil e às vezes perigosa.

A história da vacinoterapia acarretou outrora, devido a não se conhecerem êstes factos, grandes dissabores àqueles que praticavam inoculações terapêuticas.

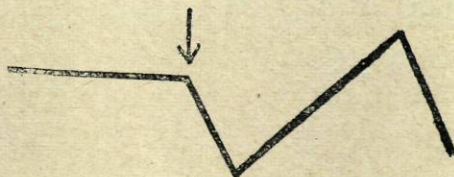
Depois de uma primeira inoculação, a procura sucesiva do índice opsónico permite saber quando principia a fase positiva, durante a qual se deve injectar novamente o doente.

Em face do exposto, comprehende-se bem a razão porque Wright attribuia tam grande importância à determinação do índice opsónico, sempre que praticava inoculações.

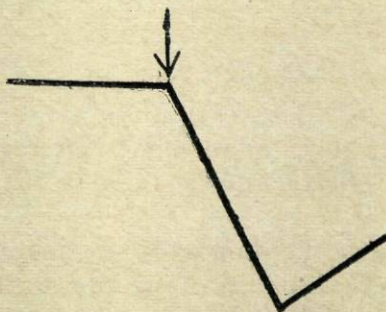
A determinação do índice opsónico era, podemos dizê-lo sem prejuizo de errar, a base do seu método, que veio fazer uma verdadeira revolução no vastíssimo campo da terapêutica.

Num trabalho de A. Lassneur sôbre vacinoterapia, vimos quatro esquemas muito curiosos que traduzem bem claramente o que atrás dissemos e por isso os vamos introduzir tambem neste trabalho:

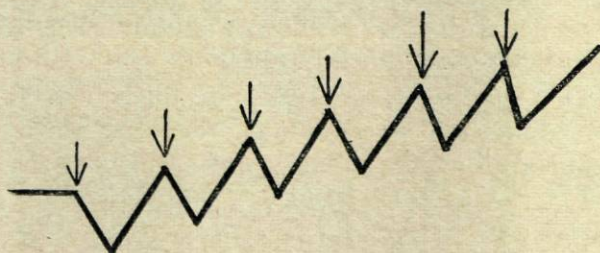
Esquema I—Inoculação correctamente doseada, fase negativa e fraca.



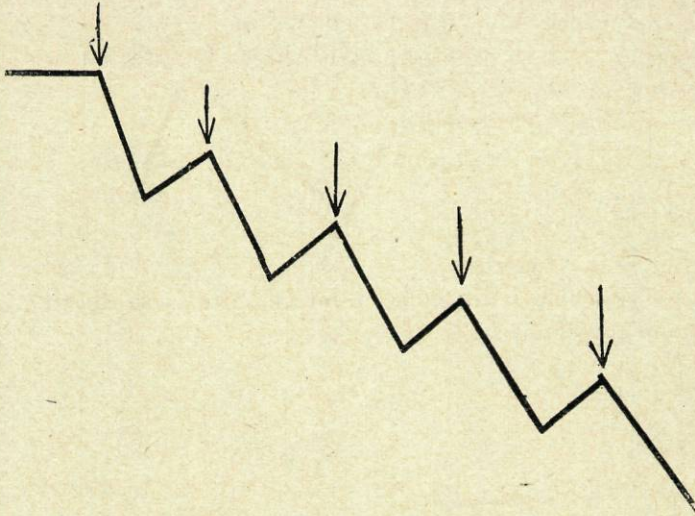
Esquema II—Inoculação muito forte, fase negativa muito pronunciada.



Esquema III—Inoculações correctamente doseadas e espaçadas.



Esquema IV—Inoculações praticadas extemporâneamente durante a fase negativa.



Uma outra parte, não menos interessante, do método de Wright, é a que se refere ao doseamento das vacinas.

Este processo de numeração de micróbios, que acarreta quási sempre um erro inferior a 10 %, é ainda hoje usado correntemente; e nós tivemos ocasião de utilizá-lo, quando do doseamento das vacinas autogénicas; e assim, quando versarmos o assunto descreve-lo hemos detalhadamente.

Convém dizer, que o método apresentado pelo ilustre médico inglês, resultante duma série de constatações biológicas interessantes, sem dúvida, debaixo do ponto de vista teórico, tornava-se todavia incompatível com a clínica corrente, restringindo portanto a possibilidade das aplicações práticas.

*
* *

O valor da terapêutica vacinal estafilocócica está nos bons resultados obtidos na prática por todos aqueles que dela teem feito uso para combater as infecções estafilocócicas.

Registaremos portanto o nome daqueles que se teem servido na sua clínica das vacinas; e, ao fazê-lo, não nos esqueceremos de mencionar, ainda que resumidamente, não só os resultados obtidos por elles, mas ainda as modificações introduzidas no engenhoso método de Wright.

*
* *

King Smith fez uma larga aplicação das vacinas, obtendo sempre com elas resultados surpreendentes. Em casos de acne, ligados à infecção bacilar e estafilocócica, empregou uma vacina mixta na dose de 5 milhões do micro-bacilo e de 10 do estafilococo branco; e a percentagem das curas foi de 50 %.

Noutros casos de acne, devidos só ao estafilococo branco, fez uso duma vacina preparada à custa d'este agente microbiano, fazendo inoculações de 10 milhões com magnificos resultados, pois que a percentagem de curas foi de 70 %.

Na furúnculose, em 700 casos tratados pelas inoculações de doses de 125 milhões de estafilococos brancos, repetidas duas vezes por semana, os resultados foram extraordinários, elevando-se a percentagem de curas a 90 %.

O mesmo autor obteve ainda, pelo emprêgo das vacinas antiestafilocócicas, bons resultados em alguns casos de sicose não parasitária e de ecze-

mas escamosos, notando que o prurido destes últimos desaparecia rapidamente.

A. Conor utilizou uma vacina mixta, preparada à custa de quatro culturas de estafilococo dourado, provenientes (um de osteomielite e três de furúnculo ou antraz) e de um micrococo tetragéneo, resultante de uma supuração cutânea.

A aplicação desta vacina, feita em vários doentes, uns portadores de furúnculos outros de supurações subcutâneas, deu bons resultados, curando uns e melhorando outros.

A vacina, que encerrava 100 milhões de micróbios por c. c., era injectada no tecido muscular em doses de $\frac{1}{2}$ e 1 c. c.; e no sistema venoso, nas de $\frac{1}{8}$ e $\frac{1}{4}$ de c. c.

Weinberg e Leuglet, depois de terem preparado uma vacina antiestafilocócica fluoretada, ensaiaram-na em 40 doentes atingidos de diferentes afecções, causadas quasi exclusivamente pelo estafilococo, verificando por esta aplicação, que os melhores resultados eram obtidos em casos de collecção purulenta, localizada e isolada, com abscessos fechados com qualquer sede, adenite supurada, furúnculo, antraz, abscesso da axila; mas em 2 casos de fleimão do braço e antebraço, obtiveram resultados surpreendentes.

Quanto à técnica seguida por estes dois experimentadores, devemos dizer que elles faziam inoculações de 100 milhões; mas em certos casos rebeldes, chegaram a inocular de cada vez 500 milhões.

Praticavam as injeções intramusculares e intra-venosas, verificando que elas eram quasi sempre bem toleradas pelos doentes, notando contudo que as intra-venosas eram algumas vezes seguidas duma pequena ascensão térmica e de cefalalgias;

mas estes accidentes eram, a maior parte das vezes, de pouca duração e fácilmente suportados pelo doente.

Maurice Renaud, depois de um estudo aturado durante muitos anos, preparou vacinas fazendo a esterilização à custa das radiações duma lâmpada de quartzo com vapores de mercúrio, attribuindo às esterilizadas por esta forma, propriedades curativas extraordinárias; pois que o processo, fazendo desaparecer as propriedades características da vida do estafilococo, deixava intactas as histoquímicas.

Notou além disso, que as vacinas assim preparadas gozam da propriedade de não determinarem fenómenos inflamatórios no ponto da injeção e de serem absorvidas rápidamente pelos tecidos, verificando que esta reabsorção rápida criava também um estado de intoxicação, que conduzia à imunidade pela aparição de anticorpos nos humores.

Para este autor, pois, as vacinas preparadas á custa de bactérias irradiadas, produzem resultados superiores aos obtidos pela acção coagulante do calor e pelos productos antissépticos.

Sellei inoculou também uma vacina preparada à custa dos productos autolíticos do estafilococo, obtendo resultados um pouco irregulares, sendo das estafilocóccias cutâneas, a furunculose a mais felizmente modificada e a acne vulgar a menos influenciada.

Sellei usou emulsões de estafilococos mortos, fenicando-as na dose 0,5 % agitando-as durante meia hora, aquecendo-as, centrifugando-as, etc.

Western, nos seus trabalhos sôbre o emprêgo das vacinas na acne, preconiza para o tratamento desta dermatite três espécies de vacinas que em-

prega segundo o predomínio dêste ou daquele tipo clínico, distinguindo-se três tipos:

1.º) Acne, em que o comedão é a lesão predominante.

2.º) Acne endurecida.

3.º) Acne caracterizada especialmente pela pustulação.

Pela experiência pessoal, Western verificou que para combater as lesões do primeiro tipo, era necessário injectar culturas de microbacilos; para as do terceiro, culturas de estafilococos; e para as do segundo, culturas mixtas (estafilococos e micro-bacilos).

Ensaiou esta vacinoterapia e com ela obteve bastantes casos de cura.

Mauté, chefe do laboratório do hospital Beaujon, ensaiou em França, com óptimos, resultados, as vacinas autogénicas estafilocócicas, preparando para cada doente geralmente duas espécies de vacinas, umas esterilizadas pelo calor e outras pelo fenol; e a experiência mostrou-lhe que certos casos, que pareciam resistir muitas vezes à acção das primeiras, eram influenciados pelas segundas, applicando as injectões ordinariamente no tecido celular subcutâneo da nádega e regulando as doses em harmonia com a natureza e intensidade da afecção, que variavam entre 250 e 1.500 milhões.

O mesmo Mauté, com doses elevadas, notara sempre que a reacção geral era nula ou insignificante, e que a reacção local era igualmente pouco nítida, pois apenas em certos casos é que o doente acusava uma ligeira dor três ou quatro horas depois da inoculação.

Quanto ao espaço de tempo que devia mediar entre duas inoculações consecutivas, marcava-o, apoiado sempre no *contrôle* dos fenómenos clínicos.

Este médico applicou as vacinas na acne, na furúnculose e no antraz, verificando que na acne os resultados eram os menos constantes, sendo contudo de opinião, que as formas de acne mais influenciadas pela vacinoterapia eram a flegomonosa e a pustulosa. Na furúnculose, em 150 observações, na maior parte de casos rebeldes, obteve resultados surpreendentes.

Applicou-as também em alguns casos de antraz; mas aí, como o emprêgo das vacinas foi sempre combinado com o tratamento cirúrgico, não pôde verificar a sua eficácia, parecendo-lhe contudo que a vacinoterapia modificava a evolução geral e local da doença.

Dwyer combateu as infecções oculares estafilocócicas pelas vacinas, tratando bastantes casos de hordéolos recidivantes pelas vacinas autogénicas, bem como três casos de conjuntivite, com óptimos resultados, fazendo geralmente inoculações em numero de sete a oito, sendo a primeira dose de 100 a 200 milhões, a segunda de 200 a 250 milhões, e as últimas de 1.000 milhões.

Inúmeros clínicos, teem portanto praticado, com bons resultados, a vacinoterapia estafilocócica; mas na história que fizemos, salientámos os principais, julgando-o sufficiente para mostrar bem a evidência a sua eficácia.



CAPITULO III

Colheita do material

Escolha do estafilococo

Seria desnecessário, e de certo supérfluo, mencionar aqui o facto, de que a primordial condição para se poder proceder à preparação duma vacina estafilocócica é, sem dúvida, a existência do estafilococo, comprovada não só pelo exame microscópico mas também pelo das culturas.

Um ponto existe, porém, que precisa ser esclarecido, pois que poderá obrigar a formular a seguinte pergunta: — ¿Pode-se utilizar qualquer amostra de estafilococo para a preparação das vacinas?

Pelos ensinamentos, collidos da leitura de tratados de bacteriologia, parece estar hoje averiguado que o poder cromogéneo do estafilococo não pode servir para diferenciar as espécies.

E tanto isto é verdade, que quando se fazem culturas de isolamento com um pus contendo estafilococos, proveniente duma só lesão, observa-se

uma mistura de colónias com tons diferentes, que vão desde o amarelo alaranjado até ao branco.

Além disso, pode-se modificar a sua biologia, fazendo-o passar sobre tal organismo, pois que o estafilococo possui uma tendência para se individualizar e localizar sobre tecidos semelhantes aos das lesões donde provém, tirando-se daqui a conclusão, de que um estafilococo de um furúnculo, reproduzirá mais facilmente um furúnculo, e que um estafilococo de artrite, dará mais facilmente lugar a uma artrite, etc.

Por outro lado sabemos, que por certas experiências se verificára que a virulencia varia por vezes, notavelmente, entre estafilococos provenientes de lesões semelhantes.

Todos os caracteres, que acabam de ser apontados, parecendo indicar o caminho mais seguro a seguir para a escolha da amostra, têm conteúdo suscitado, entre os que tem versado o assunto, longas discussões, e devo dizer de passagem, que se alguns ha, que não ligam ao facto grande importância, outros fazem dele cavalo de batalha e a meu ver com uma certa razão.

Pelo que sumariamente acaba de ser exposto, vê-se que sobre tão palpitante assunto as opiniões divergem; e a consequência lógica de tudo isto tem sido principalmente o terem utilizado vários tipos de vacinas todos os que nos ultimos ânos se tem dedicado à prática da vacinoterapia estafilocócica.

E' chegado portanto o momento de traçar um pequeno esquema que mostre claramente quais tem sido os tipos de vacinas estafilocócicas, até hoje empregados, e ao mesmo tempo procurar o ensejo de fazer algumas leves considerações acerca de cada um

Vacinas monovalentes	}	Autogénicas (tipo α)
		Heterogénicas (tipo β)
Vacinas polivalentes		(tipo δ)

α) Wright, na Inglaterra, e Mauté, na França, a quem se devem tão valiosos trabalhos sobre vacinoterapia, entre outros as tem preconizado, procedendo à sua preparação á custa dos elementos microbianos colhidos duma lesão do individuo que se pretende tratar.

A escolha do estafilococo, neste caso, está realisaada—*a vacina é preparada á custa do estafilococo que se colhe no próprio individuo*, qualquer que seja a natureza da lesão—*pustula acneica, furúnculo, antraz, etc.*, quer ela seja recente ou antiga.

β) Alguns autores dão a preferencia a estas vacinas, que dizem ter empregado com bons resultados.

Nos ultimos ânos, o seu emprego tem-se divulgado na Inglaterra, França e América, existindo até laboratórios, que diariamente lançam no mercado as chamadas *stock vacinas: vacinas antiestafilocócicas contra o acne, vacinas antiestafilocócicas contra a furunculose, etc.*

A escolha do elemento microbiano para a preparação destas vacinas é indifferente, servindo qualquer, desde o momento que seja cuidadosamente cultivado e isolado.

δ) Finalmente, outros autores há, que utilizam correntemente este tipo de vacinas.

Neste caso, a escolha do agente microbiano não é indifferente; e estas vacinas são preparadas á custa de estafilococos provenientes de lesões diversas—*pústula acneica, furúnculo, antraz, etc.*—quer dum só individuo, quer de vários individuos.

Hoje conhecem-se perfeitamente as lesões que o estafilococo pode produzir, e portanto onde o podemos ir procurar; e sendo assim, sempre que pretendemos preparar uma vacina antiestafilocócica procuramos o micróbio onde éle mais abundantemente pulula.

Nas nossas observações, resultantes da preparação e inoculação das vacinas autogénicas, notamos que todas as vezes que um pus colhido revelava estafilococos em grande quantidade e de maior virulencia, esse facto era devido a não virem associados com outros micróbios e á recente supuração da lesão que lhes deu origem.

A largos traços, dentro dos limites deste modesto trabalho, duas palavras diremos ácerca da maneira como procedemos á

Colheita do material infectante

A colheita do pus, à qual damos o nome de material infectante, quando contem estafilococos, faz-se num elemento acneico, num furúnculo, num autraz, etc, seguindo-se sempre o mesmo método para tal fim e não se devendo, em caso algum, esquecer as condições em que deve ser feita e as precauções a tomar.

Assim, antes de procedermos à colheita definitiva, para com ela realizarmos sementeiras e culturas, devemos fazer uma ou mais preparações com o pus suspeito e vêr, com o auxílio do microscópio, se éle acusa a presença de estafilococos.

Se éste exame, porém, não os revelar, não devemos desistir, mas antes proceder à cultura; por que esta, uma vez realizada, pode patentear-nos inúmeras colónias estafilocócicas, o que foi por

nós observado quando procedemos à preparação das vacinas autogénicas que inoculámos.

Parece, pois, estar demonstrado, que se para a preparação doutras vacinas microbianas é necessário que o exame microscópico revele o agente inficioso, que procuramos, não acontece o mesmo quando quisermos preparar uma vacina antiestafilocócica, porque se o exame directo não nos revelar o estafilococo, devemos ir mais longe, isto é, devemos ir até à cultura.

Escusado será dizer, que a colheita deve sempre ser levada a efeito, revestida de todas as condições de assepsia, de que se possa lançar mão, para que não venha acompanhada de inquinações estranhas, para o que necessário se torna o emprego de material devidamente esterelizado:--algodão, pipetas de Pasteur, etc.

A pipeta de Pasteur, cuja esterilização se realiza pelo calor sêco, fabrica-se no próprio laboratório, em virtude da sua simplicidade; pois que não é mais do que um tubo delgado, de vidro, tendo uma das extremidades obturada por algodão, e a outra, afunilada, com a ponta fechada à lâmpada.

A aspiração do pus faz-se lentamente, seguindo-se com toda a atenção a sua subida e usando de todo o cuidado afim de que êle, aspirado rapidamente, não venha sujar o algodão da extremidade superior da pipeta ou chegue mesmo à boca do operador.

É' indispensável que o material infectante recolhido fique suficientemente distante da ponta afilada da pipeta, afim de não ser destruído pelo calor da chama da lâmpada que serviu para fechá-lo.

Tendo nós procedido a bastantes colheitas de material para a preparação das vacinas autogéni-

cas, que empregamos, alguma coisa diremos à cerca da orientação que seguimos.

Sempre que se nos apresentava um doente, portador de vários furúnculos, uns supurando já outros prestes a supurar, aproveitávamos de preferência o pus dos últimos.

Para isso, depois de os ter préviamente bem lavado, servindo-nos para tal fim do sôro fisiológico, e fazendo uma certa expressão em volta da parte acuminada, até que abrisse cratera, recolhemos em seguida o pus, observando todos os cuidados a que atrás aludimos.

Se porêem todos os furúnculos já supuravam, aproveitávamos aqueles cuja supuração se tivesse estabelecido há pouco tempo, procedendo da mesma forma, só com a única diferença de que não aproveitávamos a primeira porção de pus, que saísse através da cratera, afim de obstar o mais possível às inquinações.

Nas colheitas que fizemos, em casos de acne e antraz, procedemos duma forma idêntica.

Transporte do material para o laboratório

Depois de se ter colhido o pus, com todas as condições de assepsia, necessárias nestes casos, numa pipeta de Pasteur, segundo os preceitos atrás expostos, trata-se de enviá-lo para o laboratório.

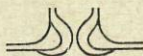
Bem conhecida, como é, a resistência dos estafilococos, os operadores não necessitam de usar de tantos cuidados no transporte do material como aqueles que certos micróbios impõem.

Sabe-se perfeitamente, que para a preparação de certas vacinas é preciso que o paciente vá ao laboratório; e só aí é que se deve fazer a colheita

do pus, collocando-o em condições tais, que seja respeitada a vitalidade do agente microbiano.

Sobre a vitalidade do estafilococo nós dissemos já o suficiente no capítulo primeiro para que bem se compreenda o que acaba de ser dito.

Ao terminarmos, devemos dizer que nos aconteceu algumas vezes dar entrada no laboratório o material infectante dois e três dias depois de feita a colheita; mas nem por isso este facto deu lugar a que fôsse prejudicada a preparação da vacina.



CAPITULO IV

Preparação das culturas

A—Meios: sua preparação, esterilização e distribuição.

B—Sementeiras.

C—Isolamento. Cultura pura.

A preparação da cultura é a operação basilar da técnica a seguir para se obter uma emulsão microbiana; e assim tem sido considerada por todos aqueles que, a dentro dos laboratorios, se tem dedicado á preparação de vacinas.

Quando se pretende cultivar um agente microbiano, com o fim de obter o material preciso para a preparação duma boa vacina, deve-se ter bem presente que, para se conseguir tal *desideratum*, forçoso se torna revestir a operação de todos os cuidados.

O assunto, pela sua importância, devia ser tratado com maior desenvolvimento; mas como já noutro ponto do nosso trabalho alguma coisa dissemos sobre culturas, versaremos no presente capí-

tulo o que mais de perto se relaciona com a preparação das vacinas autogénicas antiestafilocólicas.

Nunca é de mais repetir, que sempre que se pretende preparar uma boa emulsão bacteriana, é necessário termos uma cultura abundante e isenta de inquinações, e que o agente microbiano conserve todas as suas propriedades, quer biológicas, quer virulentas.

Que deveremos fazer para obtermos uma cultura nestas condições? Parece-nos bem que apenas escolher um meio apropriado, fazendo nele uma sementeira cuidada e rodeando-a de todas as condições precisas para que o desenvolvimento microbiano se realize.

Meios de cultura

Preparação e esterilização

Conhecida, como é, a grande resistência do estafilococo, é intuitivo que não surgem grandes dificuldades quando se pretende cultivá-lo e conservá-lo; mas nem todos os meios podem ser utilizados para o cultivo microbiano destinado á preparação das emulsões; e assim, a utilização dum meio apropriado impõe-se: — e os bacteriologistas deram-lhe o nome de *bom meio*.

Um meio, para ser bom, precisa ter qualidades tais que por si mesmas garantam o fim a que esse meio se destina.

Essas qualidades devem ser as seguintes: Produzir culturas abundantes e não só conservar, durante bastante tempo, a vitalidade do micróbio, sem exigir passagens freqüentes, mas também os caracteres morfológicos, mesmo depois de nume-

rosas repicagens, poder reconquistar a vitalidade do agente, ainda que este sofra a acção de condições desfavoráveis á sua vida, tais como—dissecação, calor, frio etc. e ser de fácil e económica preparação.

Já o dissemos, mas nunca é de mais repeti-lo, que o estafilococo se desenvolve fácilmente nos meios usualmente empregados nos laboratórios:—caldo, gelose e gelatina.

Para a preparação das vacinas antiestafilocólicas, Sabouraud diz que se devem empregar os meios sólidos, porque se pode verificar mais fácilmente a sua pureza e evitar a acção tóxica das peptonas dissolvidas.

Nós fizemos as culturas sôbre gelose peptonada, que é um meio excelente, pois goza da propriedade de diferenciar as variedades, facto que bastantes vezes tivemos occasião de observar pelo exame macroscópico.

Alguns autores serviram-se também da gelose peptonada adicionada 0,5 % de ureia que, segundo dizem, produz culturas estafilocólicas muito mais florescentes e abundantes.

Daqui se conclui que, se a preparação doutras vacinas tem obrigado os bacteriologistas a estudos aturados, afim de obterem meios especiais favoráveis á pululação dos agentes microbianos, não acontece o mesmo quando se querem preparar as vacinas antiestafilocólicas:—um meio artificial basta, para êsse fim; e nós, utilizamos a gelose ordinária. Compete-nos, visto ter sido êsse o meio de que lançámos mão para obter as culturas, descrever, ainda que rápidamente, a maneira como se pode prepará-lo.

Gelose—A base dêste meio é o caldo ordiná-

rio, cuja técnica de preparação rapidamente exporemos.

A sua preparação realiza-se fazendo macerar durante doze horas 500 gr. de carne de boi, cortada e desembaraçada de toda a gordura, em 1000 gr de água; e passadas estas, juntam-se e misturam-se ao líquido obtido 10 gr. de peptona e 5 gr. de cloreto de sódio.

Depois disto, coloca-se a mistura no autoclave a 115°, durante cêrca de dez minutos, para coagular as matérias albuminoides, passando-se em seguida por um filtro molhado, a fim de a desembaraçar dos restos de gordura.

Depois de bem filtrada, alcaliniza-se ligeiramente com uma solução normal de soda, tendo-se o cuidado de verificar esta operação por meio do papel de tornesol, para nos certificarmos que não apresenta reacção ácida, colocando-a mais uma vez no autoclave a 120°, durante quinze minutos, para precipitar os sais alcalino-terrosos.

Finda esta operação, procede-se a novo filtramento, recolhendo-a em seguida em recipientes devidamente esterilizados.

Pôsto isto, podemos descrever já, e ainda que sumariamente, a série de operações que necessário se torna praticar para se poder obter a gelose ordinária

A um litro de caldo de carne ordinário, preparado pelo processo atrás descrito, juntam-se 20 gr. de agar-agar, alga esta que foi préviamente bem lavada e cortada em pequenos pedaços.

Como o agar-agar se dissolve difficilmente, coloca-se o balão no autoclave a 120°, durante tres quartos de hora pouco mais ou menos, abrindo-se em seguida o aparelho e deixando a temperatura baixar a 50°, depois do que se vertem no liquido 50

gr. de agua batidas com uma clara de ovo; e esta agua albuminada tem por fim precipitar os sais e permitir a clarificação da mistura.

A massa nutritiva alcaliniza-se ligeiramente por meio do soluto normal de soda, e o balão que a contém leva-se novamente ao autoclave a 115°, durante quinze minutos, para precipitar os elementos que ainda o não tenham sido, verificando-se mais uma vez se existe reacção acida, e corrigindo-a em caso afirmativo.

Procede-se depois á filtração, que deve ser executada a quente, visto a gelose solidificar abaixo de 40°, operação esta que tem de ser realizada no autoclave a uma temperatura não inferior a 65°, usando-se para tal fim um funil de vidro com papel Chardin.

Se for preciso, corrige-se novamente a reacção; e se o filtrado se não mostrar ainda claro, repete-se a filtração.

Finalmente, distribui-se o liquido por balões, tubos ou placas de Petri, devidamente esterilizadas.

*
* *
*

Nós tivemos ocasião de observar bastantes vezes que o estafilococo, semeado no meio cuja preparação acabamos de descrever, apresentava, passadas vinte e quatro horas, colónias abundantes, nitidas e com os caracteres classicos.

Nas preparações vacinais que fizemos, nunca precisamos de conservar as culturas, pois servimos-nos sempre delas 24 horas depois de realizada a sementeira.

Eis a razão porque nada podemos dizer àcerca do período, dentro do qual o agente microbiano

pode conservar a sua vitalidade no meio que escolhemos, porque para isso falta-nos a observação pessoal.

Podíamos ainda falar na preparação doutros meios preconizados por certos autores; mas não o faremos limitando-nos apenas ao resultado das nossas observações, e ficando portanto este nosso trabalho a elas circunscrito.

Distribuição em tubos e placas

Para a preparação duma vacina autogénica não basta possuir o meio, é também preciso distribuí-lo por recipientes apropriados em que se efectuem as culturas.

Esta operação requiere alguns cuidados e portanto deve ser executada segundo uma técnica especial, que descreveremos, não devendo nunca esquecer que antes de distribuir o meio, se torna necessário o seguinte :

1.º *Preparar tubos e placas de Petri.*

Para êste fim, lava-se e seca-se o material, tendo-se o cuidado de tapar os tubos com algodão, procedendo-se em seguida à sua esterilização a calor sêco, na estufa a 120º, durante 30 minutos.

2.º *Preparar o aparelho distribuidor.*

Este compõe-se de um funil de vidro ao qual se adapta um pequeno tubo de cauchu terminado por um pequeno tubo de vidro afilado.

A completar o aparelho, hà uma pequena pinça compressiva de Mohr, que se applica aproximadamente a meio do tubo de cauchu.

Antes de fazer uso do aparelho coloca-se no autoclave para ser esterilizado.

3.º *Fundir os meios sólidos.*

Para o conseguir, utiliza-se o autoclave a 100º.

Depois de tudo preparado, procede-se à distribuição, que se realiza da seguinte maneira:—retirado do autoclave o aparelho distribuidor, e colocado num suporte conveniente, lança-se no funil uma certa quantidade de meio fundido; e tomando-se sucessivamente cada um dos tubos esterilizados desenvolvem-se e adaptam-se ao tubo de vidro afilado do aparelho.

Feito isto, abre-se a pinça de Mohr para deixar correr, pouco mais ou menos, 10 ^{cm}³ do meio, evitando-se sempre que fique humedecida a margem superior do tubo, depois do que se obtura com algodão.

A distribuição em placas realiza-se duma maneira idêntica, e pode-se até deixar de fazer uso do aparelho distribuidor, lançando o meio directamente do balão nas placas. Esta operação, contudo, requiere um pouco de agilidade para não dar lugar a inquinações.

Distribuído assim o meio por tubos e placas de Petri, é conveniente deixar tudo isto em repouso, em lugar fresco, a solidificar, devendo os tubos ficarem desde logo inclinados, para que a gelose solidifique em plano inclinado, que é mais favorável à realização da sementeira.

Sementeiras

Preparado o meio, e distribuído em placas de Petri e em tubos, que se conservam em repouso para solidificar, e tirada previamente uma amos-

tra de pus colhido, segundo as condições mencionadas noutro ponto dêste trabalho, é sempre conveniente, antes de fazer a sementeira, proceder a uma análise microscópica para identificar o estafilococo.

Os agentes microbianos, sabêmo-lo perfeitamente, podem ser semeados quer em meios sólidos quer em meios líquidos; mas acontece geralmente, que num pus contendo estafilococo, êste microorganismo não está só, encontrando-se mais ou menos associado a outros agentes microbianos, de forma que, pretendendo isola-lo para se preparar uma vacina, é absolutamente indispensável pôr de parte os meios líquidos, empregando apenas os sólidos.

E assim, tendo nós empregado a gelose, tivemos ocasião de conhecer-lhe as vantagens, pois que pelo seu emprêgo notamos, que era fácil verificar a pureza do meio e evitar a acção tóxica das peptonas, de maneira que as culturas nela praticadas diferenciavam bem os estafilococos, sendo suficiente até, muitas vezes, um rápido exame macroscópico para se poderem identificar.

*

* . *

Vários métodos podem ser empregados sempre que se pretenda fazer uma sementeira.

Em todas as que praticámos em gelose, para a preparação das vacinas autogénicas, seguimos o método de fraccionamento, que consiste em distribuir em série, por toda a superfície da gelose, uma pequeníssima porção do material infectante colhido; e esta operação tem por fim fazer com que as colónias se apresentem suficientemente distintas e com os caracteres macros-

cópicos para poderem ser examinadas e identificadas fácilmente.

*
* *
*

Feitas estas breves considerações, descreveremos a fórma como se praticam as sementeiras em gelose.

Para a preparação das vacinas que inoculamos, apenas fizemos sementeiras em placas e portanto são essas que vamos descrever.

A operação, dum verdadeira simplicidade, realiza-se depois de ter colocado na mesa do laboratório pelo menos duas placas de Petri, contendo gelose, que se numeram I e II.

Em seguida, toma-se a pipeta de Pasteur, que contém o pus colhido; e depois de a ter passado pelo bico de Bunsen, quebra-se-lhe rápidamente a ponta afilada, tendo o cuidado de a passar de novo pela chama.

Logo a seguir, levanta-se muito pouco a tampa da placa I, isto é, o suficiente para se poder introduzir a pipeta, soprando pela extremidade não afilada desta, afim de que uma gota do pus caia na superfície gelosada.

Convem acrescentar, que nos aconteceu algumas vezes ser o pus muito espesso, e portanto não sair da pipeta; mas sempre que tal facto se dava, fazíamos uso do seguinte artificio de técnica:—introduzíamos a sua extremidade num tubo contendo uma pequenissima quantidade de caldo esterilizado, afim de conseguir desagregar o pus; e então, aproveitando esta mistura, procedíamos á sementeira.

Depois de se ter lançado um pouco de material infectante, conservando a placa com a tampa

um pouco levantada dum lado, introduz-se nela uma zaragatoa devidamente esterilizada; e com o auxílio deste pequeno instrumento espalha-se uniformemente na superfície da gelose a pequena porção do material aí derramado.

Concluída esta operação, aproveita-se a mesma zaragatoa, que se introduz pelo mesmo processo na placa II afim de conseguir um isolamento perfeito do agente semeado.

Fraccionado desta forma o material infectante, as colónias apresentam quasi sempre uma necessária independência para poderem ser identificadas e finalmente colhidas.

Semeadas as placas, pela forma descrita, collocam-se na estufa a uma temperatura de 37° durante 24 horas.

Não devemos deixar de mencionar que as sementeiras, feitas apenas em duas placas, deram sempre colónias suficientes para serem repicadas, fornecendo em última análise culturas puras para a preparação das emulsões.

¿Não se poderão empregar tubos gelosados sempre que se pretenda fazer uma sementeira destinada à preparação duma vacina?

Alguns autores teem-se servido dêles; mas nós preferimos as placas de Petri, porque teem certas vantagens sobre os tubos, algumas das quais passaremos a enumerar.

Em placas, a sementeira realiza-se facilmente, o material infectante pode ser muito bem distribuído e não é vulgar darem-se inquinações no momento em que se procede à sementeira.

Além disso, as placas, tendo uma superfície maior, a gelose nelas solidificada apresenta-se formando uma lâmina delgada através da qual, por

transparência, se podem fácilmente examinar as colónias do micróbio cultivadas.

Acresce às vantagens apontadas, demonstrativas da preferência dada às placas, a seguinte:—necessitando-se, para a preparação das vacinas, isolar o agente microbiano, tomam-se nelas as colónias com grande facilidade, o que não acontece se se tiver feito o cultivo em tubos.

*

* * *

E' muito raro encontrar-se o estafilococo no pus, isento de inquinações.

Os exames directos, a que geralmente procedemos antes das sementeiras, e cujos resultados serão incluídos a propósito de cada uma das nossas observações pessoais no capitulo VII, mostram claramente o que acaba de ser dito.

Apesar de ter sido já mencionado não é de mais repetir aqui o seguinte:—todas as vezes que tivemos ocasião de ir buscar o material infectante a uma lesão em inicio, sempre encontramos o estafilococo menos associado; mas se a lesão era antiga, a colheita vinha geralmente inquinada de diferentes espécies microbianas, tais como:—estafilococos, estreptococos, cocos variados, etc.

Sabe-se que, para se poder obter uma emulsão vacinal estafilocócica, é condição essencial ter uma cultura pura do estafilococo; e sendo assim, necessário se torna, depois de efectuada a primeira sementeira do micróbio, realizar o seu isolamento.

Isolamento—Cultura pura

Geralmente, 24 horas depois de feita a semen-

teira em placas de Petri, contendo gelose, as colónias microbianas atingem o seu completo desenvolvimento apresentando já os seus caracteres clássicos de grandeza, forma, espessura, etc., não sendo difícil dizer então de que variedade de estafilococo se trata:—*dourada*, *branca* ou *citrina*.

Algumas vezes acontece não ser preciso decorrer êsse tempo, para que as colónias se apresentem com os caracteres que as tornam diferenciáveis á simples inspecção. Logo, pois, que elas se mostram á superfície da gelose, examinam-se com todo o cuidado por transparência, com o auxilio duma lente, ou mesmo com o microscópico.

Se pelo aspecto da colónia não se conseguir identificar o estafilococo, deve fazer-se uma preparação com a colónia suspeita, como meio de confirmação.

Esta operação, que nos recorda ter praticado pelo menos uma vez, quando da preparação da vacina autogénica, a que se refere a observação XIV, foi motivada por as colónias, desenvolvidas á superfície da gelose, não apresentarem os caracteres clássicos das estafilococcicas.

Este facto levou-nos então a aproveitar uma das colónias suspeitas, e a fazer uma nova preparação microscópica, que nos revelou predominarem nelas dois agentes microbianos:—o estafilococo e um coco-bacilo.

Na impossibilidade de poder isolar o estafilococo, fomos forçados a colher algumas das colónias existentes á superfície da gelose e com elas fazer nova sementeira em placas.

Vinte e quatro horas depois de efectuada esta nova operação verificamos, quer pelo exame macroscópico, quer microscópico, que as colónias continuavam a ter como agente dominante o coco-

bacilo. Em face disto, e dada a circunstância do doente, a quem era destinada a vacina que pretendíamos preparar, ter necessidade de ser inoculado, resolvemos não proceder a nova passagem e isolar algumas das colónias desenvolvidas, passando-as para tubos gelosados, afim de poder preparar uma vacina mixta.

Assim fizemos.

Quando as colónias aparecem com os caracteres próprios das estafilocócicas, e não há motivo para suspeitar de qualquer inquinação por um micróbio estranho, devemos repicá-las imediatamente para tubos frescos gelosados, que se costumam deixar desde a véspera na estufa a 37°.

Acontecendo o contrário, preciso se torna repetir a repicagem tantas vezes quantas forem precisas para se obterem colónias puras, isto é, inteiramente isentas de inquinação.

Este facto raras vezes nos aconteceu, e portanto menos laboriosa se tornou a preparação das vacinas que empregámos.

Desnecessário se torna dizer que repicar é fazer uma nova sementeira; e sendo assim, é dever do operador usar, neste caso, dos cuidados que já noutro lugar mencionamos.

A repicagem em tubos difere apenas da primeira sementeira no material semeado:—ali, era o próprio material inféctante; aqui, é uma colónia ou parte dela, proveniente duma sementeira.

Não resta dúvida alguma que o isolamento do estafilococo é geralmente duma facilidade extrema; e dizendo-o, apoiámo-nos na nossa observação laboratorial, por que poucas vezes fomos obrigados para tal fim, a fazer passagens.

Pode, pois, dizer-se, sem receio de errar, que para obter uma cultura estafilocócica em todo o

seu estado de pureza, basta geralmente fazer uma só passagem.

*
* * *

Obtida uma cultura pura do agente microbiano, que no nosso caso é o estafilococo, poder-se há perguntar: estará ela apta a ser emulsionada?

As opiniões sôbre êste ponto de vista divergem bastante, havendo autores que em trabalhos recentemente publicados aconselham o uso de culturas velhas, isto é, - daquelas em que o micróbio tenha sofrido numerosas repicagens.

O professor Vincent é desta opinião; por que tendo empregado vacinas tíficas preparadas com bacilos, primitivamente muito virulentos, êstes encontram-se atenuados e domesticados, alguns anos depois, pela cultura laboratorial.

Alguns autores americanos também reprovam o emprêgo do material fresco; mas a maioria dos que se teem dedicado à prática da vacinoterapia estafilocócica optam pelas culturas recentes obtidas à custa do agente microbiano colhido do próprio indivíduo para conseguirem uma boa vacina.

E o motivo desta opção é êles verem que a actividade duma vacina, dependendo da virulência do agente, desenvolver-se-hia se se aproveitasse para tal fim culturas obtidas depois de numerosas passagens.

Nós seguimos a opinião dêste, isto é, para a preparação das vacinas autogénicas, que empregámos, servimo-nos quási sempre de culturas dum dia; e para preparar a emulsão, da cultura proveniente duma única repicagem feita 24 horas antes.

CAPITULO V

Preparação da emulsão estafilocócica

- A—Emulsão propriamente dita.**
- B—Doseamento.**
- C—Esterilização.**

A preparação da emulsão vacinal é a parte mais interessante da técnica da preparação das vacinas antiestafilocócicas.

Muitos supõem que ela é duma execução fácil, mas a verdade é que encerra em si várias operações parciais, que por vezes obrigam a bastante trabalho.

E tanto isto é assim, que a partir de Wright a preparação das emulsões tem merecido verdadeira atenção aos que se tem dedicado à vacinoterapia podendo afirmar-se também que importantes modificações lhe foram introduzidas com o fim unico e exclusivo de aperfeiçoar a sua técnica, tornando-a mais simples e de mais rápida execução.

Pelo título com que encimamos este capítulo

bem se depreende que não vamos aqui tratar da preparação das emulsões em geral, mas antes restringiremos o assunto descrevendo apenas a maneira como realizamos as nossas emulsões que depois de bem doseadas e esterilizadas inoculámos, dando-lhe então o nome de vacinas.

Preparação da emulsão propriamente dita

Depois de se ter obtido uma cultura em placas de Petri, apresentando algumas colónias distintas á superfície da gelose e com caracteres microscópicos de maneira a não se poder duvidar da presença do estafilococo, aproveitamo-las fazendo uma repicagem para tubos que se colocam na estufa a 37°.

Decorridas 24 horas, as colónias mostram-se exuberantes, confluentes e próprias para serem emulsionadas.

A emulsão é uma operação que tem por fim juntar e misturar, o mais homogéneamente possível, ao sôro fisiológico, o produto das culturas.

Empregámos ordinariamente, para a preparação das nossas emulsões, a solução fisiológica de clorêto de sódio a 0,85 %; e só quando preparámos a vacina autogénica, a que se refere a observação XIII é que nos utilizámos da solução fisiológica fluoretada (fluoreto de sódio a 0,85 %).

Sôbre as vantagens que resultam do emprêgo desta última sôbre a primeira, tam apregoadas por Nicolle e Leuglet, que dizem terem ensaiado as vacinas antiestafilocólicas fluoretadas com grande êxito num grande número de indivíduos portadores de estafilococcias cutâneas, não podemos emitir opinião segura em virtude da urgência que tivemos de completar o nosso modesto trabalho, que

nos impediu de fazer uma larga aplicação dessas vacinas e portanto de compará-las com as preparadas à custa de emulsões feitas em sôro fisiológico.

Contudo as emulsões fluoretadas teem sido empregadas em larga escala no Pôrto, resultando dessa experimentação elementos dum grande valor:— facilidade de absorção e diminuição de dor no ponto da inoculação.

A solução fisiológica de cloreto de sódio, que empregámos correntemente para a preparação das nossas vacinas, satisfez perfeitamente o fim a que se destinava.

Pelos conhecimentos que do assunto temos, parece-nos que a solução fisiológica de fluoreto de sódio deve ser empregada, de preferência, para a preparação das vacinas polivalentes, pois que entre as propriedades de que goza, possui mais a de assegurar a conservação do agente.

Posto isto, cumpre-nos dizer como realizámos a preparação das nossas emulsões.

Colocados os tubos gelosados com a cultura num suporte de madeira e noutro mais três devidamente esterilizados, contendo cada um 10^{cmc} de de solução fisiológica cloretada a 8,5 ‰, numerámos êstes da forma seguinte: I, II e III.

Depois de realizada esta operação, com o auxílio duma ansa normal de platina (de 2^{mm} de diâmetro), por meio de raspagem leve, feita à superfície da gelose dos tubos, tomam-se respectivamente uma, duas e três ansas do desenvolvimento microbiano e juntam-se sucessivamente aos tubos I, II e III.

Para a mistura ser bem feita, é costume desfazer-se préviamente, á custa da mesma ansa, o produto da cultura que não é banhada pelo sôro fisiológico.

lógico de encontro á parte superior da parede dos tubos, por que desta forma consegue-se distribuí-la depois mais homogéneamente.

Assim procedemos; e é por esta razão, que aqui deixámos registado êste pequeno artifício da técnica.

Por último, inclinam-se um pouco os tubos para que o sôro possa banhar e arrastar o coágulo microbiano, já meio desfeito segundo o processo apontado, completando-se depois a preparação da emulsão por meio de agitação, que pode ser só manual ou ainda auxiliado pela ansa de platina.

Alguns autores, e entre êles Nicolle, atribuem a toxicidade das vacinas ao facto de que quando se procede, por meio da ansa de platina, à raspagem do desenvolvimento microbiano existente à superfície do meio, serem também arrastadas partículas dêste.

Para obstar a êste inconveniente êles são de opinião que se deve proceder a uma lavagem dos micróbios para eliminar toda e qualquer partícula do meio empregado.

Nós não nos servimos da lavagem; e apesar disso, as vacinas autogénicas que inoculamos, podem ser consideradas atóxicas. Eis o motivo porque entendemos não descrever essa nova operação cuja técnica sendo necessário conhecer detalhadamente sempre que se quere preparar outras emulsões microbianas não o é, e isto segundo o nosso modo de ver, quando se trata de obter as estafilocócicas.

Doseamento

Realizada a emulsão, segundo a forma que acabamos de expor, torna-se preciso conhecer o

seu poder activo, isto é, o grau de concentração em elementos microbianos e portanto o seu doseamento.

Dosear uma emulsão bacteriana não é mais nem menos do que calcular o número de micróbios existentes em cada unidade de volume: — *o centímetro cúbico*.

Uma tal determinação precisa de ser feita com todo o cuidado e o máximo rigor, para que resulte o menos isenta possível de erros, a fim de que as inoculações vacinais possam ser feitas com uma certa consciência.

E' preciso, pois, para tal fim que os laboratórios bacteriológicos lancem no mercado emulsões vacinais devidamente doseadas; pois depreende-se facilmente que a eficácia duma terapêutica depende muitas vezes da dose.

E tanto isto é verdade, que já vários autores atribuíram os insucessos da Bacterioterapia a êste facto, isto é, a um mau doseamento das emulsões microbianas.

Pelo que acaba de ser dito os bacteriologistas, vendo que o valor curativo duma vacina, dependia em parte dum bom doseamento, procuraram obter um processo de tornar ao mesmo tempo rigorosa e prática a sua determinação.

Vários métodos teem sido empregados até hoje para o doseamento das vacinas autogénicas mas nós temos feito sempre uso do da ansa titulada de Buchner.

Quando tratámos da preparação das emulsões, dissemos que para as realizar tomávamos sucessivamente uma, duas e três ansas tituladas, do desenvolvimento microbiano, que lançávamos respectivamente nos tubos I, II e III contendo igual quantidade de sôro fisiológico.

É evidente que, sendo a ansa titulada, as emulsões II e III devem conter respectivamente e por c. c., o dôbro e o triplo dos micróbios que contem cada c. c. da emulsão I.

Restava portanto fazer uma contagem dos micro-organismos para se saber qual era o seu numero por c. c..

Para o conseguir, quando tratámos do doseamento das primeiras emulsões que preparámos, servimo-nos do método clássico de contagem, descoberto por Wright, e que ainda hoje é correntemente empregado.

¿Em que consiste esse método?

Em determinar o número relativo de micro-organismos e glóbulos rubros contidos em uma mistura, em partes iguais, de emulsão vacinal e de sangue humano:

Daqui se conclui que, bem conhecido como é o numero de glóbulos rubros existentes normalmente no sangue — 5 milhões por mm. c. — facilmente se deduz o numero de bactérias contidas em 1 c. c. da emulsão.

Em resumo, o método de Wright consiste, pois, em obter por comparação, uma boa contagem dos micróbios.

Este método é deveras engenhoso e como tal não devemos deixar de descrever a maneira como êle se executa, que, para facilidade de exposição, dividiremos em três partes.

1.^a—*Elementos indispensáveis:*

a)—Uma pipeta de Wright graduada, que difere da de Pasteur por terminar inferiormente por um extenso tubo capilar e ter adaptada à outra extremidade uma pequena pera de cauchu.

b)—Lâminas de vidro, perfeitamente polidas,

desengorduradas e sêcas, para preparações microscópicas. Para se obterem nestas condições, procede-se no laboratório a uma escolha, aproveitando só aquelas que se apresentem livres de asperezas.

Feita a selecção, lavam-se primeiramente em água destilada e mergulham-se depois em ácido sulfúrico, contido num recipiente apropriado, durante 5 minutos, operação esta que tem por fim destruir toda a substância orgânica.

Feito isto, lavam-se novamente em água destilada e conservam-se durante algum tempo mergulhadas numa mistura, em partes iguais, de alcohol e éter.

Uma boa contagem, tendo como condição primordial a distribuição uniforme dos micro-organismos, depende portanto duma cuidada preparação de lâminas.

c)—Uma solução de citrato de sódio a 2% para juntar ao sangue, a qual tem por fim evitar a coagulação, quando este se encontra misturado á emulsão.

d)—O corante de Leishman, que é de uso corrente nos laboratórios.

e)—Um microscópio, armado de ocular, dividida por dois diâmetros que se cortam perpendicularmente em quatro sectores.

Para tal fim usavamos sempre dois fios de seda muito fina que prendiamos no rebordo da ocular por meio de cola.

f)—Finalmente, uma pequena quantidade de sangue, que se obtem na ocasião precisa por meio duma picada num dedo, e a emulsão bacteriana que se pretende dosear em tubo esterilizado.

2.^a—Maneira de efectuar a mistura:

a)—Com o auxílio da pipeta de Wright, e de-

pois de a ter passado préviamente pelo bico de Bunsen, por meio de ligeiras pressões exercidas na pera de cauchu consegue-se fazer entrar primeiro uma pequena porção fixa de soluto de citrato de sódio, em seguida uma bolha de ar, depois igual quantidade de sangue a que se segue uma nova bolha de ar, e por ultimo um igual volume da emulsão.

b)—Deita-se sôbre lâminas de vidro o conteúdo da pipeta; e por meio de aspirações sucessivas faz-se a homogenização da mistura.

c)—Executada, o melhor possível, a mistura dos três componentes — sangue, emulsão e soluto de citrato de sódio—divide-se em duas partes sensivelmente iguais, e estênde-se em duas lâminas.

d)—Depois de estendida uniformemente a mistura pelas duas lâminas, secam-se estas ao ar e cora-se em seguida aquela pelo Leishman durante 1 minuto; e realizada esta operação cobrem-se as lâminas com água distilada, que se deita fóra passados 5 minutos.

e)—Lavam-se por ultimo as preparações em água distilada para as desembaraçar do excesso de reagente e enxugam-se depois com papel de filtro.

3.ª—*Contagem propriamente dita:*

a)—Colocada uma das preparações na platina do microscópio, procede-se á contagem, por meio da objectiva de imersão e da ocular, préviamente dividida em quatro sectores por dois fios de seda.

O campo microscópico aparece-nos assim dividido em quatro sectores, o que simplifica a contagem, que é tanto mais exacta, quanto maior fôr o número de campos contados.

b)—Procede-se à contagem escrevendo para

isso, em duas linhas verticais, os números representativos dos glóbulos vermelhos contados e os dos micro-organismos; e concluída ela, somam-se as duas colunas obtendo-se desta forma o número de glóbulos e de bactérias contadas nos x campos microscópicos.

c)—Toma-se em seguida a outra lâmina procedendo-se á sua contagem da mesma forma, pelo menos num igual número de campos, e somando igualmente os dois resultados.

O cálculo faz-se da seguinte maneira:—sendo a soma dos glóbulos rubros contados em 40 campos e em duas preparações igual a 8100, e a de cocos contados no mesmo número de campos igual a 660, concluimos que 8100 glóbulos rubros correspondem a 660 cocos.

Sabendo-se que o sangue normal contem 5 milhões de glóbulos rubros por 1 mm. c. e tomando volumes iguais de sangue e emulsão vem :

$$8100: 5.000: : 660 : X$$

donde

$$X = \frac{5000000 \times 660}{8100} = 419.753 \text{ por mm. c.}$$

portanto a 1 cm. c. correspondem 419.753.000, podendo dizer-se, desprezando a fracção, que 1 cm. c., de emulsão bacteriana contém 400 milhões.

*
* *
*

Empregámos este método de contagem só nas primeiras vacinas que usámos; e se depois o pusemos de parte, foi porque a experiência nos mostrou que juntando invariavelmente, por exemplo, para a preparação da emulsão I, a 10 cm. c. de sôro fisiológico uma ansa normal de platina do

desenvolvimento microbiano, o método de Wright revelou-nos sempre uma existência aproximada de 400 milhões de micróbios em cada c. c.

Este sucessivo emprêgo do método, ou melhor esta invariabilidade dos números obtidos, levou-nos a pô-lo de parte e a fazer uso apenas da ansa titulada de Buchner.

O doseamento das vacinas autogénicas estafilocócicas tinha por conseguinte atingido uma alta simplicidade, dando lugar a que no maior número de vacinas que preparámos nos fôsse suficiente o emprêgo da ansa titulada Buchner para obtermos vacinas bem doseadas.

Juntando-se, pois, à mesma quantidade de solução fisiológica (10 c. c.), quantidades diversas do desenvolvimento microbiano, preparámos sempre três espécies de emulsões tituladas da seguinte forma:

- I — 400 milhões por c. c.
- II — 800 milhões por c. c.
- III — 1200 milhões por c. c.

Esta maneira de proceder tem a vantagem de não obrigar a fazer diluições para regular as doses a injectar.

Esterilização

A esterilização das emulsões vacinais, chamada também desvitalização, é a operação que tem por fim matar os agentes microbianos que se encontram suspensos na solução fisiológica.

Portanto, para se poder injectar uma emulsão microbiana estafilocócica, necessário se torna que todos os estafilococos nela existentes tenham sido mortos.

A esterilização de uma emulsão vacinal não pode ser feita superficialmente, mas com todos os cuidados; porque a destruição a praticar deve visar apenas à vitalidade do agente e nunca às propriedades celulares, que se devem poupar, porque delas depende o poder preventivo e curativo das vacinas.

Desde Wright até hoje variadíssimos processos tem sido preconizados para efectuar a esterilização das emulsões microbianas; e este assunto tem sido muito discutido pelos bacteriologistas.

Podem-se reunir, contudo, em 2 grandes grupos, os agentes até hoje utilizados para esse fim:

- | | | |
|---------------------|---|--|
| A) Agentes físicos | { | Calor
Frio
Electricidade
. |
| B) Agentes químicos | { | Antissépticos { Eter
{ Cloroformio
{ |

Na desvitalização das nossas vacinas servimo-nos sempre do agente físico, o calor; e é por isso que resumidamente diremos a maneira como a realizámos.

Preparadas as emulsões I, II e III, e feito o seu respectivo doseamento, num copo de vidro meio de água mergulhávamos um termómetro que encostávamos à sua parede.

Colocado em seguida o copo sobre um suporte de ferro, e aquecida a água ao bico de Bunsen, logo que o termómetro acusava uma temperatura entre 75° e 80°, mergulhávamos nela os três tubos contendo as emulsões que pretendíamos des-

vitalizar; e regulando o bico, procurámos manter a temperatura entre 75° e 80°.

Decorrida uma hora, supondo-se a desvitalização concluída, retiram-se os tubos.

A princípio, procurámos desvitalizar as emulsões empregando uma temperatura a 58°-60°, durante hora e meia; mas a experiência mostrou-nos que essas temperaturas eram insuficientes e que obrigavam sempre a fazer nova esterilização a uma temperatura superior, isto é, a 75°-80°.

¿ Concluída a esterilização, podemos desde logo injectar as emulsões microbianas?

Não devemos fazê-lo sem primeiro verificar que a esterilização foi suficiente para matar todos os micro-organismos.

Para isso, em três tubos numerados I, II e III, contendo cada um uma pequena porção de caldo ordinário esterilizado, lançam-se respectivamente pequenas quantidades de emulsão por meio da pipeta de Pasteur, colocando em seguida os tubos na estufa a 37°. Se no dia seguinte, o caldo contido nos tubos está límpido, as emulsões estão estéreis e podem ser inoculadas; mas se se apresenta turvo, houve desenvolvimento microbiano, não se devendo injectar sem proceder a nova desvitalização a uma temperatura mais elevada.

Foi êste o processo que seguimos para a esterilização das vacinas autogénicas antiestafilocócicas, que empregámos, podendo afirmar, em virtude das nossas observações pessoais, que só raras vezes notámos que elas produziam uma leve reacção local a uma ligeira dor.

CAPITULO VI

Conservação das vacinas

Concluída a esterilização, a emulsão vacinal deve considerar-se já uma vacina, que tendo de ser injectada em doses fraccionadas, durante um período de tempo mais ou menos longo, é forçoso assegurar a conservação das suas propriedades e perserva-la para que não possa vir a ser ulteriormente conspurcada por qualquer micróbíio banal.

Para tal fim tem sido empregados diversos antissépticos, tais como: — toluol, lisol, ácido fé-nico e últimamente o tricresol, que entrou no uso corrente.

Nós, sempre que precisávamos conservar uma vacina, preferíamos o tricresol, antisséptico poderoso por excelência, e que se usa para tal fim, na percentagem de 0,25 % o qual, depois de se ter lançado na emulsão vacinal, deve ser agitado manualmente para que fique bem misturado.

Feito isto, a vacina encontra-se num estado tal que pode ser injectada sem receio.

Resta, pois, visto ser duma grande conveniência, distribuir o líquido vacinal em empolas, sendo as que usámos de três tipos, a saber: — 400 milhões, 800 milhões e 1200 milhões por c. c., doses que mais vulgarmente se utilizam na clínica.

Tem um certo interêsse a maneira como se procede na prática para encher as empolas; assim, possuindo-as de 1 c. c., bem esterilizadas e fechadas numa das extremidades, colocam-se todas verticalmente, umas ao lado das outras, de forma que a extremidade aberta fique voltada para baixo num cristalizador em forma de copo de mesa, cujo fundo é absolutamente liso. Este cristalizador foi, para tal fim, préviamente recoberto duma placa de Petri e esterilizado no autoclave.

Tornado estéril o aparelho, por êste processo, deita-se nele a vacina, colocando tudo debaixo da campânula da máquina pneumática á qual se faz o vácuo; e á medida que a rarefacção se efectua vê-se o ar, que as empolas continham, atravessar o líquido vacinal em bolhas numerosas.

Logo que tal facto já se não realisa, dá-se entrada ao ar na campânula, enchendo-se todas as empolas rápidamente e fechando-as em seguida ao bico de Bunsen.

Este é o processo geralmente usado nos laboratórios e destinado a conservar os *stock* vacinas.

Sendo o número das empolas, destinadas a recolher cada uma das vacinas autogénicas muito limitado — nove geralmente — servimo-nos então dum processo muito mais simples.

Assim, aproveitando pipetas de Pasteur, com o auxílio do bico de Bunsen fazemos-lhes uma outra ponta afilada, preparando desta maneira verdadeiras empolas.

Estas, devidamente tapadas nas suas duas ex-

tremidades por tampões de algodão, colocam-se na estufa a' 180°, durante uma hora, a fim de serem esterilizadas.

Por último, procedíamos ao seu enchimento da maneira seguinte: o líquido vacinal era lançado num pequeno recipiente; e a empola, depois de retirados os tampões de algodão, era aí mergulhada por uma das suas extremidades, adaptando-se à outra, um pequeno tubo de cauchu terminado por uma pera também préviamente esterilizada, que por compressões sucessivas fazia entrar a vacina para dentro da empola.

Feita esta simples operação, fecham-se ao bico de Bunsen as suas duas extremidades.

Quanto á posição a dar ás empolas para conservar a vacina, é preferível a horizontal, por que evita que uma parte dos corpos microbianos possa ir alojar-se na parte afilada e assim fugir do líquido vacinal.



3.^a PARTE

CAPITULO VII

Parte clínica

O poder curativo duma vacina só pode ser bem avaliado mediante uma larga e cuidada aplicação que dela façamos.

Foi, pois, esta parte do nosso trabalho que nos mereceu a maior atenção; e pêna tivemos de não ter podido ir mais longe, generalizando a aplicação das vacinas autogénicas e inoculando ao mesmo tempo uma vacina polivalente, para podermos comparar os resultados dumas e dóutras. Mas, apesar de não ser grande o número das nossas observações, êle serviu bem para mostrar a eficácia das vacinas autogénicas em certas estafilococcias cutâneas.

*
* *
*

—Todos os exames bacteriológicos feitos, bem como todas as vacinas autogénicas empregadas, foram preparadas no laboratório da Faculdade e no do Prof. Alberto de Aguiar.

— Quanto às injeções que applicamos, foram todas no tecido celular sub-cutâneo do braço, excepção feita do doente, a que se refere a observação XIX em quem as praticámos na região nadegueira, seguindo neste caso a opinião de certos autores, que são de parecer que as injeções devem ser applicadas, o mais próximo que ser possa do local da lesão.

— Como indicado vai, as nossas vacinas foram sempre inoculadas em 3 doses, sem nenhuma adição de sôro fisiológico; e sempre que as empregávamos, os doentes a elas sujeitos paravam com toda e qualquer terapêutica de que viessem fazendo uso.

— Pelo que diz respeito aos intervalos de applicação, foram sempre variáveis; e essa variação foi não só devida ao exame que antecipadamente fizemos ao doente mas também por que êle muitas vezes faltava no dia marcado.



OBSERVAÇÕES

Observação I

Consulta externa

J. P., de 52 anos de idade, solteiro, criado de lavoura e morador em Gaia.

Estado actual

Apresenta na região póstero-interna do braço esquerdo, junto ao cotovelo, um extenso furúnculo tumefacto e com grande supuração.

Queixa-se de dores na região onde se encontra localizado o furúnculo e não pode flectir fácilmente o antebraço sôbre o braço.

História

Há dois anos para cá que tem tido por várias vezes furúnculos nas pernas e nádegas, tendo apenas feito tratamento pelos pensos húmidos quentes de soluto de sublimado.

Diagnóstico clínico

Furunculose recidivante.

Bacteriologia

29-x-914 { *Colheita de pus.*
Exame directo (Col. Gram-Nicolle)
Abundantes estafilococos e células de pus. Raros glóbulos rubros.

Tratamento

2 de Novembro — Primeira inoculação — 400 milhões.
O mesmo estado anterior.

6 de Novembro — Segunda inoculação — 400 milhões.
Não se queixa de tantas dores no local do furún-

culo. A tumefacção, em volta da cratera, diminuiu um pouco. Supuração insignificante.

10 de Novembro — Terceira inoculação — 400 milhões.

Furúnculo em via de cicatrização, não supurando já. Não acusa dores e flecte já bem o antebraço sobre o braço.

14 de Novembro — Quarta inoculação — 400 milhões.

Furúnculo completamente cicatrizado.

Resultado Curado.

NOTA.—Injecções indolores. Leve reacção local à primeira injecção. Cura realizada em 4 injecções pela inoculação de 2.000 milhões de estafilococos.

Observação II

Consulta de Dermatologia e Sifilografia

A. R., de 36 anos de idade, solteiro, jornalista e morador na R. do Laranjal.

Estado actual.

Apresenta um grande número de furúnculos disseminados pelo torax, pescoço e membros superiores, uns prestes a supurar, outros supurando já.

História.

E' a primeira vez que tem furunculose. Há 3 meses contraíra a sarna, doença esta que o obrigava a coçar de tal forma que chegava até a fazer sangue.

Há cerca de duas semanas apareceram-lhe os primeiros furúnculos.

Não fez ainda nenhum tratamento à sua furunculose.

Diagnóstico clínico

Furunculose.

Bacteriologia

30-XI-914	{	<p><i>Colheita de pus.</i> <i>Exame directo (Gram-Nicolle).</i></p> <p>Abundantes células de pus e estafilococos. Raros glóbulos rubros e estreptococos.</p>
-----------	---	---

Tratamento

2 de Dezembro — Primeira injeccção de I c. c. — 400 milhões.

O mesmo estado anterior.

5 de Dezembro — Segunda injeccção de I c. c. — 400 milhões.

Verifica-se que alguns furúnculos, que supuravam quando da primeira injeccção, tendem para a cura; e os que estavam prestes a supurar, não chegaram a abrir cratera, tendo abortado. Os do pescoço é que se encontram quasi no mesmo estado.

8 de Dezembro — Terceira injeccção de I c. c. — 400 milhões.

Furúnculos em via de cicatrizaçção, excepto dois do pescoço e um da região dorsal, que supura abundantemente.

11 de Dezembro — Quarta injeccção de I c. c. — 800 milhões.

Todos os furúnculos cicatrizados a não ser o da região dorsal que apresenta ainda uma pequena supuraçção.

14 de Dezembro — Quinta injeccção de I c. c. — 1.200 milhões.

Furúnculos cicatrizados.

Resultado Curado.

NOTA — Injeccções indolores. Sem reacção. Cura obtida com 5 injeccções pela inoculaçção de 3.200 milhões.

Observaçção III

C. L. M., de 34 anos de idade, casado, empregado de farmácia e morador na R. da Flora.

Estado actual

Este doente apresenta na região dorsal da mão esquerda um extenso furúnculo antracoide junto do bórdo cubital, com grande supuraçção.

Queixa-se de dores, não só no local do furúnculo, mas também em todo o membro superior.

História

Sofre há doze anos de furunculose. Há pouco tempo ainda teve um furúnculo semelhante na região dorsal da mão direita.

Tem feito apenas tratamento local pelos pensos húmidos quentes de soluto de sublimado corrosivo.

Diagnóstico clínico

Furunculose recidivante.

Bacteriologia

5-XII-914 { *Colheita do pus.*
Exame directo (Gram-Nicolle.)
 Bastantes células de pus e estafilococos. Raros estreptococos.

Tratamento

9 de Dezembro—Primeira injeccção de 1 c. c. — 400 milhões.

O mesmo estado anterior.

12 de Dezembro—Segunda injeccção de 1 c. c. — 400 milhões.

Tumefacção em volta da cratera bastante reduzida. Supuração diminuta. Dores insignificantes.

13 de Dezembro—Terceira injeccção de 1 c. c. — 400 milhões.

Furúnculo quási cicatrizado. Já não acusa dôres. Nota-se o aparecimento dum outro furúnculo no dedo indicador da mão direita, mais pequeno e não supurado.

15 de Dezembro — Quarto injeccção de 1 c. c. — 800 milhões.

Furúnculo da mão esquerda completamentê cicatrizado. Furúnculo do indicador da mão direita com tendência para desaparecer.

23 de Dezembro — Quinta injeccção de 1 c. c. — 800 milhões.

Verifica-se que o furúnculo da mão direita abortara, não tendo chegado a supurar.

Resultado Curado.

NOTA — Injeccções indolores à excepção da primeira que produziu no local da inoculação, acto contínuo, uma pequena dor. Sem reacção. Cura obtida com a inoculação de 2.800 milhões de estafilococos.

Observação IV

Cliente do Dr. Carlos Ramalhão

B. C., de 22 anos de idade, solteiro, estudante de medicina, morador na Rua de Santo Ildefonso.

Estado actual.

Este doente apresenta extensos furúnculos principalmente na região interna das coxas, prestes a supurar, e alguns já cicatrizados.

História

Tem tido por várias vezes, há dois meses para cá, vários furúnculos nas coxas, nádegas e joelhos. Em criança teve furúnculos no pescoço.

Além do tratamento local pelos pensos húmidos tomara fermento de uva, notando a princípio algumas melhoras e em seguida, novos ataques com mais intensidade.

Diagnóstico clínico

Furunculose recidivante.

Bacteriologia.

14-XII 914	}	<p><i>Colheita de pus.</i> <i>Exame directo</i> (col. Gram-Nicolle) Abundantes células de pus, glóbulos rubros e éstafilococos.</p>
------------	---	---

Tratamento.

18 de Dezembro—Primeira injeccção de 1 c. c. — 400 milhões.

O mesmo estado do dia 14.

22 de Dezembro—Segunda injeccção de 1 c. c. — 400 milhões.

Furúnculos supurando muito pouco. Nota-se uma certa inflamação em volta das crateras.

26 de Dezembro—Terceira injeccção de 1 c. c. — 400 milhões.

Verifica-se o aparecimento de novos furúnculos nas coxas e nádegas, que não se desenvolveram muito e que não chegaram ainda a supurar. Os furúnculos antigos apresentam-se em via de cicatrização supurando apenas dois.

31 de Dezembro — Quarta injeccão de 1 c. c. — 800 milhões.

Os furúnculos antigos acham-se quási completamente cicatrizados. Os novos, tendem a desaparecer, à excepção de um, da nádega esquerda, que supura bastante.

4 de Janeiro — Quinta injeccão de 1 c. c. — 800 milhões.

Todos os furúnculos se encontram já cicatrizados, excepto o da nádega esquerda que continua a supurar.

8 de Janeiro — Sexta injeccão de 1 c. c. — 800 milhões.

Furúnculo da nádega esquerda supurando muito pouco e em via de cicatrização.

15 de Janeiro — Sétima injeccão de 1 c. c. — 1.200 milhões.

Furúnculo da nádega, quási cicatrizado.

19 de Janeiro — Oitava injeccão de 1 c. c. — 1.200 milhões.

Apresenta todos os seus furúnculos completamente cicatrizados.

Resultado Curado.

NOTA—Injecções indolores. Sem reacção. Cura obtida com oito inoculações. Estafilococos injectados 6.000 milhões.

Observação V

Consulta de Dermatologia e Sifilografia

F. S. L., de 32 anos, solteiro, tamanqueiro, morador na R. da Esperança.

Estado actual.

Este doente apresenta vários furúnculos do pescoço e um muito extenso da face, do lado direito, junto do bôrdo inferior do maxilar. Nenhum dos furúnculos ainda supura.

Os do pescoço teem-no impossibilitado de trabalhar.

História.

Sofre desde criança de furunculose, tendo tido já por várias vezes furúnculos no pescoço.

Tem feito tratamento local pelas cataplasmas de linhaça e pensos húmidos de soluto féénico.

Diagnóstico clínico

Furunculose recidivante.

Bacteriologia.

4-1-915	{	<i>Colheita de pus.</i> <i>Exame directo</i> (Col. Gram-Nicolle) Bastantes diplococos e tetracocos. Raros estreptococos. Numerosas células de pus degeneradas. Abundantes estafilococos.
---------	---	--

Tratamento

9 de Janeiro — Primeira injeccção de 1 c. c. — 400 milhões.

Apresenta-se com quási todos os furúnculos supurando.

13 de Janeiro — Segunda injeccção de 1 c. c. — 400 milhões.

Os furúnculos do pescoço encontram-se supurando menos, e o da face supurando ainda bastante.

17 de Janeiro — Terceira injeccção de 1 c. c. — 400 milhões.

Os furúnculos do pescoço, que supuravam, encontram-se já em via de cicatrizaçção.

O furúnculo da face apresenta uma supuraçção diminuta, podendo mover regularmente a cabeça.

21 de Janeiro — Quarta injeccção de 1 c. c. — 800 milhões.

Todos os furúnculos encontram-se quási cicatrizados.

25 de Janeiro — Quinta injeccção de 1 c. c. — 1200 milhões.

Furúnculos completamente cicatrizados.

Resultado Curado.

NOTA — Injeccções indolores. Leve reacção febril á tarde, depois da primeira injeccção. As outras inoculações não produziram nenhuma reacção. Cura realizada com cinco injeccções. Estafilococos injectados—3.200 milhões.

Observação VI

Cliente do Dr. Joaquim Rodrigues

A. H., de 28 anos de idade, solteiro, empregado commercial, morador na R. Antero de Quental.

Estado actual

Este doente apresenta três furúnculos da face, um supurando abundantemente e os dois restantes prestes a supurar.

Um deles, situado na região malar, apresenta-se cercado por uma zona inflamatória extensa.

O doente declara que há duas noites não pode dormir em virtude das dores que sente.

História

E' a primeira vez que tem furunculose na face.

Tem tido por várias vezes furúnculos no pescoço e braços.

Tem feito tratamento local pelos pensos de glicerina ictiolada; e geral, pela levedura sêca de cerveja não tendo colhido resultado.

Diagnóstico clínico

Furunculose recidivante.

Bacteriologia

6-XI-914	}	<i>Colheita de pus.</i> <i>Exame directo.</i> (Col. Gram-Nicolle). Abundantes células de pus e estafilococos. Raros diplo e tetracocos.
----------	---	---

Tratamento

10 de Novembro—Primeira injecção de I c. c.—400 milhões.

Apresenta-se com três furúnculos supurando abundantemente.

Nota-se também o aparecimento dum novo furúnculo junto do sulco do nariz. Continúa a sentir bastantes dores.

14 de Novembro—Segunda injecção de I c. c.—400 milhões.

Nota-se que a supuração diminuíra um pouco. O novo furúnculo não tem aumentado de volume. Acusa menos dores.

18 de Novembro—Terceira injecção de I c. c.—400 milhões.

A supuração é já insignificante.

O furúnculo, situado junto do sulco do nariz, tende a desaparecer. Já não sente dores.

21 de Novembro—Quarta injeccão de 1 c. c.—800 milhões.

Todos os furúnculos não supuram e caminham para a cicatrização.

24 de Novembro—Quinta injeccão de 1 c. c.—1.200 milhões.

Furúnculose completamente cicatrizada.

Resultado Curado.

NOTA—Injecções indolores, sem reacção. Cura realizada com 5 inoculações. Estafilococos injectados — 3.200 milhões.

Observação VII

F. A., de 34 anos de idade, solteira, doméstica e moradora na R. da Póvoa.

Estado actual

Apresenta na nuca dois extensos furúnculos antra-coides supurando abundantemente e cercados de uma zona inflamatória bastante extensa.

Tem muitas dores e muito reduzidos os movimentos da cabeça.

História

Desde muito nova que sofre de furúnculose, tendo tido vários ataques.

Teve, duma vez, um extenso furúnculo no joelho, que a impossibilitara, durante bastantes dias, de sair de casa.

Tem feito tratamento pelos pensos húmidos e quentes de água félica.

Diagnóstico clínico

Furúnculose recidivante.

Bacteriologia

2-XII-914 { *Colheita de pus.*
Exame directo (Col. Gram-Nicolle).
 Abundantes células de pus e estafilococos. Alguns glóbulos rubros e diplococos

Tratamento

6 de Dezembro—Primeira injeccão de I c. c. — 400 milhões.

O mesmo estado anterior.

10 de Dezembro—Segunda injeccão de I c. c. — 400 milhões.

Os furúnculos supuram menos e a sua zona inflamatória encontra-se muito reduzida.

Tem menos dôres e pôde já mover melhor a cabeça.

15 de Dezembro—Terceira injeccão de I c. c. — 800 milhões.

A supuração encontra-se muito diminuida. Os dois furúnculos estão em via de cicatrização. Não tem dôres e pode mover bem a cabeça.

16 de Dezembro—Quarta injeccão de I c. c. — 800 milhões.

Furúnculos prestes a cicatrizar.

24 de Dezembro—Quinta injeccão de I c. c. — 1.200 milhões.

Furúnculos completamente cicatrizados.

Resultado Curada.

NOTA—Injecções indolores, sem reacção. Cura realizada com 5 inoculações. Estafilococos injectados 3.600 milhões.

Observação VIII

F. P., de 32 anos de idade, solteira, costureira, moradora na R. 5 d'Outubro.

Estado actual.

Esta doente apresenta três pequenos furúnculos, dois no rebordo da pálpebra inferior direita, prestes a supurar, e o outro no rebordo inferior da pálpebra esquerda supurando já.

Diz que sente por vezes dores no local aonde estão localizados os furúnculos.

História.

Há âno e meio que tem sofrido continuamente de

furunculose palpebral, cicatrizando uns furúnculos e aparecendo outros.

Apenas tem feito tratamento local pelos pensos húmidos e quentes de soluto de boricina.

Diagnóstico clínico

Furunculose recidivante.

Bacteriologia

10-XI-914	}	<p><i>Colheita de pus.</i> <i>Exame directo</i> (Col. Gram-Nicolle).</p> <p>Abundantes estafilococos. Algumas células de pus e raros diplo e tetracos. Bastantes glóbulos rubros.</p>
-----------	---	--

Tratamento.

14 de Novembro — Primeira injeccão de 1 c. c. — 400 milhões.

Todos os furúnculos supuram. Continua a sentir dores.

18 de Novembro — Segunda injeccão de 1 c. c. — 400 milhões.

Furúnculos em via de cicatrizaçãõ, á excepçãõ de um, que ainda supura um pouco.

Já não acusa dores.

22 de Dezembro — Terceira injeccão de 1 c. c. — 800 milhões.

Todos os furúnculos em via de cicatrizaçãõ.

27 de Dezembro — Quarta injeccão de 1 c. c. — 1200 milhões.

Furúnculos completamente cicatrizados.

Resultado Curada.

NOTA — Injeccões indolores. Reacção nula. Cura realizada em 4 inoculações. Total de estafilococos injectados 2.800 milhões.

Observação IX

Consulta de Dermatologia e Sifilografia

J. M., de 52 anos de idade, casado, pintor e morador na R. do Paiol.

Estado actual

Apresenta na face pequenos furúnculos, quasi todos supurando, e um extenso antraz da nuca cercado de uma larga zona inflamatória edemaciada e supurando abundantemente por duas crateras.

Tem muitas dôres e move difficilmente a cabeça. A urina não revelou açúcar ao reagente de Fehling.

História

E' a primeira vez que tem furunculose.

Conta que os primeiros furúnculos lhe apareceram há cêrca de um mês.

Há quinze dias principiara a ter anorexia e por vezes arripíós, aparecendo-lhe ao mesmo tempo uma tumefacção muito dura, que se tornara mole pouco a pouco, até que há dois dias abrira duas crateras, começando então a supurar.

Tem feito tratamento aos furúnculos pelos pensos húmidos e quentes de soluto de ácido bórico e ao antraz pelo soluto fénico e pomada de ictiol e calomelanos.

Diagnóstico clínico

Furunculose e antraz.

Bacteriologia

17-III-915	}	<i>Colheita de pus.</i>
		<i>Exame directo</i> (Gram-Nicolle)
		Abundantes células de pus e estafilococos. Poucos glóbulos rubros. Raros estreptococos.

Tratamento

21 de Março — Primeira injeção de 1 c. c. — 400 milhões.

Furúnculos da face no mesmo estado. Antraz, supurando abundantemente através de 3 crateras.

24 de Março — Segunda injeção de 1 c. c. — 400 milhões.

Furúnculos da face supurando pouco. Nota-se o apa-

recimento de dois novos furúnculos. Antraz com supuração mais pequena, encontrando-se também a zona inflamatória mais reduzida.

27 de Março — Terceira injeccão de 1 c. c. — 400 milhões.

Furúnculos da face em via de cicatrização. Os dois furúnculos, cujo aparecimento tínhamos notado quando fizemos a segunda inoculação, não se desenvolveram mais. Antraz com supuração insignificante fazendo-se através de duas crateras, tendo a outra já cicatrizado. Zona inflamatória quasi extinta. Pode já mover bem a cabeça.

30 de Março — Quarta injeccão de 1 c. c. — 800 milhões.

Furúnculos completamente cicatrizados. Antraz supurando apenas por uma cratera e com a zona inflamatória muito reduzida.

2 de Abril — Quinta injeccão de 1 c. c. — 800 milhões.

Antraz supurando ainda, mas pouco.

3 de Abril — Sexta injeccão de 1 c. c. — 1.200 milhões.

Antraz completamente cicatrizado.

Resultado Curado.

NOTA—Injecções indolores. Pequena elevação térmica duas horas depois de ser dada a terceira injeccão. Cura realizada em seis inoculações. Estafilococos injectados 4.000 milhões.

Observação X

J. D. O., médico, morador em Leça.

Estado actual

Apresenta furúnculos disseminados pelo punho direito.

Os primeiros apareceram-lhe há oito dias e principiaram por vesículas, formando pústulas, e recidivando no mesmo ponto, tornando os movimentos do punho um pouco reduzidos.

História

E' a primeira vez que é atacado de furúnculose, apenas tendo feito o tratamento local pelos pensos húmidos e quentes de soluto de sublimado.

Diagnóstico clínico

Furúnculose.

Bacteriologia

13-1-915 { *Colheita de pus.*
Exame directo. (Col. Gram. Nicolle).
 Numerosos polinucleares, abundantes estafilococos e alguns diplo e tetracocos.

Tratamento

17 de Janeiro — Primeira injeção de 1 c. c. — 400 milhões.

O mesmo estado anterior.

20 de Janeiro — Segunda injeção de 1 c. c. — 400 milhões.

Furúnculos, supurando pouco.

25 de Janeiro — Terceira injeção de 1 c. c. — 400 milhões.

Furúnculos em via de cicatrização.

28 de Janeiro — Quarta injeção de 1 c. c. — 800 milhões.

Furúnculos completamente cicatrizados.

Recebeu mais as seguintes injeções suplementares:

31 de Janeiro — Quinta injeção de 1 c. c. — 800 milhões.

3 de Fevereiro — Sexta injeção de 1 c. c. — 800 milhões.

6 de Fevereiro — Sétima injeção de 1 c. c. — 1.200 milhões.

9 de Fevereiro — Oitava injeção de 1 c. c. — 1.200 milhões.

12 de Fevereiro — Nona injeção de 1 c. c. — 1.200 milhões.

Resultado Curado.

NOTA—Não houve reacção. Injeções indolores. Cura realizada com a inoculação de 2.000 milhões de estafilococos.

Observação XI

Irmã de J. D. O., de Leça.

Estado actual.

Apresenta numerosos furúnculos, uns supurando outros não, dissimulados por todo o corpo, que a incomodam extraordinariamente. Tem anorexia.

História.

Sofria há cêrca de três anos de furúnculose, tendo geralmente por âno dois ataques violentos. Tem feito o tratamento ordinariamente empregado: — pomadas, penhos húmidos, leveduras, etc., sem ter conseguido quaisquer melhoras.

Diagnóstico clínico.

Furúnculose recidivante.

Bacteriologia

20-1-915	}	<p><i>Colheita de pus.</i> <i>Exame directo</i> (Col. Gram-Nicolle)</p> <p>Células de pus bastante desagregadas. Numerosos estafilococos e alguns cocos isolados.</p>
----------	---	--

Tratamento.

25 de Janeiro — Primeira injeccção de I c. c. — 400 milhões.

O mesmo estado anterior.

28 de Janeiro — Segunda injeccção de I c. c. 400 milhões.

Nota-se uma certa diminuição na supuração e ainda o aparecimento de novos furúnculos.

31 de Janeiro — Terceira injeccção de I c. c. — 400 milhões.

Furúnculos supurando muito pouco; os novos não chegam a supurar, tendendo para o abortamento.

3 de Fevereiro — Quarta injeccção de I c. c. — 800 milhões.

Furúnculos em via de cicatrizaçção; e os que appareceram, depois de iniciado o tratamento, estão prestes a desaparecer. A doente já não tem anorexia.

6 de Fevereiro — Quinta injeccção de I c. c. — 800 milhões.

Todos os furúnculos se encontram quasi completamente cicatrizados.

9 de Fevereiro — Sexta injeccão de 1 c. c. — 800 milhões.

Furúnculos completamente cicatrizados. Fez-se-lhe ainda a applicação de mais 3 injeccões suplementares.

12 de Fevereiro — Sétima injeccão de 1 c. c. — 1200 milhões.

15 de Fevereiro — Oitava injeccão de 1 c. c. — 1200 milhões.

18 de Fevereiro — Nona injeccão de 1 c. c. — 1200 milhões.

Resultado Curada.

NOTA — Sem reacção. Injeccões indolores. Cura realizada em 6 injeccões pela inoculação de 3.600 milhões de estafilococos.

Observação XII

Cliente do Dr. Luis Viegas

M. P. M., de 18 anos de idade, solteiro, estudante e morador na R. das Antas.

Estado actual

Este doente apresenta inúmeras pápulas acneicas na fronte e face, umas prestes a supurar, outras em supuração.

História

Conta que sofre há cêrca de cinco anos, tendo tido a sua acne várias *poussées*.

Tem feito tratamento geral por depurativos, e localmente, por várias pomadas, sem que lograsse obter melhoras.

Ultimamente estava fazendo uso do sulfato de sódio internamente.

Diagnóstico clinico

Acne papulosa.

Bacteriologia

16-I-915 { *Colheita de pus.*
Exame directo (Col. Gram-Nicolle).
 Raras células de pus, cocos isolados
 e alguns estafilococos.

Tratamento

20 de Janeiro — Primeira injeção de 1 c. c. — 400 milhões.

O mesmo estado anterior.

27 de Janeiro — Segunda injeção de 1 c. c. — 400 milhões.

Nota-se o aparecimento de novas pápulas, que apresentam o mesmo desenvolvimento; e das antigas, poucas se encontram em via de cicatrização.

30 de Janeiro — Terceira injeção de 1 c. c. — 400 milhões.

O mesmo estado anterior.

3 de Fevereiro — Quarta injeção de 1 c. c. — 800 milhões.

Verifica-se que algumas pápulas cicatrizaram, mas apareceram outras.

6 de Fevereiro — Quinta injeção de 1 c. c. — 800 milhões.

Nota-se o aparecimento de três novas pápulas na frente, um pouco mais volumosas, persistindo as outras.

10 de Fevereiro — Sexta injeção de 1 c. c. — 800 milhões.

O mesmo estado.

14 de Fevereiro — Sétima injeção de 1 c. c. — 1200 milhões.

O mesmo estado.

18 de Fevereiro — Oitava injeção de 1 c. c. — 1200 milhões.

Verifica-se a cicatrização de mais algumas pápulas. As outras encontram-se no mesmo estado.

21 de Fevereiro — Nona injeção de 1 c. c. — 1200 milhões.

O mesmo estado.

Resultado Insucesso.

NOTA — Injeções indolores, sem reacção. A acne não foi beneficiada pelas 9 inoculações. Estafilococos injectados — 7200 milhões.

Observação XIII

J. C. S., de 22 anos de idade, solteiro, estudante e morador na R. dos Caldeireiros.

Estado actual

Apresenta na nuca um extenso furúnculo antracoide com cratera, supurando ainda pouco e rodeado duma zona inflamatória bastante extensa. Tem dores na região e não pode mover a cabeça.

História

Conta que há cêrca de oito dias notara o aparecimento na nuca duma tumefacção dura e dolorosa, que se tornou cada vez mais mole, até que há dois dias abriu cratera. Tem tido por várias vezes furúnculos na face que tem tratado pelos pensos húmidos e pelo termo-cautério.

Diagnóstico clínico

Furunculose recidivante.

Bacteriologia

20-VIII-915	}	<p><i>Colheita de pus.</i> <i>Exame directo.</i> (Gram.-Nicolle). Abundantes estafilococos e algumas células de pus e glóbulos brancos. Raros diplo e tetracocos.</p>
-------------	---	---

Tratamento

26 de Agosto — Primeira injecção de 1 c. c. — 400 milhões.

Furúnculo antracoide da nuca com pequena supuração e zona inflamatória reduzida. Acusa menos dores. Aparece mais um furúnculo na região supra-ciliar esquerda.

30 de Agosto — Segunda injecção de 1 c. c. — 400 milhões.

Furúnculo antracoide em via de cicatrização, movendo já bem a cabeça. O furúnculo da região supra-ciliar abortou, não chegando a supurar.

Resultado Melhorado.

NOTA — Sem reacção. A primeira injecção produziu uma dor passageira. Melhora obtida com a inoculação de 800 milhões de estafilococos.

Este doente não concluiu o tratamento porque sendo militar teve de ir para a escola de repetição.

Observação XIV

A. S. P., de 28 anos de idade, médico.

Estado actual

Apresenta alguns pequenos furúnculos da nuca e pequenas pápulas acneicas disseminadas pela face e fronte.

História

Vinha sofrendo de furunculose da nuca há perto de oito ânos, que se exacerbava à medida que o cabelo crescia.

A sua acne é mais antiga ainda. Tomou dois tubos de comprimidos de levedura *Sanitas*, dois frascos de comprimidos de *Levaturina Extractiva Couturieux* e três tubos de *Estafilococcina Fraquet* e localmente applicou várias pomadas secativas de talco, óxido de zinco, ácido bórico, etc. Mudou por várias vezes o regimen alimentar, diminuindo consideravelmente o consumo da carne e ingerindo grande porção de vegetais.

Diagnóstico clínico

Acne papulosa e furunculose recidivante.

Bacteriologia

17-iv-915	}	<p><i>Colheita de pus.</i> <i>Exame directo</i> (Col. Gram-Nicolle) Bastantes estafilococos e algumas células de pus e glóbulos vermelhos.</p>
-----------	---	--

Tratamento

21 de Abril — Primeira injeção de 1 c. c. — 400 milhões.

O mesmo estado anterior.

24 de Abril — Segunda injeção de 1 c. c. — 400 milhõs.

Leves melhoras da furunculose. Alguns furúnculos supuram muito pouco, mas a acne encontra-se no mesmo estado.

27 de Abril — Terceira injeção de 1 c. c. — 400 milhões.

Furunculose caminhando para a cura e o estado acneico estacionário.

1 de Maio—Quarta injeção de 1 c. c.—800 milhões.
O mesmo estado anterior.

4 de Maio—Quinta injeção de 1 c. c.—800 milhões.
Furúnculos não supurando e em via de cicatrização.

As pápulas acneicas parecem começar a ser beneficiadas pelo tratamento. Nota-se o aparecimento de duas, que não chegam a desenvolver-se completamente.

7 de Maio—Sexta injeção de 1 c. c.—800 milhões.

Furunculose quasi completamente cicatrizada. Acne no mesmo estado.

10 de Maio — Sétima injeção de 1 c. c. — 1.200 milhões.

Furúnculo completamente cicatrizada, e as pápulas acneicas com tendência para a cura.

13 de Maio — Oitava injeção de 1 c. c. — 1.200 milhões.

O mesmo estado anterior.

17 de Maio — Nona injeção de 1 c. c. — 1.200 milhões.

A acne apresenta as pápulas menos salientes do que no comêço do tratamento.

Resultado	}	. . . Curado da furunculose.
		. . . Melhorado da acne.

NOTA — Sem reacção. Injecções acompanhadas de uma ligeira dôr. Curado da furunculose com 7 inoculações de estafilococos. Melhorado da acne com 9 inoculações. Estafilococos injectados 7.200 milhões.

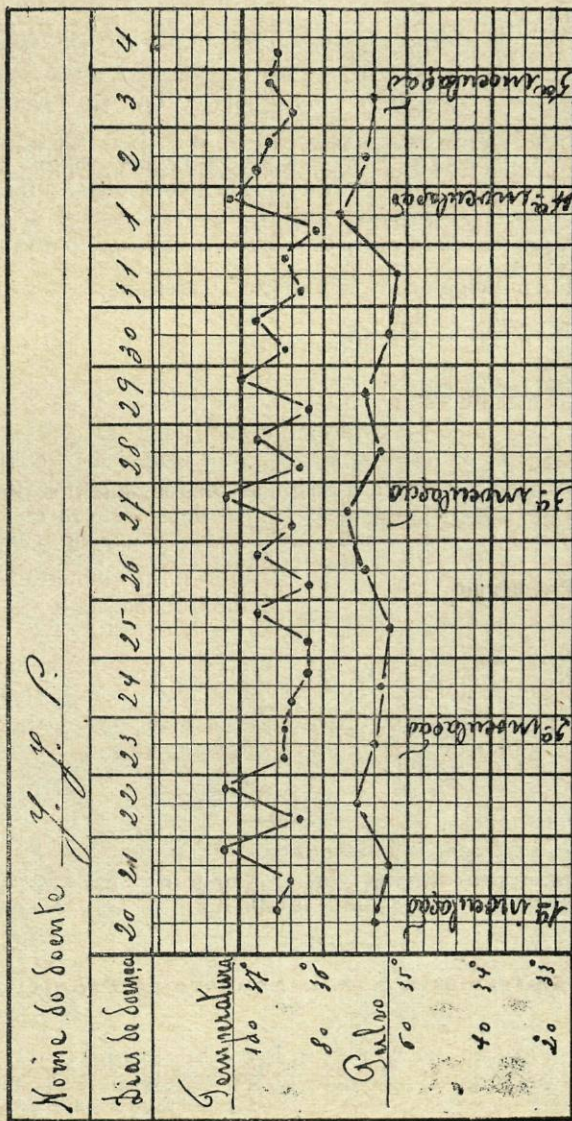
Observação XV

Enfermaria 5 (Sala Senhora do Pranto)

J. J. P., de 42 anos de idade, casado, cocheiro e morador na R. de Sá Noronha.

Estado actual

Apresenta, na região cervical, um extenso antraz su-
purando abundantemente através dum orifício feito pelo
bisturi.



Em volta dêste existe uma grande zona inflamatória de um diâmetro aproximado de 7 centímetros. Acusa dores no local e cefalalgias violentas. O exame das urinas pelo licor de Feeling, não revelou açúcar.

História

Há cêrca de oito dias notara o aparecimento de uma pequena tumefacção no pescoço, sentindo nessa ocasião muito calor, arripios e cefalalgia que lhe não permitiam conciliar o sono.

Nos dias seguintes viera ao banco do hospital, principiando então a fazer tratamento pelos pensos húmidos e quentes de sublimado; mas como o seu estado se agravasse, foi-lhe dada entrada em 10 de Agosto, tendo nessa ocasião 38°,4 de temperatura.

E' um sífilítico.

Diagnóstico clínico

Antraz.

Bacteriologia

13-VIII-915	}	<p><i>Colheita de pus.</i> <i>Exame directo</i> (Col. Gram-Nicolle). Cocos isolados, alguns diplococos e tetracocos; bastantes estreptococos, e raros estafilococos; abundantes células de pus e glóbulos rubros.</p>
-------------	---	---

Tratamento

Vacina mixta, contendo o estafilococo e um cocobacilo.

20 de Agosto — Primeira injeccção de 1 c. c.

{ Estafilococos 400 milhões.

{ Cocobacilo $\frac{1}{10}$ de cultura.

O mesmo estado anterior.

23 de Agosto — Segunda injeccção de 1 c. c.

{ Estafilococos 400 milhões.

{ Cocobacilo $\frac{1}{10}$ de cultura.

Supuração menor, zona inflamatória mais reduzida, não sentindo dores nos dois dias anteriores e à tarde a temperatura subiu um pouco.

27 de Agosto — Terceira injeccção de 1 c. c.

{ Estafilococos 400 milhões.

{ Cocobacilo $\frac{1}{10}$ de cultura.

Supuração insignificante, tendo desaparecido por completo a zona inflamatória. A temperatura, à tarde, subiu um pouco.

1 de Setembro — Quarta injeção de I c. c.

} Estafilococos 600 milhões.

} Cocobacilo $1/11$ de cultura.

Já não há supuração. Antraz em via de cicatrização.

A temperatura, à tarde, sobe um pouco.

3 de Setembro — Quinta injeção de I c. c.

} Estafilococos 600 milhões.

} Cocobacilo $1/10$ de cultura.

Antraz completamente cicatrizado e ligeira elevação de temperatura à tarde.

Resultado Curado.

NOTA — Reacção local e geral. Local, manifestada pelo aparecimento, no sítio da picada, de nódulos volumosos, duros e dolorosos, cujo desaparecimento se faz lentamente — Geral, manifestada por uma ligeira elevação térmica na tarde do dia em que eram praticadas as injeções.

Injeções indolores. Cura realizada em 5 inoculações. Estafilococos injectados 2400 milhões.

Observação XVI

Cliente do Dr. Carlos Ramalhão

C. M. L., de 22 anos de idade e morador na R. da Boa Hora.

Estado actual.

Apresenta bastantes furúnculos no abdómen, uns supurando já, outros prestes a supurar.

História.

Há um ano que tem tido, por varias veses, furúnculos no abdómen, tendo feito o tratamento por pomadas e pensos húmidos.

Diagnóstico clínico

Furunculose recidivante.

Bacteriologia

21-II-915 { *Colheita de pus.*
Exame directo (Col. Gram-Nicolle).
 Pus sanguinolento. Numerosos poli-
 nucleares, estafilococos e alguns cocos
 tetragéneos.

Tratamento

25 de Fevereiro — Primeira injeção de 1 c. c. — 400 milhões.

O mesmo estado anterior.

28 de Fevereiro — Segunda injeção de 1 c. c. — 400 milhões.

Furúnculos em via de cicatrização.

3 de Março — Terceira injeção de 1 c. c. — 400 milhões.

Furúnculos completamente cicatrizados.

Teve mais as seguintes injeções suplementares.

6 de Março — Quarta injeção de 1 c. c. — 800 milhões.

9 de Março — Quinta injeção de 1 c. c. — 800 milhões.

12 de Março — Sexta injeção de 1 c. c. — 800 milhões.

15 de Março — Sétima injeção de 1 c. c. — 1.200 milhões.

18 de Março — Oitava injeção de 1 c. c. — 1.200 milhões.

21 de Março — Nona injeção de 1 c. c. — 1.200 milhões.

Resultado Curado.

NOTA — Sem reacção. Injeções indolores. Cura realizada em 3 injeções pela inoculação de 1.200 milhões de estafilococos.

Observação XVII

Cliente do Dr. Luis Viegas

J. S. H.

Estado actual

Apresenta grande número de furúnculos, uns supurando já, outros não, espalhados pelo abdómen e nádegas. Alguns são volumosos e rodeados duma zona inflamatória bastante extensa que o impossibilita de poder estar sentado. Sofre de constipação e tem actualmente anorexia. Queixa-se de astenia.

História

Há uns poucos de anos que sofre de furunculose, tendo tido vários ataques e sendo muito achacado a furúnculos da nuca. Tem feito vários tratamentos mas sem resultado.

Diagnóstico clínico

Furunculose recidivante.

Bacteriologia

5-1-915	{	<p><i>Colheita de pus.</i> <i>Exame directo.</i> (Col. Gram.-Nicolle) Leucocitos polinucleares muito desagregados. Alguns diplococos intracelulares. Bastantes estafilococos e glóbulos de pus.</p>
---------	---	---

Tratamento

8 de Janeiro — Primeira injeção de 1 c. c. 400 milhões.

O mesmo estado anterior.

11 de Janeiro — Segunda injeção de 1 c. c. — 400 milhões.

Os furúnculos abdominais encontram-se supurando pouco e os das nádegas ainda supuram bastante. Verifica-se o aparecimento dum novo furúnculo na nádega esquerda.

14 de Janeiro — Terceira injeção de 1 c. c. — 400 milhões.

A supuração dos furúnculos primitivos encontra-se muita diminuída e o novo furúnculo não chegou a supurar, apresentando apenas em volta do ponto acuminado uma pequena zona inflamatória.

17 de Janeiro —Quarta injeccão de I c. c.—800 milhões.

Todos os furúnculos se encontram em via de cicatrização e já não supuram, sendo o estado geral do doente regular.

20 de Janeiro—Quinta injeccão de I c. c.—800 milhões

Furúnculos completamente cicatrizados.

Fizeram-se mais quatro injeccões suplementares.

23 de Janeiro—Sexta injeccão de I c. c.—800 milhões.

26 de Janeiro—Sétima injeccão de I c. c.—1.200 milhões.

29 de Janeiro—Oitava injeccão de I c. c.—1.200 milhões.

1 de Fevereiro—Nona injeccão de I c. c.—1.200 milhões.

Resultado Curado.

NOTA—Sem reacção. Injeccões indolores. Cura realizada em 5 injeccões pela inoculação de 2.800 milhões de estafilococos.

Observação XVIII

Cliente do Dr. Vicente de Almeida Eça

M. C. A. T., de 21 anos de idade, estudante e morador na Praça da Republica.

Estado actual

Apresenta numerosos furúnculos disseminados por todo o corpo, especialmente na região dorsal, pouco volumosos, e alguns já supurando.

História

Há dois anos que sofre de furunculose tendo tido por várias veses furúnculos nas costas, nádegas e nuca.

Tomou várias leveduras e purgantes sem efeito notável.

Diagnóstico clínico

Furunculose recidivante.

Bacteriologia

24-v-915. { *Colheita de pus.*
Exame directo (Col. Gram-Nicolle).
 Não revelou o estafilococo.
Cultura em gelose.

25-v-915. -- O exame da cultura revelou o estafilococo.

Tratamento

28 de Maio — Primeira injeção de I c. c. — 400 milhões.

O mesmo estado anterior.

30 de Maio — Segunda injeção de I c. c. — 400 milhões.

Os furúnculos, que ainda não tinham supurado, tendem uns a abortar, outros a cicatrizar.

2 de Junho — Terceira injeção de I c. c. — 800 milhões.

O mesmo estado anterior.

4 de Junho — Quarta injeção de I c. c. — 800 milhões.

Aparecem novos furúnculos que não chegam a supurar. Os antigos encontram-se quasi cicatrizados.

6 de Junho — Quinta injeção de I c. c. — 1.200 milhões.

Nota-se o aparecimento dum novo furúnculo na região dorsal, estando os antigos quasi secos.

8 de Junho — Sexta injeção de I c. c. — 1.200 milhões.

Furúnculos antigos completamente secos. Os novos, não tomaram o desenvolvimento dos primeiros, mas ainda não desapareceram.

Resultado Melhorado.

NOTA — Injeções indolores. Sem reacção. Melhora obtida com 6 inoculações. Estafilococos injectados 4.800 milhões.

Observação XIX

Consulta de Dermatologia e Sifilografia

J. M. A., de 43 anos de idade, casado, marítimo, e morador na R. do Alto da Fontinha.

Estado actual

Apresenta nas nádegas e perna direita, extensos furúnculos, alguns supurando, outros prestes a supurar. Não pode estar sentado, devido á localização da sua furunculose e queixa-se de falta de fôrças e de constipação.

História

Vem sofrendo de furunculose há cêrca de 7 anos tendo tido um último ataque em Dezembro do ano passado. Nessa ocasião teve bastantes furúnculos na nuca. Depois disso passara bem durante cinco meses aproximadamente mas, em Junho, apareceram-lhe novos furúnculos nas nádegas que ainda o não deixaram mas aos quais não fez tratamento algum.

Diagnóstico clínico

Furunculose recidivante.

Bacteriologia

13-viii-915	}	<i>Colheita de pus.</i>
		<i>Exame directo</i> (Col. Gram-Nicolle)
		Cocos isolados. Diplo e tetracocos.
		Bastantes estafilococos. Algumas células de pus e glóbulos vermelhos.

Tratamento

23 de Agosto — Primeira injeccção de I c. c. — 400 milhões.

Furúnculos antigos, uns cicatrizados, outros supurando pouco. Nota-se o aparecimento de novos furúnculos nas pernas, que já supuram, apresentando uma extensa zona inflamatória.

26 de Agosto — Segunda injeccção de I c. c. — 400 milhões.

Todos os furúnculos das nádegas em vja de cicatrização. Furúnculos das pernas com supuração pequena e zona inflamatória reduzida.

30 de Agosto — Terceira injeccção de I c. c. — 400 milhões.

Furúnculos das nádegas completamente cicatrizados e os das pernas em via de cicatrização. Já não se nota zona inflamatória.

1 de Setembro -- Quarta injeccção de 1 c. c. -- 800 milhões.

Furúnculos das pernas quasi cicatrizados.

3 de Setembro -- Quinta injeccção de 1 c. c. -- 800 milhões.

Furúnculos completamente cicatrizados.

Resultado Curado.

NOTA—Sem reacção. Injecções indolores. Cura realizada em 5 inoculações. Estafilococos injectados — 2.800 milhões.

Observação XX

A. C. S., de 22 anos de idade, costureira, moradora na R. Luís de Camões, Gaia.

Estado actual

Apresenta numerosas pústulas acneicas disseminadas pela face e fronte.

História

Sofre, há cinco anos, de acne pustulosa da face e fronte. O estado geral é mau e não tem apetite. Tem feito tratamento pelas pomadas principalmente pela ictiolada. Tem-se sujeitado a várias regimenes alimentares, mas tudo sem resultado.

Diagnóstico clínico

Acne pustulosa.

Bacteriologia

6-IV-915 { Colheita de pus.
Exame directo. (Col. Gram. Nicolle).
Raros estafilococos

Tratamento.

25 de Abril—Primeira injeccção de 1 c. c.—400 milhões.

O mesmo estado anterior.

30 de Abril—Segunda injeção de 1 c. c.—400 milhões.

4 de Maio—Terceira injeção de 1 c. c.—400 milhões.

Parece que algumas pústulas acneicas se encontram supurando menos.

7 de Maio—Quarta injeção de 1 c. c.—800 milhões.

10 de Maio—Quinta injeção de 1 c. c.—800 milhões.

16 de Maio—Sexta injeção de 1 c. c.—800 milhões.

As pústulas acneicas supuram menos e com tendência para a cicatrização.

25 de Maio—Sétima injeção de 1 c. c.—1.200 milhões.

29 de Maio—Oitava injeção de 1 c. c.—1.200 milhões.

2 de Junho—Nona injeção de 1 c. c.—1200 milhões.

Pústulas acneicas em via de cicatrização. Estado geral muito regular. A doente já não tem anorexia comendo com apetite.

Resultado Melhorado.

NOTA—Sem reacção. Depois da 2.^a injeção teve um pouco de cefalalgia. Injeções indolores. Melhora obtida com 9 injeções. Estafilococos injectados 7200 milhões.

Observação XXI

A. C. S., solteiro e médico.

Estado actual.

Apresenta um extenso furúnculo na face que supura abundantemente.

História

Sofre de furunculose há oito anos. Tem tido por vá-

rias vezes furúnculos no pescoço, braço e antebraço. Tem feito todos os tratamentos desde o penso húmido até às leveduras.

Diagnóstico clínico

Furunculose recidivante.

Bacteriologia

20-VIII-915 { *Colheita de pus..*
Exame directo. (Col. Gram.-Nicolle.)
 Revelou o estafilococo.

Tratamento

24 de Agosto — Primeira injeccção de 1 c. m. — 400 milhões.

O mesmo estado anterior.

27 de Agosto — Segunda injeccção de 1 c. c. — 400 milhões.

Furúnculo supurando pouco.

30 de Agosto — Terceira injeccção de 1 c. c. — 400 milhões.

Furúnculo em via de cicatrização.

3 de Setembro — Quarta injeccção de 1 c. c. — 800 milhões.

Furúnculo completamente cicatrizado.

Fez mais as seguintes injeccções suplementares.

6 de Setembro — Quinta injeccção de 1 c. c. — 800 milhões.

9 de Setembro — Sexta injeccção de 1 c. c. — 800 milhões.

12 de Setembro — Sétima injeccção de 1 c. c. — 1200 milhões.

15 de Setembro — Oitava injeccção de 1 c. c. — 1200 milhões.

19 de Setembro — Nona injeccção de 1 c. c. — 1200 milhões.

Resultado Curado.

NOTA — Injeccções indolores, sem reacção.

Cura realizada em 4 injeccções pela inoculação de 2000 milhões de estafilococos. Durante o tempo em que foram feitas as inoculações suplementares apareceram alguns furúnculos na nuca que não chegaram a completo desenvolvimento.

Observação XXII

(Cliente do Dr. Castelo Branco)

A. P. M., morador no L. do Corpo da Guarda.

Estado actual

Apresenta lesões do bassinete direito com piúria, deixando as suas urinas um depósito purulento de 40 gr. por litro.

História

Há meses teve uma blenorragia, em seguida cistite e por último appareceu-lhe lesado o bassinete direito.

Tem feito lavagem aos bassinets e já foi inoculado com a vacina antigonocócica de Nicolle, não obtendo com êste tratamento nenhum resultado.

Diagnóstico clínico

Pielonefrite.

Bacteriologia

12-III-915	{	<p><i>Colheita asseptica das vacinas.</i> <i>O exame microscópico revelou:</i></p> <p>Numerosos glóbulos de pus e variados micróbios—estafilococos, estreptococos, coli-bacilo e saprofitos vários.</p>
------------	---	--

Tratamento

31 de Março — Primeira injeccão de 1 c. c. — 400 milhões.

Cessou de fazer todos os tratamentos que estava usando. O mesmo estado anterior.

6 de Abril — Segunda inoculação de 1 c. c. — 400 milhões.

12 de Abril — Terceira inoculação de 1 c. c. — 400 milhões.

As urinas parecem não ser já tam purulentas.

16 de Abril — Quarta inoculação de 1 c. c. — 800 milhões.

21 de Abril — Quinta inoculação de 1 c. c. — 800 milhões.

Nota-se que o pus diminuiu um pouco.

26 de Abril — Sexta inoculação de 1 c. c. — 800 milhões.

Apresenta um depósito purulento inferior a 10 gr.

30 de Abril — Sétima inoculação de 1 c. c. — 1.200 milhões.

5 de Maio — Oitava inoculação de 1 c. c. — 1.200 milhões.

10 de Maio — Nova inoculação de 1 c. c. — 1.200 milhões.

Continua a ter piúria, mas o depósito purulento é insignificante. Estado geral regular.

Resultado Melhorado.

NOTA — Sem reacção. Injecções indolores. Fez também uso, nos intervalos, duma vacina colibacilar autogénica. Melhora obtida com nove inoculações.

Estafilococos injectados—7200 milhões.



Observação XXIII

(M. D. M. Bertraud)

S. P., de 52 anos de idade.

Sofria de diabete, ácerca de dez anos, tendo tido também vários ataques de furúnculose.

No momento em que Bertraud o viu, apresentava na fossa supra-espinhosa esquerda um antraz de 17^{cm} de altura por 11^{cm} de largura, violáceo, turgessente, doloroso, com muitas crateras e um empastamento considerável em volta.

O estado geral do doente era mau; tinha 85 gr de açúcar nas urinas e a sementeira feita com o pus deu uma cultura abundante de estafilococo dourado.

Preparou-se-lhe uma vacina esterilizada pelo calor e fez-se-lhe a primeira injeccção apenas de 80 milhões.

A temperatura subiu a 37° 9, durante cêrca de duas horas, para descer em seguida á normal.

No ponto da inoculação (região dorso-lombar) havia um ligeiro endurecimento; e no dia seguinte, duas crateras deram um abundante escoamento de pus.

Três dias depois da primeira inoculação, o doente recebeu uma dose de 100 milhões, não tendo reacção e começando a dor a diminuir.

Em seguida foram-lhe injectados 150 milhões e depois 200.

Nesta ocasião tinha desaparecido completamente a dor, o antraz tinha-se apagado e a infiltração já não existia.

Feita uma injeccção de 400 milhões, notou-se que a ferida começava a cicatrizar e o rubor desaparecia quasi por completo.

Com intervalos de 5 dias, injectaram-se 800 milhões.

Nesta altura, a cicatrização era quasi completa; mas ainda assim deram-se mais duas injeccções suplementares de 900 milhões com 10 dias de intervalo.

No começo do tratamento, isto é, depois das duas primeiras injeccções, houve um ligeiro ataque de pequenos pontos de foliculite, que não chegaram a transformar-se em furúnculos, desaparecendo no fim de 24 horas, sem chegarem a dar pus.

Observação XXIV

(M. D. M. Bertraud)

C. J. P., de 40 anos de idade.

Este doente, que era um diabético, apresenta um extenso antraz na nuca.

O estado geral era regular.

Depois da colheita do pus, fez-se uma sementeira que revelou o estafilococo dourado.

Preparada uma vacina autogénica, cuja esterilização se realizou pelo calor, injectou-se o paciente que recebeu sucessivamente inoculações de 300, 500, 1000, 1500 e 2000 milhões.

Não acusou nunca reacção e a cura era quasi completa depois de 4 injeccões.

Observação XXV

(M. D. M. Bertraud)

M. M., de 45 anos de idade.

Este doente apresentava na região da fossa supra-espínhosa e sôbre o trapézio esquerdo, um volumoso antraz muito doloroso, que lhe impossibilitava completamente o movimento do braço e do pescoço.

Ele era também um diabético, eliminando 100 gr. de açúcar por um litro de urina.

Colhido o pus, fez-se a respectiva sementeira que revelou o estafilococo dourado.

Preparada a vacina autogénica, fizeram-se-lhe inoculações do 200, 400, 600, 1000, 1500 e 2000 milhões.

A cura era completa no fim da sétima injeccção.

Observação XXVI

(Beemann, Medical Record)

J. F., de 46 anos, natural do Canadá.

Sofria, há um ano, de abscessos de repetição, subcutâneos e musculares. O seu estado geral era mau; tinha emagrecido e apresentava continuamente febre entre 38'-39°, oferecendo a aparência duma septicemia crônica.

O exame do sangue deu 2:560:000 glóbulos vermelhos por mm. c.

Na ocasião do primeiro exame, feito por Beemann, tinha um largo abscesso situado na face anterior da coxa direita.

Aproveitou o seu pus, onde encontrou o estafilococo dourado, preparando com êle uma vacina autogénica.

Preparada esta, inoculou-a começando por 200 e terminando por 400 milhões, dando as injeções o mais perto possível do local dos abscessos, que depressa desapareceram, sendo a melhora rápida, voltando o apetite e aumentando o doente extraordinariamente de peso nas duas últimas semanas de tratamento.

QUADRO GERAL DA ESTATÍSTICA PESSOAL

DOENÇAS	CASOS	RESULTADOS			PERCENTAGEM DE CURAS
		Curados	Melhorados	Insucessos	
Furunculose	3	3	—	—	100 %
Furunculose recidivante	15	13	2	—	86,66 %
Acne papulosa	2	—	1	1	—
Acne pustulosa	1	—	1	—	—
Antraz	2	2	—	—	100 %
Pielonefrite	1	—	1	—	—

Conclusões

De todas as observações apresentadas concluímos o seguinte:

I—As vacinas autogénicas antiestafilocócicas possuem propriedades curativas valiosas, não inferiores ás que no mercado se encontram com o nome de stock-vacinas.

II—São absolutamente atóxicas e não determinam ordinariamente reacção local. As reacções, geral e focal são insignificantes.

III—Das estafilocóccias cutâneas, é principalmente na furúnculose que elas manifestam melhor as suas propriedades curativas. A acne é muito pouco beneficiada pela vacinoterapia estafilocócica, facto êste que provêem decerto das suas lesões serem produzidas por associações de micróbios. Para a combater seria portanto necessário, como muito bem o preconizam Sabouraud e Noiré, o emprêgo de vacinas mixtas.

IV—O valor curativo das nossas vacinas é tam grande que se obteem curas radicais com doses pequenas.

V—Estas vacinas não teem só propriedades curativas,

possuem-nas também imunizantes. ¿ Por quanto tempo se conserva a imunidade? Para o saber precisariamos, depois de feito o tratamento aos nossos doentes, torná-los a vêr de quando em quando e durante muito tempo. Contudo podemos afirmar que alguns doentes, que tivemos ocasião de tratar o ano passado, que sofriam de furunculose há muito tempo e a meudo tinham *poussées*, desde que foram inoculados não teem tido até agora novos ataques.

VI—Nos 22 casos clínicos, em que as empregámos, a percentagem obtida de curas foi de 75 %.



Bibliografia

Principais obras consultadas

R. Wallen—Vaccine Therapy—1912.

A. Lassneur—Le traitement de l'acné pustuleux par les vaccins.

Sabouraud et Noïré — Recherches sur la vaccinothérapie de Wrigth, en ce qui concerne les staphylocoques et le microbacille séborrhéique.

Armando G. Almeida e Silva — Vacina antigonocócica. Tese apresentada á Faculdade de Medicina do Pôrto — 1914.

Vicente de Almeida Eça—Da Preparação Laboratorial das vacinas antigonocócicas. Tese apresentada á Faculdade de Medicina do Pôrto—Julho de 1915.

The British Journal of Dermatology — Anos: 1904, 1906, 1910 e 1911.

Archives of Ophthalmology—1914.

The Journal of cutaneous diseases—Agosto, 1911.

Le Monde Medical—Paris — Anos de 1909 e 1914.

Annales de Dermatologie et de Syphiligraphie—Maio de 1913.

Annales de l'Institut Pasteur—Ano de 1907.

La Presse Medical—Ano de 1910 e 1913.

Il Policlinico—Roma—Ano de 1914.

Proposições

- 1.^a Classe { **Anatomia descritiva** — A rede anastomótica das veias da cabeça explica a facilidade de invasão meningea, por micróbios existentes em feridas da face.
- { **Anatomia topográfica** — A divisão mais completa das regiões do corpo humano, constitui uma necessidade.
- 2.^a Classe { **Histologia** — A polpa dentária pode ser considerada como a medúla do dente.
- { **Fisiologia** — As células adiposas da medúla são perfeitos reservatórios alimentícios.
- 3.^a Classe { **Farmacologia** — O tratamento pela vacina autogénica antiestafilocócica impõe-se em casos de furunculose recidivante.
- 4.^a Classe { **Anatomia patológica** — O conhecimento do órgão, a que pertence uma peça, é necessário para um diagnóstico histo-patológico seguro.
- { **Medicina legal** — Quasi sempre na asfixia pelo gaz carbónico, a hemoglobina oxi-carboniza-se à saturação.

- 5.^a Classe { **Higiene** — Uma limpeza cuidada da pele evita muitas vezes as estafilococcias cutâneas.
Bacteriologia — E' variável a resistência do estafilococo aureo.
- 6.^a Classe { **Obstetricia** — O tratamento médico das flebites puerperais é inferior ao cirúrgico.
- 7.^a Classe { **Patologia externa** — Na helioterapia está a cura da maior parte das tuberculosas cirúrgicas.
Clinica cirúrgica — As fístulas anais, em terrenos tuberculosos, não devem ser operadas.
Operações — Numa ovariectomia bilateral impõe-se sempre que se possa, o enxerto peritoneal ovárico.
- 8.^a Classe { **Patologia interna** — Pela comparação do pulso das duas radiais pode-se muitas vezes diagnosticar a séde duma aneurisma da aorta.
Clinica médica — Nas infecções agudas deve-se empregar óleo canforado em altas doses.

Visto:

Teixeira Bastos.

Imprima-se:

Candido de Pinho.

ERRATAS

- Pag. 41—linha 11—onde se lê estafilocócias, deve lêr-se
— estafilococcias.
- Pag. 41—linha 13—onde se lê por que, deve lêr-se—
porque.
- Pag. 82—linha 8—onde se lê recipiente, deve lêr-se —
— recipiente.
- Pag. 87—linha 32—onde se lê a uma, deve lêr-se—e uma.
- Pag. 90—linha 16—onde se lê por que, deve lêr-se—
porque.