

Diarrheias infantis

89/8 ENC

82
No dia 14 d'Outubro, pelas 12
horas da manhã

Presidente D. Eurico
d'Almeida Jorge

Euro. Eur. Eur.

Ag. { Agostinho Ant. do Couto
Marquiano A. Alv. a. Lemos
Alberto Per. a. Pto. d'Acacia
Clamente Joag. m. dos Santos. Pto.

N.º 7 8
ILLYDIO Fernandes MONTEIRO

DIARRHEIAS INFANTIS

(TENTATIVA DE SÔROTHERAPIA)

Dissertação inaugural

Apresentada à

ESCOLA MEDICO-CIRURGICA DO PORTO



PORTO

TYPOGRAPHIA OCCIDENTAL

80, Rua da Fabrica, 80

1897

89/8 ENC

ESCOLA MEDICO-CIRURGICA DO PORTO

CONSELHEIRO-DIRECTOR

DR. WENCESLAU DE LIMA

SECRETARIO

RICARDO D'ALMEIDA JORGE

CORPO DOCENTE

Professores proprietarios

- | | |
|--|-------------------------------------|
| 1. ^a Cadeira—Anatomia descriptiva geral | João Pereira Dias Lebre. |
| 2. ^a Cadeira—Physiologia | Antonio Placido da Costa. |
| 3. ^a Cadeira—Historia natural dos medicamentos e materia medica | Illydio Ayres Pereira do Valle. |
| 4. ^a Cadeira—Pathologia externa e therapeutica externa | Antonio Joaquim de Moraes Caldas. |
| 5. ^a Cadeira—Medicina operatoria. | Eduardo Pereira Pimenta. |
| 6. ^a Cadeira—Partos, doenças das mulheres de parto e dos recém-nascidos | Dr. Agostinho Antonio do Souto. |
| 7. ^a Cadeira—Pathologia interna e therapeutica interna | Antonio d'Oliveira Monteiro. |
| 8. ^a Cadeira—Clinica medica | Antonio d'Azevedo Mala. |
| 9. ^a Cadeira—Clinica cirurgica | Candido Augusto Correia de Pinho. |
| 10. ^a Cadeira—Anatomia pathologica | Augusto Henrique d'Almeida Brandão. |
| 11. ^a Cadeira—Medicina legal, hygiene privada e publica e toxicologia | Ricardo d'Almeida Jorge. |
| 12. ^a Cadeira—Pathologia geral, semiologia e historia medica. | Maximiano A. d'Oliveira Lemos. |
| Pharmacia | Nuno Dias Salgueiro. |

Professores jubilados

- | | |
|----------------------------|---------------------------|
| Secção medica | { José d'Andrade Gramaxo. |
| | { Dr. José Carlos Lopes. |
| Secção cirurgica | Pedro Augusto Dias. |

Professores substitutos

- | | |
|----------------------------|---------------------------------------|
| Secção medica | { João Lopes da Silva Martins Junior. |
| | { Alberto Pereira d'Aguar. |
| Secção cirurgica | { Roberto Belarmino do Rosario Frias. |
| | { Clemente Joaquim dos Santos Pinto. |

Demonstrador de Anatomia

- | | |
|----------------------------|-------------------------|
| Secção cirurgica | Carlos Alberto de Lima. |
|----------------------------|-------------------------|

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

(*Regulamento da Escola de 23 d'abril de 1840, art. 155*).

À MEMORIA
DE
MINHA QUERIDA MÃE
E
IRMÃOS

Uma lagrima de saudade.

A

MEU PAE

Eterna gratidão.

AOS

MEUS AMIGOS

Dr. Clemente Pinto,

Illustre Lente da Escola Medico-Cirurgica do Porto.

Dr. Arantes Pereira,

Illustre Director do Instituto Pasteur do Porto.

Dr. Julio Cardoso,

Illustre Director do Dispensario da Rainha D. Amelia.

Dr. Evaristo Saraiva,

Illustre Professor do Lyceu Central do Porto.

Dr. João Augusto Marques d'Almeida.

AO

ILL.^{mo} E EX.^{mo} SNR.

DOUTOR CARLOS LOPES

*Illustre Lente Jubilado da
Escola Medico-Cirurgica do Porto*

A mais sentida homenagem do
discipulo do seu ultimo curso em
em cujo coração e no de todos os
seus condiscipulos, V. Ex.^a deixou
a mais profunda saudade.

AO MEU PRESIDENTE

X



QUANDO tentei escolher assumpto para a dissertação que havia de constituir a prova final do meu curso medico, ressaltavam-me ao espirito as innumeradas dificuldades que havia de sentir na realisação do desejo de lhe dar um caracter absolutamente pessoal. Escolhi, então, como objectivo por assim dizer, preparatorio da minha dissertação, a bacteriologia pratica que para mim a não serem uns pallidos reflexos que adquirir durante o meu curso, era materia quasi nova. Mas, a ausencia de conhecimentos bacteriologicos, e a falta de competencia da minha parte, tornavam bastante escabroso o caminho que desejava trilhar. Todavia, recordando-me do que dizia, ha pouco, um

illustre professor, de que *methodo e perseverança* no estudo de qualquer assumpto, são dois elementos necesarios e sufficientes para o seu completo conhecimento, foram precisamente estes dois poderosos elementos de que me servi, para levar a cabo tão ardua tarefa. Das noções bacteriologicas adquiridas, consegui elementos para entrar no estudo da materia que serve de epigraphé á minha dissertação inaugural. O motivo que presidiu á sua escolha, proveio da minha assidua frequencia no Dispensario da Rainha D. Amelia, para onde fui levado pelo desejo de adquirir alguns conhecimentos sobre doenças de creanças, cuja especialidade me attrahiu sempre a attenção. Das innumeras doenças de creanças que lá tive occasião d'observar, impressionou-me vivamente a grande frequencia d'enterites que se revelavam pelo seu principal symptoma—*as diarrheias*—e por isso resolvi fazer um estudo sobre este ponto, não só pela sua importancia clinica, como tambem por ser um assumpto muito pouco tratado e d'este ultimo ponto de vista surgiu a difficuldade inteira. Mas, animado de boa vontade, estudei assi-

duamente no Dispensario, onde adquiri conhecimentos que me serviram de base ao estudo que n'este momento, apresento.

Para realizar este disederatum, concorreu poderosamente a maneira sincera com que o seu Illustre Director Dr. Julio Cardoso me recebeu sempre, prodigalizando-me meios para suavisar as asperezas do caminho que desejava vencer.

N'este momento, não posso deixar de lhe patentear todo o meu sincero reconhecimento e verdadeira estima.

Para a parte bacteriologica, que é a parte fundamental do meu trabalho, recorri ao *Instituto Pasteur do Porto* cujo Director, o distincto Clinico e meu particular amigo Dr. Arantes Pereira, pôz á minha disposição os seus vastos conhecimentos e todo o seu laboratorio, onde gastei, durante quasi um anno, todo o meu tempo disponivel. A este meu mestre, nunca poderei retribuir a gentileza dos seus inegalaveis sentimentos; só uma gratidão immorredoirá será o penhor seguro da nossa sempre leal amisade, porque não encontro palavras que traduzam o reconhecimento que me vae n'alma.

Appello, por ultimo, para o meu Illustre Presidente, o Ill.^{mo} e Ex.^{mo} Snr. Dr. Ricardo Jorge, e para o Illustrado Jury que, em ultima estancia, me vae julgar, que saberão bem apreciar as difficuldades que sente quem pela primeira vez, se vê a braços com as rudezas d'um trabalho experimental, e a sua alta benevolencia será um lenitivo para qualquer defficiencia que appareça n'este meu despretencioso opusculo.





AS DIARRHEIAS INFANTIS



AS diarrheias infantis constituem um ponto tão importante da medicina corrente, que desnecessario é chamar a attenção dos praticos sobre os detalhes expostos sobre este assumpto, segundo o seu modo de vêr pessoal, pelos medicos que se occupam especialmente da pediatria.

Como symptoma principal das affecções gastro-intestinaes, occupam o primeiro logar na pathologia infantil, porque essas affecções fazem mais victimas que todas as outras doenças que se manifestam n'estes pequeninos sêres, no primeiro anno da sua existencia; por isso se impõem, em primeira linha, á attenção do clinico.

Para mostrar a importancia actual d'este

estudo, basta dizer que a diminuição da natalidade, que tem exposto actualmente a França a um verdadeiro perigo social, tem preocupado, de tal maneira, o espirito dos sociologistas e dos medicos, que tem obrigado os primeiros a considerarem a mortalidade infantil como uma das causas determinantes d'este desequilibrio economico-social; e os segundos a esforçarem-se em diminuir, o mais possivel, a mortalidade da idade primeira.

E assim diz Burggræve, «que a população é a riqueza nacional, d'onde derivam todas as outras riquezas.» «Não é bastante ter filhos, é necessario tambem sabel-os conservar.» «Uma creança que morre é sempre um capital que se perde, e para a familia é uma dôr enorme, o desfolhar d'uma esperanza.»

Se percorrermos a vista pelas differentes estatisticas francezas (1), veremos tristemente accentuada esta natalidade deficiente.

Ha 50 annos, a França e os paizes que formam hoje o imperio allemão, contavam uma população quasi igual.

Hoje a França possui 38 milhões de habitantes e a Allemanha 50 milhões; n'este ultimo paiz, o numero de nascimentos annuaes é de 1.700:000; na França a popu-

(1) Bertillon—*Bulletin de la Société d'anthropologie*, 1891. *Le journal officiel* du 21 octobre, 1891.

lação augmentou de 9 milhões d'habitantes, e comtudo, em 1896 houve 50:617 nascimentos menos que em 1807; ha, portanto uma população que augmenta, com uma natalidade que diminue; mas se attendermos que o augmento d'uma população se faz de dois modos — pelo numero de nascimentos, e pela duração media da vida — as consequencias demographicas d'estes dois modos de crescimento, são muito differentes: se o numero dos velhos attesta a excellencia da situação economica e social d'um paiz, o bem-estar e a prosperidade geraes, já não são uma força viva; já não podem defender a patria, nem enriquecel-a pelo trabalho, nem mesmo augmentar o numero de seus filhos. A infancia, pelo contrario, constitue a força, a vida e a riqueza da nação, e visto que uma natalidade infecunda não nos dá senão com parcimonia este verdadeiro thesouro social, o dever do medico é fazer todos os esforços para o conservar preciosamente, baixando o mais possivel, o numero demasiadamente elevado da mortalidade infantil; de resto, sob o ponto de vista social, esta questão adquire uma importancia capital na lucta contra a concorrência estrangeira.

Se nos referirmos ao nosso paiz, poder-se-ha fazer uma ideia exacta, pelo que diz respeito ao Porto, compulsando os differentes *Boletins mensaes de estatística sanitaria*,

proficientemente elaborados pelo distinctissimo Lente da Escola Medico-Cirurgica do Porto e illustre Director da Repartição Municipal de Saude e Hygiene, o Ex.^{mo} Snr. Dr. Ricardo Jorge.

Pela leitura d'esses boletins, cuja publicação data de 1893, e que, com a competência e intelligencia como foram feitos, honram sobremaneira o seu illustre auctor, se vê que na cidade do Porto, o movimento obituario por diarrheia infantil é enorme, principalmente nos mezes de julho a setembro em que predomina o calor do estio, e que d'anno para anno, apresenta um coefficiente successivamente crescente.

Assim, relativamente á mortalidade, para verificar o que avanço, apresento o seguinte resumo tirado d'esses bem elaborados boletins:

Annos	Mortalidade geral	Mortalidade até 5 annos		Percentagem entre os obitos por diarrheia e os obitos da	
		Mortalidade geral	Mortalidade por diarrheias	Mortalidade geral	Mortalidade infantil geral
1893	4856	1857	371	7,6	20
1894	4732	1737	356	7,5	20,4
1895	4073	1632	427	10,4	26,1
1896	5011	2257	450	8,9	20
1897 (1. ^o sem.)	2137	907	135	6,3	14,8

Pela inspecção d'este resumo se vê que a mortalidade infantil por diarrheia n'estes ultimos 5 annos, não fallando no anno corrente cuja estatistica só está publicada a relativa ao 1.º semestre, faltando por conseguinte a dos mezes mais lethiferos, se mantem com um ligeiro augmento successivamente crescente, dando-nos uma percentagem, relativamente á mortalidade geral de 9 % e sob o ponto de vista da mortalidade infantil de 0 a 5 annos, idade em que melhor se evidencia infelizmente esta infernal hecatombe, a percentagem, não incluindo na mortalidade geral infantil os obitos por doenças fetaes e por nascença, sóbe a 21 %.

Mas, se esta cifra é já de si assustadora, mais alarmante e inquietador é o exame comparativo da natalidade e mortalidade. Pelos mesmos boletins, vemos que o censo da população do Porto em 1890 era de 146:739 habitantes, e que hoje essa população deve ter crescido a 167:298. Balanceando, porém, a natalidade e a mortalidade desde 1893, e não o faço nos annos anteriores por me faltarem documentos serios e bem ordenados, vemos que o excedente da natalidade sobre a mortalidade está muito longe de corresponder á taxa geometrica de crescimento, calculada pela formula

$$\log (1 + r) = \log p' - \log p.$$

Annos	Natalidade	Mortalidade	Excedente
1893	5217	4856	361
1894	5137	4732	405
1895	5341	4073	1268
1896	5564	5011	553
1897 (1.º semestre)	2973	2173	836

De 1893 a 1896 a natalidade excedeu a mortalidade em 2587 unidades, o que nos dá a media annual de 647.

Esta media, multiplicada pelos 7 annos que decorrem de 91 a 97, dá-nos o crescimento physiologico da população urbana, e é igual a 4529 unidades; a differença entre a população em 1890 e a actual, calculada pelo distincto professor Dr. Ricardo Jorge no seu bem elaborado boletim, é 20559.

$$20559 - 4529 = 16030$$

é a deficiencia aproximada do crescimento da população do Porto; e digo approximada, porque nos annos de 93-94-95 não figuram as duas freguezias recentemente annexas á cidade do Porto — *Ramalde e Villarinha* que, com certeza diminuiriam esta deficiencia, mas não em quantidade muito sensivel, tanto mais que eu não tomo em linha de conta a emigração, que indubitavelmente não é com-

pensada pela immigração que nos dá a provincia e o Brazil.

Ora, a quanto não ficaria reduzido esta deficiência, se a diarrheia tão prematuramente não viesse colher tantas esperanças, que inevitavelmente seriam um manancial de intellectualidade, de força e riqueza para o Porto e para o paiz! Justo era que eu, um novo, me excitasse diante de quadro tão funesto, e tentasse um esforço em proveito da patria e das pobres creanças que eu via, diariamente definharem-se e morrer.

Não tentarei agora definir o que sejam as diarrheias infantis, porque é impossivel, attendendo á variabilidade da sua symptomatologia e etiologia; considerarei, entretanto, como taes, as diarrheias estivaes que reuno em duas grandes classes: Umas são ligeiras, benignas, e só a sua persistencia, levando á cachexia, pôde fazer d'ellas um padecimento grave — *diarrheias simples*; outras porém, apresentam desde a sua apparição um alto grau de gravidade pela intensidade das perturbações digestivas e pela intensidade da infecção — *diarrheias graves*.

O character das *diarrheias simples* varia com a idade da creança. Até ao 2.º mez, o figado reage sempre e do mesmo modo, sob

a influencia das causas morbidas, e unifica assim todas as variedades de diarrheia. No entanto, a acidez ou alcalinidade do fluxo diarrheico, o character infeccioso ou não que o padecimento affecta, permittem distinguir tres variedades :

a) *A diarrheia verde, biliar, acida, sem infecção*, cuja côr verde é devida a um pigmento biliar, e a fluxo intestinal a um augmento de secreção do figado, resultante quer d'um vicio de alimentação da creança, quer então de causas desconhecidas, porque a despeito, muitas vezes, da mais rigorosa hygiene na alimentação do recém-nascido, com ama de boa saude e excellente leite, a diarrheia verde apparece.

b) *A diarrheia verde, biliar, acida, acompanhada com infecção*, que apresenta como causas os excessos d'alimentação ou uma alimentação má (leite carregado em gorduras, em toxinas, etc.)

c) Finalmente *a diarrheia verde biliar alcalina, infecciosa*, chamada tambem *ictericia epidemica*.

Se a creança tem mais de dois mezes, pôde soffrer muitas variedades de diarrheia, sendo as principaes a *lienteria*, a *diarrheia amarella*, a *diarrheia da dentição*, a *frigore*, e a *diarrheia verde bacillar*. A *lienteria* consiste na indigestão intestinal do leite que é coagulado pelo estomago, não tornando, po-

rém, assimilavel a caseina, que atravessa todo o tubo digestivo, sem ser absorvida. Como o leite não é digerido, as dejeccões são brancas, de consistencia normal e neutra como as dejeccões normaes; porém muitas vezes, pôdem apresentar um pequeno grau de acidez, que é devido a uma certa quantidade de bile. Frequentemente, estas dejeccões são amarelladas no interior e esverdeadas á superficie; esta côr esverdeada torna-se mais intensa pela exposição ao ar. Outras vezes, em lugar d'estas colorações, notam-se pequenos grumos, palhetas verdes, contrastando com o fundo pardo das dejeccões que não são córadas. O cheiro forte da fermentação, foi considerado por Parrot como caracter especial d'esta variedade de diarrheia.

Na *diarrheia amarella*, o fluxo diarrheico, contendo grumos de caseina ou elementos por digerir, apresenta côr amarella, cheiro fétido e algumas vezes, reacção acida. Se a diarrheia amarella tem por causa uma enterite ligeira, não ha febre, nem tympanismo. O ventre fica flacido, indolente á pressão, e não se notam symptomas de infecção. Porém, casos ha em que existe um ligeiro grau de hyperthermia (38-39°), tympanismo colica intestinal, etc.

As *diarrheias da dentição e a frigore*, que formam o grupo das chamadas *diarrheias reflexas* e cuja existencia foi posta em duvida

por varios pathologistas, são admittidas hoje por todos, sem contestação.—Não apresentam nada de particular.

As diarrheias relativamente benignas de que acabamos de fallar, oppõem-se as diarrheias graves—o *cholera infantil*, a *tuberculose intestinal aguda* e finalmente a *diarrheia infecciosa* que tantas vezes acompanha o *periodo do desmame da creança*.—D'estas diarrheias em cujo grupo incluirei tambem a *diarreja verde bacillar*, fallarei levemente apenas no *cholera infantil* e na *diarrheia do desmame*, limitando-me a mostrar a differença completa que entre ellas existe sob o ponto de vista symptomatologico.

O *cholera infantil* manifesta-se por vomitos extremamente intensos e fluidos—a outra por vomitos pouco intensos e faltando o mais das vezes. Na primeira, as dejecções são amiudadas, incolores e perfeitamente liquidas—na *diarrheia do desmame* as dejecções são em numero de 4 a 5 por dia, e apresentam-se fetidas, amarellas, por vezes verdes, acidas, biliares ou côr de aço e semi-solidas. N'esta ha dôr á pressão e tympanismo abdominal; no *cholera infantil*, ventre flacido e deprimido—hypothermia, collapso e morte em algidez;—na *diarrehia do desmame* nota-se hypertermia (39° 40°) que se mantém e mesmo augmenta até á morte (40° a 41°).

No *cholera infantil* existe, finalmente,

dyspnea por infecção, sem correlação de signaes de lesões pulmonares — na outra ha dyspnea acompanhada de signaes estoscopicos de congestão pulmonar erratica.

Nada digo a proposito das *diarrheias verde bacillar* e da *tuberculose intestinal infantil*, porque são devidas a agentes especificos especiaes.

Procedendo methodicamente ao exame bacteriologico das fezes de creanças atacadas das diarrheias já mencionadas, notei logo ao começar estes trabalhos, que o B. Coli Commune apparecia em tal quantidade nas placas feitas, que quasi me vi forçado a admitti-lo, como agente especifico primario ou secundario d'estas doenças. E' verdade que, normalmente o B. Coli não é pathogenico, e portanto para que elle produza as diarrheias, é neccessario que o meio interno—*intestinal*—se modifique enquanto á sua qualidade e quantidade, alterando assim a docilidade habitual d'aquelle micro-organismo e convertendo-o, então, n'um agente aggressivo. Esta affirmção que me foi imposta pela observação, não é individual, mas sim da maioria de todos aquelles que se tem entregue a identicos estudos. (Thiercelin — Wurtz — Lesage — Booker — Macé — Sevestre — Wyss — Simon — Baginsky — Rossi Doria — Escherich, etc.)



PARTE BACTERIOLOGICA

DEPOIS de expôr o que entendo por diarrheias infantis e qual o seu elemento etiologico, passo agora a mencionar o meio de que lancei mão para isolar e diagnosticar o *Bacterium Coli Commune*.

Recorri, então, ao exame bacteriologico das fezes, fazendo culturas em placas, por ser de todos os meios aquelle que melhor concorre para o mais rapido isolamento dos microbios. Tomei, para isso, de cada observação, uma particula quasi insignificante de substancia fecal, que dilui n'uma pequena quantidade d'agua para tornar mais discretos os elementos que constituem a flôra microbica que n'ella existia, e portanto mais facilmente isolaveis. Em seguida, por meio

d'um fio de platina, dobrado em annel na extremidade, esterilizado á lampada e mergulhado depois no soluto, semeei o veu liquido que se fórma no fio de platina assim disposto, em tres tubos de gelatina liquifeita pelo calor. Fiz, depois, percorrer a gelatina nas paredes dos tubos, de modo a tornar homogenea a distribuição em toda a massa, e dos tres tubos aproveitei para o isolamento os dois ultimos, em que a sementeira era mais rarefeita, como depois verifiquei. Lancei o conteudo para duas placas, nas quaes notei, passadas 24 horas, a existencia de colonias d'aspecto differente, reconhecendo, todavia, que as mais predominantes eram as do *B. Coli*, pelo seu aspecto arredondado, azulado e translucido por transparencia, apresentando-se algumas perfeitamente umbilicadas no centro. Tratei d'isolar, em seguida, aquellas colonias que, pelos seus caracteres morphologicos, me pareciam de *B. Coli*, para outras placas de gelatina, e continuando assim, consegui obter o *B. d'Escherich*, perfeitamente isolado dos micro-organismos que o acompanhavam, alguns dos quaes tambem isolei: *coccus* em grande quantidade, agrupados de modos diversos, sendo o mais curioso pela sua fórma bem nitida, o *staphylococo pyogenico dourado*, do qual fiz cultura especial; o *mesentericus vulgatus*; *mucidineas* com grande poder liquifaciente na gelatina e que

cultivei na batata; e por ultimo um *vibrio cholerae* que por impossibilidade absoluta não cheguei a isolar.

Obtidas assim isolades as colonias do *B. Coli*, fiz como meio de *contrôle*, preparações córadas, umas vezes pela *fuchsin* de Ziehl, outras vezes pela *thionina phenicada* de Nicolle e procedi a todas as reacções biologicas, apontadas como características d'este agente especifico.

Depois do *B. Coli* perfeitamente isolado e verificado, segundo os variados meios de investigação e de diagnostico que a bacteriologia aconselha, passei a fazer o estudo da sua biographia que resumo aqui.

BACTERIUM COLI COMMUNE

Chamado tambem *Coli-Bacillo*—*Bacillo d'Escherich* ou *Bacillo do Colon*, — foi isolado por Escherich nas dejectões dos recém-nascidos, algumas horas depois do nascimento—porque antes o meconio é esteril—e nas das outras creanças.

MORPHOLOGIA

CARACTERES MICROSCOPICOS. — Apresenta-se ao microscopico sob a fôrma de bastonetes, mais ou menos curtos, segundo, a natureza do meio e a idade dos elementos, variando desde a fôrma de coco allongado até á de gigantescos filamentos que podem attingir 10 a 15 μ e mesmo mais. — Estes bastonetes, umas vezes, são isolados, outras vezes reunidos dois a dois ou em pequenas massas, o que não é vulgar, ou então affectam a fôrma de lançadeira, com um vacuolo central, como o bacillo typhico. E' um micro-organismo nitidamente movel, executando o mais das vezes, movimentos d'oscillação, sem comtudo se deslocar e podendo, raras vezes, executar tambem movimentos de translação directa. Esta motilidade é devida á presença de cêlhas vibrateis em numero de quatro a seis, podendo excepcionalmente contarem-se oito, dispostas, em numero igual, nas duas extremidades, e algumas vezes em toda a peripheria do bastonete. Este pôde, em certos casos, intumecer-se n'uma das extremidades, o que deu origem á supposição de que esta dilatação continha sporos, mas depois reconheceu-se que tal supposição era infundada, visto que o bacillo n'estas condições, não resiste

ao calor nem á dissecação — propriedades características dos sporos.

Tambem no meio dos bastonetes se pôde apresentar esta dilatação, dando então, origem á fôrma de lançadeira que já mencionei.

COLORAÇÃO. — Estes elementos coram-se facilmente pelos processos ordinarios e rapidamente se descoram pelo methodo de Gram, excepto, segundo Schmidt, quando o bacillo é impregnado de gordura, como acontece nas materias fecaes dos recém-nascidos.

CULTURAS. — E' um anaerobio facultativo, por isso que, a despeito do oxigenio favorecer o seu desenvolvimento nos diversos meios culturaes, pôde, todavia, vegetar sem elle. Não é liquifaciente na gelatina, e, sob o ponto de vista da temperatura, o *B. Coli* pôde pullular favoravelmente a 12°; entretanto a temperatura eugenesica é 33°, podendo, de resto, proliferar até 46°.

CALDO

N'este meio, a cultura, depois d'algumas horas, apresenta uma turvação geral, acompanhada d'um ligeiro descoramento e um deposito floccoso que se amontoa no fundo do tubo, emquanto que á superficie se fôrma frequentemente um veu d'um branco acinzentado, que se mostra irisado quando

observado em certas condições de luz. Se o caldo é lactosado e contém carbonato de cal, o bacillo faz fermentar a lactose e o acido lactico formado decompõe o carbonato de cal, desenvolvendo-se acido carbonico sob a forma de bôlhas. N'este meio, o *B. Coli* adquire então, uma virulencia mais activa; o producto da fermentação é o acido lactico direito ou esquerdo.

BATATA

A cultura apresenta-se abundante, cremosa e de côr amarello-sujo, com um aspecto quasi analogo ao apresentado pelo *B. do môrmo*, no mesmo meio. O aspecto das culturas pôde servir até certo ponto, para distinguir o *B. Coli* do *B. Typhico*, pois que são differentes. Infelizmente não é um caracter absoluto porque em certas condicções, o *B. d'Escherich* pôde apresentar na batata os caracteres do *B. Typhico* e reciprocamente. Todavia, collocados nas condicções ordinarias, os caracteres differenciaes dos dois bacillos, manifestar-se-hão nitidamente.

GELATINA

Na gelatina, *em picada*, o desenvolvimento é rapido e o vestigio de picada apresenta-se occupado por colonias apertadas

umas contra as outras; á superfície da gelatina a cultura alarga-se, tomando o aspecto que geralmente o *Coli* apresenta quando cultivado em *estria* no mesmo meio.

Na gelatina, em *placa*, as colonias, já no fim de 24 horas, apparecem sob a fôrma de discos granulados, amarellados, quando existem na espessura da gelatina. As superficiaes podem apresentar tres fôrmas:

1.^a) a de culturas arredondadas, translucidas e nacaradas com um desenvolvimento caracteristico no centro, que se levanta em fôrma de zimborio, ganhando assim em altura com prejuizo da sua superficie;

2.^a) conhecida pelo nome de *forma opaca de Laruelle* é branca, opaca, tendo entre o mamillo central e a periphéria, uma zona mais clara, que dá á cultura um aspecto caracteristico, em *roséta*. Examinada ao microscopio mostra-se sulcada de estrias, umas divergentes outras concentricas.

3.^a) *Thyphimorpha*, descripta por Wurtz e Hermann (1891) é d'um branco luzidio, sulcada de rêgos e fendas que as tornam semelhantes a um mar de gelo ou a montanhas da lua e que se considera como caracteristica das culturas do B. Typhico. Esta fôrma é rara e além d'isso, estes caracteres desapparecem com a 2.^a ou 3.^a geração. As culturas em placas de gelatina no 6.^o ou 10.^o dia, attingem facilmente 4 a 5 millimetros.

GELOSE

A forma geralmente empregada para a cultura do *Coli* n'este meio, é a *estria*, sendo conservados os tubos na estufa a 37°. A principio, as culturas mostram-se esbranquiçadas, de bordos festonnados, que pouco a pouco se fundem, a ponto de formarem uma camada continua, de parede a parede do tubo, tendo, porém, uma certa espessura.

Em placas, as colonias assemelham-se ás que já descrevi, ao encetar-se a vegetação no tubo semeado em *estria*.

Em picada, pôdem originar-se bôlhas de gaz.

LEITE

O *Coli* cultivado n'este meio, reproduz-se rapidamente e coagula o leite, produzindo acido lactico.

SORO

O aspecto das culturas é sensivelmente o mesmo que o das culturas em gelose.

URINA

Desenvolve-se bem na urina fresca, esterilizada, conservando a acidez da urina e não

decompondo a sua urêa. Mas Hallé e Dissard notaram que a urina se tornava alcalina e a urêa se desdobrava em carbonato de ammoniaco sob a acção do *B. Coli*. Para verificar esta asserção, procedi a ensaios que me provaram que as culturas do *Coli* n'este meio se tornam alcalinas, como o demonstraram Hallé e Dissard, sem contudo atacar a urêa do meio. Para isto, tomei tubos da mesma urina, contendo cada um 10 c. c., esterilisei-os convenientemente e semeiei-os, tendo, porém, deixado alguns como testemunhas. A reacção da urina era acida, e continha 18,800 grammas d'urêa por litro. No fim de 48 horas, procedi á analyse dos tubos culturaes e dos testemunhas: a reacção havia-se tornada manifestamente alcalina, o que verifiquei com o soluto alcoolico de phenolphthaleina; emquanto que a urêa, doseada no ureometro de Yvon, mantinha-se a mesma nos dois tubos — tubo de cultura e tubo testemunha.

As duas opiniões emitidas tinham, de facto, algum fundo de verdade.

Apontados os diversos modos como o *B. Coli* se comporta nos differentes meios usuaes, descrevo agora a sua acção sobre os meios especiaes que servem para a sua distincção do *B. Typhico*. Esta questão, que for-

temente tem preocupado os bacteriologistas, tornou-se o objecto d'um grande numero de trabalhos, onde são preconisados varios methodos todos tendentes á realisação mais ou menos provavel d'este *desideratum*, mas cuja maior parte não tem dado resultado positivo; e, se alguma utilidade se tem tirado do seu conhecimento, é apenas sob o ponto de vista da constatação do *B. Coli*. Não podemos esquecer comtudo o chamado — *methodo das culturas em placa* com o estudo ulterior dos diversos caracteres. E' necessario entretanto, para a confecção das placas, levar bastante longe a diluição, de modo a tornar as colonias, por assim dizer, bastante discretas, podendo então desenvolverem-se sem difficuldade e serem isoladas. Esta difficuldade de diagnostico levou Rodet e ⁽¹⁾ Roux, de Lyon, a concluir, depois de numerosas investigações, que o *B. d'Eberth* não era senão o *B. Coli* n'um estado de degenerescencia, de enfraquecimento, tomando este no organismo, e sobretudo no baço, o typo do *B. Typhico*, degenerando depois, sem duvida sob a influencia dos actos destruidores do organismo. Todavia as infecções experimentaes feitas por meio do *B. Coli*, não confirmaram de modo algum esta opinião, porque passando pelo organismo o

(1) Rodet et Roux — Relations du Bacillus Coli avec le bacillus typhique et avec le fièvre typhoïde (Société de Biologie 21 fevrier 1890).

bacillo assemelha-se em todos os seus pontos ao que se inoculou. Entretanto a bacteriologia possui actualmente meios para estabelecer um diagnostico differencial mais ou menos rigoroso. Apresento as transformações operadas n'estes meios pelos dois micro-organismos reservando o seu *modus faciendi* para logar opportuno.

CALDO LACTOSADO OU GLYCOSADO

Cultivado n'estes meios o *Coli*, provoca a formação de H e CO^2 , facto que se não dá com o Typhico. Tem-se affirmado que o B. Typhico, em certos casos, podia determinar identica fermentação; Chamtemesse e Widal virão, com efeito, que com o tempo o B. de Eberth pôde ter uma certa acção sobre a saccharose, mas nunca sobre a lactose. Ainda ultimamente Grimbert descreveu um *Coli* que tinha acção sobre a saccharose, mas a variedade de *Coli* mais vulgarmente conhecida é a que faz fermentar a lactose e é inactiva em face da saccharose. A acção fermentiscivel do *Coli* é tornada mais evidente pela adjuncção a estes meios de carbonato de cal, finalmente pulverisado. Segundo Scrueel, o *Coli* provoca estas fermentações, quer como microbio aerobio que, como anaerobio, posto que seja na aerobiose que elle melhor as produz.

MEIOS CÓRADOS

Ainda que d'uma grande difficuldade de preparação, nós podêmos empregar o meio córante complexo de *Noeggerath* para com elle fazer tubos ou placas de gelatina ou gelose nas quaes cultivei o *B. Coli*, podendo, de resto, empregar para o mesmo fim, a fuchsina que é de uso mais vulgar. N'estes meios, o *Coli* desenvolve-se rapidamente; entre o 2.^o e 3.^o dia, vê-se nitidamente a estria d'inoculação que se encontra reforçada com innumeradas colonias, absorvendo a materia córante e descórando o resto do meio cultural ou mesmo enfraquecendo-lhe a côr. O *B. Typhico* desenvolve-se muito mais lentamente, e só no fim do 6.^o ou 8.^o dia é que consegue apresentar reacções n'estes meios, que se possam equiparar ás do *B. Coli*—este bacillo, por conseguinte, têm uma affinidade para as materias corantes muito mais accentuada que a do *B. Typhico*. Empreguei tambem como materia córante o *sutfo-indigato de soda* que se lança no meio cultural até se obter uma côr violeta pallida.—Passado tempo, torna-se vermelho-violaceo, o que é devido ás secreções acidas do *B. Coli*, emquanto que *B. de Eberth* não exerce n'elle nenhuma modificação.

Marpmann utilisou-se do *verde-malachite* para coloração dos meios que o *Coli* torna

branco acinzentados, emquanto que o *B. Typhico* cultivado no mesmo meio dá uma côr verde.

Duflocq emprega a *Indolina* que no meio cultural, toma uma côr opaca escura e na qual o *Coli*, passados dias, fôrma uma espessa risca esbranquiçada, emquanto que o *B. d'Eberth* só no fim de oito dias mostra colonias que apenas o descóram.

MEIOS DE ROBIN

Estes meios podem ser o caldo ou a gelose, e os dois bacillos litigantes cultivados n'elles, comportam-se ainda de modo differente. Assim o *Coli*, antes de 15 horas no caldo, e 12 a 15 na gelose, côra o meio em azul—ao principio, ao longo da estria da sementeira e depois, invadindo pouco a pouco todo o meio; o *B. Typhico* cultiva-se bem n'estes meios, sem sequer os modificar.

Apesar de poder julgar positivas todas as reacções que acabei de mencionar, para affirmar scientifica e rigorosamente o diagnostico do microbio que acabava de isolar, procedi a mais algumas reacções que vieram reforçar as anteriores. Fallo, em primeiro lugar, da reacção do *indol*, quer pelo methodo classico, quer pelo methodo de Crisafulli, que foram

positivas para o Bacillo em questão, e sabemos, de resto, que esta reacção é negativa para o B. Typhico.

E' facto que G. Roux encontrou um B. Typhico, dando uma reacção minima, e varios auctores encontram *Colis* autenticos que não revelaram a reacção. Mas, no caso presente foi mais uma prova positiva que adquirir.

As culturas do *Coli* exhalam um cheiro caracteristico, proprio, — cheiro de fezes ou de latrinas — o que não succede com o B. Typhico. Segundo Macé, (1) o diagnostico differencial entre o *Coli* e o B. typhico, deve ser assente sobre tres caracteres especiaes:

1.º Cultura em caldo lactosado addicionado de carbonato de cal.

2.º Cultura no leite.

3.º Reacção d'agglutinação dos bacillos pelo sôro antityphico.

A todas estas condições satisfaz o bacillo que isolei e que portanto o posso diagnosticar como *Bacterium Coli Commune*.

MEIOS MIXTOS

Chamo meios mixtos a todos aquelles em que se aproveita a funcção fermentiscivel do

(1) Macé — *Traité pratique de bactériologie* — 1897, pag. 720.

Coli sobre substancias corantes. Estão n'este caso, a *gelose lactosada com rubina acida*, com *tornesol*, com o *azul de methylena* e tambem o *caldo com o azul de methylena*. Estes dois ultimos meios foram ainda recentemente apresentados por Robin na Sociedade de Biologia de Paris.

GELOSE LACTOSADA COM RUBINA ACIDA

Semeado o *B. Coli* n'esta gelose que é de facil preparação, como adeante veremos, em algumas horas torna-se esta vermelha intensa, emquanto que o *B. d'Eberth* não lhe produz alteração alguma. Se nos servirmos de uma cultura mixta de *B. Coli* e *B. d'Eberth*, observa-se no fim de 24 a 36 horas, que as colonias de *B. d'Escherich* apparecem rosadas, emquanto que as do *B. Typhico* ficam claras e transparentes. O contraste é frisantissimo e mostra-nos ser um processo importante sob o ponto de vista da separação dos dois bacillos, e com este fim, tem sido, com vantagem, ultimamente empregado (1), ainda que só por si não seja sufficiente para assegurar um diagnostico.

(1) Ramond—*Presse Médicale*, 1896—pag. 392.

GELOSE LACTOSADA COM TORNESOL AZUL

N'este meio, o *Coli* desenvolve-se, dando-lhe rapidamente uma côr vermelha, primeiro á volta da cultura e depois em todo o tubo, produzindo-se na parte profunda da cultura numerosas bôlhas, algumas das quaes, pela sua expansão, descollam a gelose das paredes do tubo. O Typhico, pelo contrario, desenvolve-se sem modificar a côr azul do meio.

METHODO D'ELSNER

Actualmente por este methodo, chega-se tambem a fazer a differenciação dos dois bacillos.

O seu *modus-faciendi* é descripto em logar proprio. Para nos servirmos da gelatina d'Elsner, basta deitar em cada balão um gramma de iodeto de potassio que se dissolve lentamente em 9 c. c. da gelatina mantida em fusão. Faz-se depois a sementeira bacillar do mesmo modo que para as placas ordinarias, e vê-se então, a proliferação d'estes dois bacillos, cuja differenciação é possível pelo aspecto das colonias. As do *B. Coli* apresentam um desenvolvimento mais rapido; passadas 24 horas e á temperatura de 20°, têm o seu aspecto habitual e são nitidamente gra-

nulosas e além d'isso apresentam uma côr escura bastante pronunciada.

As do *B. Typhico* são de desenvolvimento mais lento, apresentando-se, passadas 48 horas, ainda sob a fôrma de pequenos pontos; são muito menos granulosas, transparentes, semelhantes a gotículas d'agoa e quasi incolores.

PROPRIEDADES BIOLOGICAS

A propriedade chimica mais frisante é, como já vimos, a acção fermentativa, exercida pelo *B. Coli* sobre as materias assucaradas. Assim, ataca energicamente as glucoses, com tanto que exista no meio uma pequena quantidade d'azote assimilavel; se adicionarmos ao caldo uma certa quantidade de glucose, o *B. d'Escherich* vegeta vigorosamente, desenvolvendo-se gases que são principalmente a H e CO^2 e um pouco de gaz dos pantanos; formam-se, além d'isso, no meio, acidos gordos, provenientes do ataque da molecula assucarada, como por ex.: o *acido formico* em pequena proporção, o *acido acetico* e o *acido lactico* que, segundo Bischler e Nencki é o *acido paralatico dextrogyro*—algumas variedades dariam o *levogyro*—; produz-se ainda uma pequena quantidade d'alcool ethy-

lico, que se pôde constatar pela reacção do iodoformio, para o que basta tratar o alcool pelo iodo, em presença d'um alcali.

Nos meios contendo saccharose e lactose, a fermentação manifesta-se do mesmo modo, mas é menos energica e o acido lactico produzido é o acido ordinario da fermentação, isto é, o inactivo.

Fermenta energicamente, da mesma fôrma a *maltese*, a *malto-dextrina* e a *glycerina*. O *B. Coli* decompõe as materias albuminoides, sobretudo as syntonimas e as peptonas—produz-se uma reacção a principio acida, mas que se torna, em seguida, alcalina pela producção d'ammoniac. A caseina é difficilmente atacada, podendo mesmo deixar de o ser. Cultivado no caldo peptonisado dá rapidamente o *indol* e vestigios de phenol; em todos os meios peptonisados desenvolve um cheiro muito activo, lembrando as fezes.

Os productos de secreção do *B. Coli*—*toxina*—nas culturas, têm sido alvo de innumerous trabalhos iniciados por Wurtz, que viu que o caldo cultural completo virulento, mata o porco-chino em 20 horas, quando innoculado na pleura; enquanto que este mesmo caldo filtrado pela vela Chamberland não determina perturbação morbida alguma,

ainda que a dose seja de 5 a 6 c. c. Gilbert estudando a acção d'esta toxina (preparada do mesmo modo que Wurtz) sobre o coelho, reconheceu que a dose mortal está comprehendida entre 37 e 94 c. c. por kilogramma d'animal. Bem fraca é a toxicidade do caldo filtrado, pois que para o caldo simples, aséptico, são necessários 165 c. c. para dar a morte aos coelhos. Mas, esta toxina assim obtida, é bastante impura; por isso, Malvoz tentou purificá-la, tratando o caldo de cultura pelo sulfato d'ammoniac e dialysando o precipitado, que elle dissolvia na agua glicerinada a 5 %. Ainda que este extracto glicerinado seja a toxina muito mais pura do que a obtida pela filtração dos caldos de cultura, ainda assim esta ultima, tem sido empregada para conhecer a sua acção sobre os animaes. Injectada ao coelho, começa por produzir um enfraquecimento progressivo, com tremor fibrillar, seguido de mydriase, embotamento da sensibilidade, e somnolencia, podendo chegar até ao côma. N'um segundo periodo, sobrevêm abalos convulsivos, nystagmos de hyperexcitabilidade reflexa da pelle e dos órgãos dos sentidos. Finalmente, no terceiro periodo, apparece a myosis, seguida de contracção tetanica generalizada, que se prolonga até á morte do animal.

A symptomatologia varia com a dose injectada, e o animal ainda póde curar-se, em

qualquer das phases, já descriptas, excepto quando apparecem as convulsões tetanicas.

Acontece, muitas vezes, que um animal que resistiu á injectão da toxina, cahe em cachexia (emagrecimento e diarrheia) que o leva á morte com abaixamento de temperatura.

Na autopsia do animal morto, encontram-se lesões intestinaes, ulcerações e escharas.

Uma acção bem conhecida da toxina do *B. Coli*, é a acção sobre a temperatura, que começa a baixar bastante, duas e tres horas depois da injectão, segundo verifiquei; esta acção hypothermisante, já a tinha encontrado Rodet, G. Roux, de Lyon, Boix e outros sobre as culturas filtradas.

A injectão do extracto glycerinado no systema circulatorio do coelho, provoca convulsões, espasmos tetanicos, com hypersthesia geral; esta symptomatologia, porém, que se mantém durante uma hora, desaparece, e o animal, recupera a sua normalidade.

Parece, pois, que a toxina coli-bacillar, tem uma acção manifesta sobre a medulla, e accessoriamente sobre os musculos estriados e o coração.

VIRULENCIA

O *B. Coli* em geral, encontra-se como um saprophyta no intestino dos animaes sãos: *homem, cão, coelho e rato*, etc.; faltando, porém, segundo Frémelin, no *rato dos campos, no porco-chino e no pombo*. Entretanto, excepcionalmente, este agente especifico pôde assanhar-se e tornar-se virulento, facto conhecido já por Escherich. Mas o bacillo isolado do intestino da creança de peito é bastante virulento e foi com elle que aquelle sabio bacteriologista conseguiu matar coelhos e ratos. Foram Lesage e Macaigne que isolando, das dejeccões d'uma creança de peito e com saude o *B. Coli*, estudaram esta ultima questão, injectando a animaes uma quantidade de cultura secca d'um volume igual ao d'um grão de ervilha, e conseguiram matar todos os animaes; mas se empregavam culturas feitas em caldo e conservadas na estufa durante 48 horas, não conseguiam, porém, matar os animaes a que injectaram 1 c. c.—sob a pelle ou na orelha do coelho, na pelle do porco-chino e no peritónio no coelho ou na pelle do rato. D'esta experiencia se conclue que o *Coli* da creança é virulento, mas a sua virulencia augmenta, se provém d'um intestino doente. Assim 1

c. c. de caldo cultural feito 48 horas antes, mata o coelho ou o porco-chino em 24 ou 48 horas; e 5 a 6 gotas são suficientes para o rato.

A virulencia pôde também ser adquirida experimentalmente passando o caldo cultural successivamente pelo peritonéo de porcos-chinos ou coelhos, processo que, segui para obter um *Coli* virulentissimo e que descreverei opportunamente. Adquirida esta virulencia, ella pôde conservar-se muito tempo —ao fim de dois mezes, cultivado em caldo, ainda se mostra virulento o bacillo. Entretanto, com o tempo, mórmente se estiver exposto ao ar, pôde attenuar-se, effeito que igualmente é produzido por muitas outras causas desfavoraveis. N'este ultimo estado, o *Coli* em lugar de produzir uma morte rapida e segura, não produz mais que simples abcessos.

Feita assim rapidamente a biologia do agente causal das minhas investigações, tors nadas morosas, graças ás relações intimas que elle mantém com os innumerós bacillos que formam a flora microbiotica intestinal, e depois de ter mostrado qual a sua acção sobre os animaes, descrevo agora o modo como elle se comporta no organismo humano, em

que elle é um hospede habitual e saprophyta. Para isso, basta apresentar as diversas manifestações pathologicas que o B. d'Escherich, normalmente inoffensivo pôde originar quando, no proprio organismo ou fóra d'elle, adquire condições especiaes de maior ou menor virulencia. Se a sua acção se exerce sobre o intestino, temos as *enterites infectuosas* que sob o ponto de vista classico podem ser classificadas, segundo Macaigne do seguinte modo :

1.º ENTERITES INFECTUOSAS.

A. *Fôrma aguda :*

- | | | |
|--------------|---|--|
| 1.º algida | { | cholera-nostras |
| | | cholera infantil |
| 2.º pyretica | { | pseudo-infecção puerperal |
| | | enterite infectuosa febril
das crianças). |

B. *Fôrma prolongada :*

- 1.º enterite cachetisante das crianças
- 2.º cholera nostras prolongada.

2.º DYSENTERIA

3.º SEPTICEMIA GENERALISADA

Transposta a barreira intestinal, o *B. Coli* invade o peritónio. No quadro da infecção peritoneal podemos collocar:

4.º PERITONITE E O CHOLERA HERNIARIO

5.º INFECÇÕES BILIARES

A ascensão do microbio para as vias biliares dará segundo grau de virulencia:

- 1.º uma infecção biliar simples sem lesão.
- 2.º icterecia grave ou pseudo-grave.
- 3.º uma angiocholite suppurada.

6.º INFECÇÕES DO TUBO DIGESTIVO:

No tubo digestivo póde tomar parte em certas lesões:

Na bôca — falsas membranas e angina.

No estomago } infarctus
No intestino }

Abcessos do *anus* e outras collecções purulentas na vizinhança do intestino.

7.º INFECÇÕES DIVERSAS

O coli póde ainda ser o agente productor de muitas outras doenças, quer atravessando as paredes do tubo intestinal,

quer, entrando na circulação e affectando órgãos que não têm relação estreita com o intestino. Assim temos :

8.º DOENÇAS PRODUZIDAS NO

- 1.º endocardio
- 2.º pulmão e pleuras
- 3.º corpo thyroideo
- 4.º utero e annexos
- 5.º apparelho urinario (meningites)
- 6.º articulações e ossos (osteomyelites)
- 7.º apparelho da visão (panophtalmia n'um caso de Randolph).

A estes casos comprovativos do poder pathogenico do *B. Coli*, sobre o organismo humano, devemos ainda accrescentar outros que, embora sô observados nos animaes, pôdem comtudo illucidar, até certo ponto, questões relativas á pathologia humana. Refiro-me á accção sobre o systema nervoso e ás lesões arteriaes consecutivas á infecção pelo *B. Coli*. Gilbert e Lyon obtiveram pela inoculação do *B. Coli* em coelhos, resultados experimentaes bastante curiosos no que diz respeito á accção d'este micro-organismo sobre os centros nervosos. Trata-se de paralyrias cuja causa se pôde talvez attribuir á accção nociva da toxina sobre a substancia cinzenta

da medulla. Apoz uma diarrheia cachetisante, seguida de melhoras, os coelhos tornavam-se paraplegicos, 22 a 49 dias depois do começo da affecção e morriam dentro de 5 a 22 dias consecutivos á apparição da paraplegia. Feita a autopsia, notava-se a existencia d'um amollecimento medullar.

Na região lombar havia numerosas células modificadas, apresentando-se com o protoplasma granuloso e nucleo difficilmente visivel; outras, em maior numero, encarquilhadas, refrangentes, fortemente córadas e sem nucleo. Em certos pontos, a atrophia attinge taes proporções que, nos córtes torna-se impossivel reconhecer qualquer cellula. Evidentemente, os experimentadores estavam em face de casos de *myelite central de origem infectuosa*.

Estes factos interessantes da acção do B. d'Escherich sobre a medulla, dão-nos talvez a interpretação do mechanismo das paralyrias humanas no decurso das enterites e das infecções urinarias.

Como se vê, o *B. Coli*, hospede do organismo, em geral inoffensivo, pôde apresentar um cadastro pathologico de certa importancia, revoltando-se contra o meio organico que lhe serve d'abrigo.

IMMUNIDADE E SÓROTHERAPIA

E' facto que existem certos microbios de que nós proprios necessitamos para o regular funcionamento do nosso organismo. Assim, no nosso intestino, ha uma flóra variada que auxilia a digestão; não se trata, pois, aqui d'um parasitismo, mas sim d'uma symbiose.

Estes sêres, embora sejam microbios, não são virus, porque para que um microbio tenha jus a este nome, não lhe basta penetrar e desenvolver-se n'um ser d'organisação superior; mas, é necessario que lhe provoque algum mal, que lhe produza uma doença. Assim, a *coccidea* que existe frequentemente no sangue das aves, não é um virus, por isso que nada perturba o organismo d'estes animaes.

Todo o virus, portanto, exerce uma acção pathogenica, e segrega materias toxicas, capazes d'alterar os elementos anatomicos.

A esta aptidão que tem o virus de se desenvolver no corpo d'um animal, produzindo e segregando estas substancias toxicas — *toxinas* —, é que geralmente se chama a *virulencia*.

Comprehende-se facilmente que differentes microbios possam produzir a mesma toxina, visto que encontramos exemplos identicos no reino vegetal — varias plantas nos

dão a atropina. Não será por estes motivos que os vibriões têm acções identicas?

Durante muito tempo, as toxinas foram consideradas como alcaloides; mas, hoje é incontestavel que a maior parte d'ellas respondem a todos os caracteres dos *enzymas*, — actuam em doses infinitesimales, são destruidas pela ebullicão, e attenuadas, na sua acção, por uma temperatura elevada.

O estudo d'estas substancias ainda hoje está pouco adeantado, e isso principalmente porque não as podemos obter em quantidade necessaria, nem em estado de pureza, e limitamo-nos a distinguil-as pela acção que exercem sobre os animaes. Cada toxina, portanto, dá ás diversas doenças, o seu aspecto caracteristico, provando-nos assim que uma doença infecciosa não é mais do que um envenenamento.

Como seres vivos, os virus são modificaveis; do mesmo modo que um creador de gado pôde criar raças especiaes, assim o bacteriologista pôde modificar as qualidades excepcionaes d'um dado microbio; o que é muito mais facil, porque elle facilmente pôde modificar o meio em que o microbio se ha-de desenvolver. — Foi Pasteur o primeiro que viu que era possivel modificar os microbios, sob o ponto de vista da virulencia. Procurou attenuar as bacterias pathogenicas, e chegou a obter raças microbianas, tendo perdido toda a

virulencia; estes microbios posto que capazes de se multiplicarem, não davam já secreções toxicas; são os virus attenuados. Um virus pôde tornar-se inoffensivo, sem por isso ser attenuado, basta que os microbios que o constituem sejam attingidos na sua vitalidade, que germinem lentamente, para não causarem mal algum aos animaes; mas este virus modificado, recupera logo a sua virulencia quando é rejuvenescido pela cultura. N'este caso, a attenuação pôde ser obtida rapidamente por um agente qualquer: calor, dissecação, antisepticos, etc., mas não é duravel; o contrario, se dá quando é obtida sob a influencia de causas lentas e de acções prolongadas. O calor só, a dissecação, a acção prolongada dos antisepticos, em fraca dóse, são outros tantos agentes que pôdem attenuar os virus. Todos estes meios attenuam os virus, porque elles diminuem ou supprimem a producção da toxina. A descoberta da attenuação dos virus, permittiu a Pasteur dar a immumidade á sua vontade, e esta descoberta tem uma importancia capital sob o ponto de vista doutrinal e scientifico, pois que logo que se pôde criar a immumidade nos animaes sensiveis, pôde-se tambem estudar as condições necessarias para a producção do estado refractario, e d'ahi o mecanismo da immumidade.

Não entrarei na critica das differentes theorias que bem depressa se propozeram á reso-

lução da questão (*theoria do esgotamento, a do contraveneno, a da methridatisação e a da habituação, etc.*), pois que isso me levaria muito longe, desviar-me-hia do meu assumpto, levando-me para o campo de hypotheses, o que não se coaduna com o fim e a indole do meu trabalho.

Se Pasteur nos levou ao caminho dos virus attenuados, foi elle tambem o que nos deu a conhecer que a immunidadade podia ser obtida por meio da injectão de productos solueis, no que foi seguido mais tarde por Salmon, Wodrige, Charrin, Chamberland, Roux e outros. E' n'este caminho que ultimamente se têm dirigido todos os sabios, e foi baseado n'elle que Behring e Kitazato nos fizeram conhecer a sôrotherapia da diphteria e do tetano; com certeza, não ficará por aqui a lista dos beneficios que nos reserva a sôrotherapia, mesmo já alguns se encontram perfeitamente demonstrados e muitos outros apenas esboçados. No primeiro grupo temos o sôro anti-pestifero e anti-streptococico; no segundo, o sôro contra a febre amarilla, tuberculose, etc.

Como taes sôros não actuavam sómente contra a infecção determinada pelo proprio microbio, mas tambem contra a intoxicacão causada pelas secreções por elle elaboradas, conseguindo mesmo neutralisa-las *in vitro*, chamou-se á substancia activa d'estes sôros

a *anti-toxina*, cujo estudo ainda hoje está pouco adeantado. Esta anti-toxina, não se acha sómente no sangue, mas também em outros líquidos, normaes ou pathologicos do organismo — leite, urina, sôrosidades pathologicas do pericardio, da pleura, do peritônio, etc.); mas é logico admittir que esta anti-toxina provém do sangue.

Ainda hoje não é possível formular regras seguras e geraes sobre o periodo, durante o qual persiste a immundade; mas, entretanto, o que conhecemos já, é que a immundade obtida pelos productos soluveis sós, são d'uma persistencia mais longa, que a obtida pela infecção do proprio microbio.

O *B. Coli Commune*, elabora também nas suas culturas um principio soluvel, virulento, de que já fallei a paginas 30 e seguintes.

Justo era, pois, pensar que o agente especifico das diarrheias infantis, podesse acompanhar muitos outros microbios que têm hoje uma sôrotherapia efficaç. E já não é nova a minha tentativa; muitos outros a tentaram já, e alguns resultados podemos nós classificar hoje de positivos. Cesare Demmel e Orlandi, por meio de culturas filtradas por velas Chamberland, culturas fervidas e extractos glicerinados, conseguiram immunisar coelhos e porco-chinos. Depois querendo estudar a acção da anti-toxina sobre os typho-

sos, dirigiram a sua attenção n'este sentido, conseguindo, por meio de doses de 20 a 30 c. c. de sôro de coelhos immunisados contra o *B. Coli*, produzir nos typhosos uma baixa de 1 a 2 graus na temperatura, seguida d'uma melhora sensivel, no estado geral; não podendo, porém, continuar as injeções, a temperatura retomou a phase primitiva e seguiu a curva habitual da doença.

Salvati e Gaetano depois de terem obtido um *Coli* bem virulento, conseguiram obter uma immuniidade mais accentuada que a dos auctores precedentes, e muito mais duravel. Ainda recentemente, Albarran e Mosny, servindo-se de liquidos filtrados da maceração d'orgãos d'animaes mortos de infecções colibacillares, tentaram obter um sôro util nas infecções urinarias do *Coli*. Vê-se, pois, que muitos têm sido os trabalhadores que têm tentado fazer alguma coisa de util; e, se não posso apresentar dados bem positivos e seguros, é porque urge que eu termine a minha carreira academica, apresentando á Eschola o meu trabalho tal qual elle se encontra presentemente, mas promettendo não pol-o de parte, e portanto continuar o que já está encetado.

Apenas isolado o *B. Coli* das differentes diarrheias estudadas, quiz logo conhecer a sua virulencia, que se mostrou positiva.

Ainda assim quiz realçar esta virulencia

o que consegui, servindo-me do methodo de Agro, de Napoles: A um coelho de 900 grammas inoculei na cavidade peritoneal 40 c. c. de cultura de *Coli* em caldo, conservado 48 horas na estufa a 37° centigrados ⁽¹⁾.

Ao cabo de 18 horas, o coelho foi encontrado morto. Autopsiei-o e do escasso exsudato peritoneal, com a ansa da platina, tirei uma parcella que semeei em caldo e conservei na estufa a 37°; no fim de 48 horas servi-me d'esta cultura, para fazer uma nova inoculação a um coelho de 860 grammas que morreu 18 horas depois. Fiz-lhe tambem a autopsia, e de igual modo que para o coelho anterior, fiz uma nova cultura que conservada em igualdade de circumstancias me serviu para no fim de 48 horas innocular um novo coelho de 880 grammas com 30 c. c. No fim de 18 horas, este coelho tambem morria.

Procedendo assim, successivamente, no que gastei tres longos mezes, consegui obter um *Coli* tão virulento que 2 c. c. eram sufficientes para matar um coelho de approximadamente 800 grammas. Obtido o *B. Coli* como eu desejava, comecei a fazer a

(1) Foi por tentativas que cheguei a esta dóse de 40 c. c.

IMMUNISAÇÃO

Não podendo dispôr de grandes animaes — cavallo, burro, etc. — lancei mão de coelhos. Dose coelhos foram os que comecei a immunisar; mas a meio da immunisação, alguns morreram, quer pela cachexia propria, quer por accidentes nada relacionados com a immunisação. Por isso, pois, relatarei minuciosamente, apenas os factos passados durante a immunisação dos dois coelhos que chegaram ao fim, e que deram um sôro de que me servi nas injeções feitas (observações).

COELHO 154

Femea; peso 2,350 gr.; temperatura media 38°,9

- 1.º dia: injeção na veia lateral da orelha, 0,5 c. c. de toxina. Não houve reacção local, mas sómente, 2 horas depois, uma ligeira hypothermia.
- 4.º dia: injeção de 1 c. c.; ausencia de reacção local; hypothermia, depois da 2.ª hora.
- 5.º dia: O animal apresentou-se um pouco triste.
- 6.º dia: O peso diminuiu a 1,850 gr.; por isso deteve-se a immunisação, durante oito dias, no fim dos

quaes, o animal havia ganho o peso primitivo.

- 15.^o dia: injeccão de 2 c. c.
- 17.^o dia: injeccão de 3 c. c.
- 19.^o dia: injeccão de 5 c. c.
- 21.^o dia: injeccão de 10 c. c.
- 23.^o dia: injeccão de 10 c. c.
- 26.^o dia: injeccão de 15 c. c.
- 30.^o dia: injeccão de 25 c. c.
- 32.^o dia: injeccão de 50 c. c.
- 40.^o dia: injeccão de 100 c. c.

A hypothermia manifestava-se sempre entre a 2.^a e 3.^a hora, depois da injeccão, e desaparecia no fim da 10.^a hora e seguintes até á 20.^a; o maximo.

COELHO 138

Macho; peso 1,100 gr.; temperatura media 39°

- 1.^o dia: Injeccão na veia lateral da orelha, 0,5 de c. c. toxina. Ausencia de reacção local, manifestando, porém, grande irregularidade na temperatura.
- 2.^o dia: A temperatura tornou-se normal.
- 3.^o dia: Injeccão de 1 c. c. Manifestou-se a mesma irregularidade na temperatura, mas menos accentuada que no 1.^o dia.

- 4.^o e 5.^o dias: Temperatura normal.
 6.^o dia: Injecção de 2 c. c.
 8.^o dia: Injecção de 3 c. c.
 10.^o dia: Injecção de 5 c. c.
 14.^o dia: Injecção de 10 c. c.
 16.^o dia: Injecção de 10 c. c.
 20.^o dia: Injecção de 20 c. c.
 25.^o dia: Injecção de 25 c. c.
 30.^o dia: Injecção de 50 c. c.
 40.^o dia: Injecção de 100 c. c.

Este coelho nunca perdeu de peso e sofreu a immunisação perfeitamente.

A toxina foi obtida, filtrando culturas de 8 a 15 dias de estufa a 37°; nunca se manifestou reacção local, nem os meus trabalhos tiveram qualquer contratempo septico, o que não me admira, por isso que tinha o maximo escrupulo, na preparação, e limpeza dos aprestos de que me havia de servir.

Para saber se o sôro dos animaes immunisados era efficaz, procedi a varias experiencias, todas moldadas na que passo a expor:

Tomei quatro coelhos de pezos approximadamente eguaes, e a dois d'elles que considereei como testemunhas, injectei na cavidade peritoneal 5 c. c. de cultura de *Coli* virulento; e aos dois restantes injectei egual-

mente 5 c. c. de caldo a que havia juntado 10 c. c. de sôro dos animaes *immunisados*; os testemunhas morreram, e os outros dois ainda são vivos.

Animado por estes resultados, projectei logo applicar o sôro dos animaes immunisados a creanças com diarrheia, cujo agente fosse o *B. Coli Commune*. O resultado d'essas inoculações, demonstro-o nas observações, e embora elle seja muito lisonjeiro, não lhe darei um caracter definitivo, não só pela escacez das observações, devida em parte á necessidade de prestar a ultima prova academica, mas tambem, ao pouco sôro que pude obter. Demais, n'este meu trabalho ha lacunas enormes, por exemplo, o ensaio do valor antitoxico do sôro obtido, estudo da antitoxina, se é que ella existe, duração da immunisação, etc., provenientes principalmente da falta de tempo para levar a cabo o estudo completo do assumpto, lacunas que eu, todavia, espero preencher em trabalho ulterior.

Resta-me pois apresentar um pequeno numero de observações, que a quantidade insufficiente de sôro e a escacez do tempo me permittiram colher.

Constituem estas observações a ultima parte do meu trabalho, a *Parte Clinica*.



PARTE CLINICA

ÓBSERVAÇÃO I

Tabella N.º 3418



ENJAMIM C., de 5 mezes de idade, apresentou-se com uma enterite aguda que se manifestou por uma diarrheia intensa, de côr verde, muito fluida, com pessimo cheiro e que começou 15 dias depois do nascimento, persistindo até hoje, Ventre volumoso, flacido, doloroso á pressão. A mãe soffre d'uma irritação intestinal desde creança, que se acompanha geralmente de tenesmo, substituido algumas vezes por diarrheia profuza, que lhe dura 8 dias, para mais tarde voltar. O pae é saudavel.

A creança tomou, assim como todas as outras que fazem objecto das observações,

um purgante de citrato de magnesia, com o fim de limpar o intestino, e no dia seguinte tomando-lhe a temperatura rectal que foi de $37^{\circ},4$, inoculei-lhe 10 c. c. de sôro; tres horas depois houve um ligeiro abaixamento de temperatura ($36^{\circ},7$). No dia seguinte, a creança apresentou-se alegre, com temperatura a $36^{\circ},5$, a diarrheia muito diminuida e começou logo a mamar, sem dôres, nem calôr no ventre. No dia seguinte, appareceu completamente boa, mamando bem e sem os symptomas geraes da vespera, o que se manteve nos dias consecutivos.

OBSERVAÇÃO II

Tabella N.º 3410

Pedro R., de 13 mezes de idade, com enterite infecciosa acompanhada de diarrehia verde que lhe durava ha 5 mezes; deixou completamente de mamar, alimentando-se difficilmente com aguas de caldo, De resto, apresenta tambem symptomas identicos aos já mencionados no caso anterior. Os paes são saudaveis e tem tres irmãos igualmente saudaveis.

A temperatura rectal, antes da inoculação, era de $37^{\circ},8$. No dia seguinte ao da inoculação de 10 c. c. de sôro, a temperatura baixou

a 36°,2. N'este dia, a creança apresentou-se bem disposta, sem reacção febril, bastante pronunciada na vespera e a despeito da mãe lhe ter dado, n'este dia, carne cosida, não manifestou nenhuma alteração, desapparecendo completamente a diarrheia, até que no dia seguinte veio pedir alta.

OBSERVAÇÃO III

Tabella N.º 3430

Carlos F. de 8 mezes de idade, com enterite que se manifestou por diarrheia verde persistente, durante um mez, apresentando comtudo intermittencias desde o nascimento. Deixou de mamar por completo, tendo a mãe recorrido ao uso do chá. Começou depois a apresentar um definhamento notavel, o ventre com grande hyperthermia, e assaz doloroso á pressão, e febre.

A mãe soffre de prisão de ventre habitual, sendo preciso recorrer, amiudadas vezes, a laxantes, desde que teve esta creança, e soffre algum tanto do apparelho respiratorio.

A temperatura rectal era de 37°,8. Inoculei-lhe, no dia seguinte, 10 c. c. de sôro e ao outro dia manifestou-se abaixamento de temperatura, (36°.5). N'este dia, todos os symptomas alarmantes da vespera desapparece-

ram, desaparecendo tambem a diarrheia, e começando a creança a mamar com toda a regularidade, até que no dia seguinte estava curada.

OBSERVAÇÃO IV

Tabella N.º 3434

Alzira R. de 11 mezes de idade, apresentou-se com uma enterite revelada por diarrheia verde, que lhe dura ha 8 dias, com cheiro fétido, muito fluida e bastante pertinaz. Ha mais d'um anno que esta diarrheia lhe veio, mas com intermittencias. Perdeu completamente a vontade de mamar, não ingerindo mesmo alimento algum. Apresenta, de resto, symptomas geraes, analogos aos já mencionados nas outras observações anteriores, crescendo, além d'isso, o ella ter tido uma bronchite anterior que a definhou bastante. O pae é saudavel, tendo tido apenas febres intermittentes. A mãe soffreu em tempo de diarrheias, seguidas de prisão de ventre duradoira.

Inoculei-lhe igualmente 10 c. c. de sôro, e tomei-lhe préviamente a temperatura rectal, que era de 38º,2. No dia seguinte ao da inoculação, veio á consulta, declarando a mãe que a pequena tinha dormido muito

bem; a diarrheia tinha quasi desaparecido, expulsando a creança umas fezes bastantes moldadas e a temperatura accusava 36°9. De resto, começou a mamar regularmente, ficando perfeitamente boa.

OBSERVAÇÃO V

Tabella N.º 3610

Francisco A. de 6 mezes de idade, appareceu com uma enterite acompanhada de diarrheia amarella, bastante fétida que lhe durava ha 5 dias; dôres intensas no ventre, com grande hyperthermia; grande anorexia e febre.

A temperatura rectal no 1.º exame foi de 38°,4. Depois inoculei-lhe 10 c. c. de sôro e no dia seguinte a descia, a 37°,3. N'este mesmo dia, todos os symptomas tinham melhorado quasi completamente, até que no dia seguinte se apresentou completamente boa.

OBSERVAÇÃO VI

Tabella N.º 3600

Maria F., de 9 mezes de idade. Desde os primeiros dias do nascimento, principiou a co-

mer sopas de leite de vacca, pela mãe não ter leite em quantidade sufficiente.

O seu estado conservou-se regular até ao 7.º mez em que principiou a ter diarrheia fétida — 4 a 6 vezes por dia e sempre de côr amarella — acompanhada de dôres no ventre e febre.

A temperatura rectal antes da inoculação foi de $37^{\circ},2$ e depois da inoculação de 10 c. c. de sôro, marcava no dia seguinte $36^{\circ},9$, em que se apresentou sem os symptomas geraes, sem diarrheia e começou a mamar com toda a regularidade, dando-se-lhe alta.

Foi este o numero com que limitei as minhas observações, attendendo, como acima disse, á exiguidade do tempo e dá pequena quantidade de sôro que n'este momento, podia dispôr. Estas observações foram todas tomadas nas Clinicas dos meus amigos Drs. Julio Cardoso e Arantes Pereira, no Dispensario da Rainha D. Amelia.

Expuz simplesmente o que observei e o que mais digno de menção se passou nos meus trabalhos praticos; a sua theorisação é para trabalho de mais folego, que não o que tenho presentemente. O que agora apresento são, por assim dizer, as notas colhidas á pressa no laboratorio e na clinica.

CONCLUSÕES

I.^a

O *B. Coli Commune* é o agente primario ou secundario especifico das diarrheias infantis.

2.^a

Este microbio produz, nos liquidos de cultura, uma substancia soluvel toxica.

3.^a

Por meio da injecção d'esta toxina produz-se nos animaes a immunisação.

4.^a

Do sangue dos animaes immunisados, é possivel extrahir um sôro activo.



PARTE TECHNICA



ONSAGRAREI esta parte á descripção dos differentes meios culturaes, por mim preparados em que o *B. Coli* encontra melhores condições de vitalidade, apresentando o *modus-fasciendi* que o Dr. Roux, o illustre discipulo de Pasteur, adopta no laboratorio d'este grande mestre. Começarei pelo principal meio de cultura o

CALDO

Para o preparar, cortam-se 500 grammas de carne em pequenos fragmentos, que se põem em maceração, durante algumas horas, n'um litro de agoa. Passado tempo, expremem-se n'um panno, deitando o liquido resultante n'um vaso; aquece-se lentamente até á ebullição, agitando constantemente o liquido para que a albumina não se colle ao fundo do vaso. No fim de 10 mi-

nutos de ebullicão, filtra-se o liquido por papel molhado para deter toda a gordura que n'elle possa existir; junta-se-lhe depois, 10 grammas de peptona e 5 grammas de sal marinho. Depois de bem dissolvida a peptona, alcalinisa-se levemente o liquido pelo carbonato de soda a 10 %, o que se reconhece pelo papel vermelho de tornesol, leva-se novamente ao autoclave á temperatura de 120° durante 15 minutos, precipitando-se as materias albuminoides e os phosphatos que a esta temperatura precipitam n'um meio alcalino. Filtra-se o liquido ainda quente e por ultimo, colloca-se no auctolave para esterilisar a 115° durante o mesmo tempo, deitando-se depois em tubos previamente esterilizados. Vê-se, por conseguinte, que além de ser um meio cultural muito nutritivo, é tambem absolutamente aseptico, o que é indispensavel.

CALDO LACTOSADO COM CARBONATO DE CAL

Deita-se no caldo, precedentemente descripto, 2 % de carbonato de cal e outro tanto de lactose, seguindo-se depois o processo apresentado para o caldo peptonisado.

BATATA

Na preparação d'este meio, segui o chamado *Methodo dos tubos* do Dr. Roux. Para isso, cortam-se duas superficies planas parallelas, tirando as duas calotes oppostas ao grande diametro. Depois de ter collocado a batata sobre qualquer das duas superficies cortadas, tiram-se-lhe dois semi-cylindros, por meio d'um cortador especial;

lavam-se em agua commum, seccam-se depois em papel e collocam-se, por ultimo, em tubos de vidro especiaes, mais largos que os tubos ordinarios, impellindo-os até a um estrangulamento que o tubo apresenta no seu quarto inferior; os cylindros de batata são assim suspensos sem chegarem á agua, que lentamente vae escorrendo da batata, no momento da esterilisação. Os tubos tapam-se depois com algodão, e esterilisam-se no auctolave á temperatura de 120° durante um quarto d'hora. Depois de sahirem do autoclave, conservam-se os tubos deitados, de modo que os semi-cylindros venham apoiar-se pela sua face plana, sobre a parede do tubo, isto com o fim de a batata se não deformar, o que tornava a sementeira ulterior difficil. Depois d'arrefecidos, os tubos são immediatamente tapados com um carapuço de borracha para evitar que os cylindros de batata se sequem. Este encarapuçamento deve ser feito com cuidado; o algodão e tubo devem ser fortemente passados á lampada e cobertos com os carapuços de cautchu, previamente desinfectados no sublimado fervente. Se não tomarmos todas estas precauções, poder-se-hiam desenvolver *mucedinias* no carapuço de algodão e os seus mycelios atravessariam o algodão, seguindo as paredes humidas do tubo, viriam esporular á superficie inferior e contaminariam as culturas. Passemos em seguida á

GELATINA

Feito o caldo pelo processo já indicado, tomam-se 300 gr. e deitam-se-lhe 30 gr. de gelatina, cortada em pequenos fragmentos.

Aquece-se lentamente a banho-maria, sem

exceder a temperatura de 60°, para dissolver bem a gelatina. Quando estiver bem dissolvida, alcalinisa-se com uma solução de bicarbonato de soda a 10 %, como foi para o caldo. Esta alcalinisação favorece a precipitação dos phosphatos terrosos que turvariam o meio, se a reacção fosse acida; além d'isso, é necessario para a cultura ulterior da maior parte dos microbios, que não vivem senão em meios alcalinos. Não se deve exagerar a alcalinisação porque aquecida n'um meio demasiadamente alcalino, a gelatina não faria *prêza* e seria transformada em glycocolla e outros productos. Leva-se, em seguida, a gelatina para o autoclave, á temperatura de 100°, durante uma hora, contada a partir do momento em que o vapor sahe soprando. Depois d'este aquecimento, o liquido, deve, em geral, filtrar absolutamente limpido. Se assim não fôr, deixa-se arrefecer a gelatina a 55° e juntam-se depois 50 grammas d'agua na qual se diluiu, batendo, uma clara d'ovo; mistura-se, repartindo por agitação em toda a massa e por ultimo, aquece-se de novo, no autoclave, á temperatura de 100°, durante 1 hora. A esta temperatura, a albumina do ovo coagula, arrastando nas suas malhas, todas as impurezas contidas no meio cultural. Prepara-se o apparelho de filtração a quente, guarnecendo o funil d'um filtro de papel. Passada uma hora, retira-se a gelatina do autoclave, lança-se no filtro assim preparado e recebe-se em ballões, repartindo-se depois em tubos de cultura, previamente esterelizados á temperatura de 180°. Para fazer a repartição, servi-me como meio mais commodo, d'um funil, terminado inferiormente por um tubo de cautchu, ligado, por sua vez, a uma pipeta de vidro; uma pinça permite interromper á vontade o escoamento da gelatina.

GELOSE

Depois de feito o caldo, pesam-se 300 grammas e verifica-se a sua reacção porque a gelose se não fôr aquecida n'um meio alcalino, seria transformada em assucar e galactose, dando com o licor de Fehling a reacção característica e a sua solução não seria já solidificavel pelo arrefecimento. Depois da alcalinisação, pesam-se nove grammas da gelose que se cortam em pequenos fragmentos e se junctam ao caldo. Aquece-se depois lentamente a banho-maria, agitando sempre para evitar que a gelose se deposite e se carbonise nas paredes do vaso.

Depois de completamente dissolvida, cõa-se e deixa-se arrefecer o liquido resultante até á temperatura de 55°, juntando-se, depois, uma clara d'ovo, prèviamente dissolvida em 50 centímetros cubicos d'agua. O vaso contendo a solução, leva-se ao autoclave, á temperatura de 120° a 125°, durante tres quartos d'hora, a partir do momento em que o manometro indique esta temperatura; a 120° todas as albuminas se coagulam e arrastam nas malhas do coagulo todas as substancias em suspensão e a gelose sahirá limpida. Durante o aquecimento no autoclave, prepara-se o aparelho de filtração a quente, empregando o papel Chardin como o mais conveniente. O liquido que resulta deita-se em matrizes; e, se o quizermos conservar em ballões, tapam-se estes com algodão e cobrem-se com um involucro de papel, aquecendo-se, em seguida, no autoclave á temperatura de 115°, durante um quarto d'hora. Que-rendo repartir a gelose para tubos de cultura, mantêm-se na agua fervente o ballão que recebe a gelose filtrada, e quando a filtração está terminada, deita-se o liquido n'um funil, disposto do

mesmo modo que para a repartição da gelatina e enche-se o numero de tubos necessarios. Estes são tapados depois com algodão e esterilizados durante um quarto de hora. Deixa-se arrefecer a gelose nos tubos, conservando-se uns inclinados, outros direitos, conforme se quer distribuir a substancia cultivada em *estria* ou *por picada*.

Ora, como a gelose não adhere ao vidro, mesmo no estado de solidificação, os tubos inclinados deformar-se-hiam immediatamente, se endireitássemos os tubos logo depois da solidificação. Para evitar este inconveniente, adiciona-se á gelose uma pequena quantidade de gomma arabica que favorece perfeitamente a adherencia. Passo em seguida á descripção do *modus-faciendi* da

GELOSE LACTOSADA COM TORNESOL

Pezam-se 50 grammas de gelose, junta-se 1 gramma de lactose e tintura de tornesol em quantidade sufficiente a dar á mistura uma côr verde amethysta. Colloca-se, em seguida, no autoclave para esterilisar. E' o processo seguido por Wurtz.

GELOSE LACTOSADA COM RUBINA ACIDA

Peza-se o mesmo numero de gr. de gelose que as que empreguei na fabricação da gelose anterior e 2 grammas de lactose; aquece-se o tubo á temperatura de 80°; em seguida, deitam-se alguns grãos de *rubina acida* e satura-se o liquido por meio de carbonato de soda. Sob a influencia da alcalinisação, ha a precipitação dos saes

terrosos e por isso filtra-se no papel-filtro ordinario. Recolhe-se assim uma gelose absolutamente descorada e transparente que se esterilisa á temperatura de 105°, durante 5 minutos.

Para obter este descoramento, basta deitar 2 gottas d'uma solução aquosa saturada de carbonato de soda á temperatura de 70° a 80°. A esta temperatura, a gelose descóra quasi instantaneamente; a 50° é preciso, todavia, um certo tempo. Outro meio cultural importante é o

LEITE

Deita-se n'um ballão préviamente esterilizado uma certa quantidade de leite, com reacção alcalina; colloca-se depois no autoclave e esterilisa-se a 115°, durante $\frac{1}{4}$ d'hora. Deixa-se, em seguida, repousar, e pelo arrefecimento as partes gordas sobem á superficie. Recolhe-se, depois, o leite n'uma pipeta Chamberland esterilizada, tendo o cuidado de não apanhar a gordura. Para isso, basta mergulhar a ponta da pipeta até ao fundo do liquido e não aspirar desde o momento em que por baixo da camada gordurosa e superficial haja pouco liquido. Distribue-se, em seguida, o leite em qualquer recipiente, préviamente esterilizado na estufa sêcca a 180° e por ultimo, colloca-se na estufa á temperatura de 37°. Passadas 24 a 48 horas examinam-se, não se aproveitando aquelles cujo leite se coagulou ou se cobriu de bolôres. Só então é que se podem utilizar os tubos para as culturas.

MEIO CÔRANTE DE NOEGGERATH

Tomei 2 c. c. d'uma solução saturada d'*azul de methylena* — 4 c. c. d'uma solução saturada de *violete de genciana* — 1 c. c. d'uma solução de *verde methyla* — 3 c. c. d'uma solução da *chrysoidina* e 4 c. c. d'uma solução também saturada de *fuchsina* e finalmente 200 c. c. d'agua distilada. Deixa-se repousar a mistura durante 15 dias, antes de se utilizar, tendo o cuidado, então, de o reconduzir à côr primitiva, addicionando-lhe um pouco d'uma ou outra côr. — D'este liquido emprega-se ordinariamente 7 a 8 gottas que se addicionam ao meio sobre que se quer semear o *B.Coli*.

MEIO DE MORPANN

Dissolve-se 1 gramma de *verde-malachite* em 100 grammas d'agua; junta-se, depois, bi-sulfato de soda em solução concentrada, até descoloração completa. A' gelose juntam-se 2 % d'este liquido que lhe dá uma côr amarello-clara.

MEIO DE DUFLOCQ

Junta-se á gelose uma solução saturada de *Indolína* até se formar um meio negro e opaco.

MEIO CÔRADO DE ROBIN

CALDO

Tomam-se 5 grammas de peptona Collas — 5 centigrammas de phosphato de soda — 5 deci-

grammas de chloreto de sodio e finalmente 250 c. c. d'agua distillada. Leva-se á ebullição, e junta-se 1 c. c. d'uma solução a 1 por cento d'azul de methylena e gotta a gotta d'uma solução de potassa deci-normal até descórção completa. Deixa-se d'aquecer, juntam-se 20 grammas de lactose, filtra-se e distribue-se em tubos, tendo cada um 10 c. c.

GELOSE

Pezam-se 8 grammas de gelose, 5 grammas de peptona Collas, 1 decigramma de phosphato de soda, 1 c. c. d'azul de methylena a 1 por cento, 250 c. c. d'agua e 35 c. c. d'um soluto deci-normal de potassa. Aquece-se a mistura á temperatura de 115° para dissolver a gelose. O meio deve então, mostrar-se ligeiramente córado de cinzento; se assim não fôr, junta-se-lhe potassa, mantendo o liquido em ebullição até obter este resultado; juntam-se depois 10 grammas de lactose e distribue-se em tubos que se esterilizam a 105° e se deixam arrefecer depois de inclinados.

MEIO D'ELSNER

Tomam-se 500 grammas de batata ralada e deixa-se macerar durante 4 horas n'um litro d'agua, depois das quaes se cõa o macerato por uma musselina—tecido de malhas largas—espremendo. O liquido é abandonado em lugar fresco, até ao dia seguinte em que se filtra por papel de filtro ordinario; o liquido filtrado é acido. Junta-se, depois, 150 grammas de gelatina, que se funde em banho-maria, Dissolvida a

gelatina, junta-se soda, ordinariamente 10 c. c., até que a reacção se conserve ainda levemente acida, e esterilisa-se como a gelatina ordinaria.

Se se quer usar o meio de Eslner, redissolve-se, por fusão, a banho-maria, a gelatina preparada, e em cada tubo deita-se 9 c. c. da gelatina e 1 c. c. da solução de iodeto de potassio a 10 %, previamente esterilizado. As pipetas com que se fazem estas mensurações, sem duvida, devem ser perfeitamente esterilizadas.



BIBLIOGRAPHIA

- Annales de micrographie*—varios annos.
Annales de l'Institut Pasteur. Idem.
 Achard et Renault—*Pyelo-nephrite coli-bacillaire*
 — Bol. Soc. de Biologie. 1891.
 Boix—*Action hypothermisante des toxines du Coli*
 — idem. 1893.
 Camara Pestana — *A etiologia da febre typhoide*
 — Rev. Med. e Cir. 1894, 1.^o vol.
 Cesare Demel et Orlandi — *Vaccination du Coli*
et du Typhique—Congresso de Roma. 1894.
 Charrin et Roger — *Angiocholite expérimentale à*
Coli—Bol. Soc. de Biologie. 1891.
 Chantemesse, Widal et Legry — *Fièvre puerpé-*
rale à Coli—Sem. med. 1891.
 Duflocq — *Bronchite capillaire à Coli*—Arch.
 gen. de med. 1895.
 — *Leçons sur les bactéries pathogéniques,*
faites à l'Hotel-Dieu Annexe—Paris. 1897.
 E. Macé — *Traité pratique de Bactériologie*—Pa-
 ris. 1897.
 Elsner — *Cultura do typhico e do coli*—Sem. •
 Med. Clin. Allemã. 1895
 Gilbert et Lion — *Les paralysies produites par el*
Coli—Bol. Soc. Biologia. 1892.
 — *Metrite e salpingite à Coli*—Idem.
 1893.

- Gilbert et Girode — *Angiocholite suppurée à Coli* — Idem. 1890.
- Cirarde — *Ictère infectieux à Coli* — Arch. Gén. de Med. 1891.
- Lesage et Macaigne — *La virulence du Coli* — Arch. Gén. de Med. exp. 1892.
- Macaigne — *Thèse.*
- Malvoz — *Le Coli Commune et la péritonite intestinale* — Arch. Gén. de Med. exp. 1891.
- Netter — *Diarrhée cholériforme et Coli Commune* — Sem. Med. 1892.
- Presse Médicale — 1895-96.
- R. Wurtz — *Précis de Bacteriologie Clinique* — Paris. 1897.
- *Le Coli Commune* — Rev. Gén. Arch. Méd. exp. 1893.
- Sevestre et Gastou — *Meningite à Coli* — Sem. Med. 1891.
- Tavel — *Goitre et Coli* — Congrès des Med. Suisses, 1889.
- Thoinot et Masselin — *Précis de microbie* — Paris. 1896.
- Veillon et Jayle — *Abcès de foie à Coli* — Bol. Soc. Biologie. 1861.
- Widal et Albarran — *Un cas de pleurisie à Coli* — Acad. Med. Paris. 1888.





PROPOSIÇÕES

Anatomia — O coração não é mais do que dois troncos vasculares, normalmente dilatados.

Physiologia — A penetração do ar no vertice do pulmão é mais facil do que na base.

Anatomia pathologica — Entre o *B. Coli* e o *B. Typhico* existem diferenças profundas.

Therapeutica — A nova tuberculina de Kock foi, mais uma vez, uma desillusão para o tratamento da tuberculose pulmonar.

Medicina operatoria — A radioscopia é imprescindivel na redução das fracturas.

Pathologia interna — A morte na diphteria é devida, o mais das vezes, a uma intoxicação chimica.

Pathologia geral — A doença é o resultado da perturbação da nutrição cellular.

Pathologia externa — A maior parte dos symptomas uremicos são devidos á absorpção das toxinas do *B. Coli*.

Partos e doenças das creanças — O diagnostico differencial entre a gastro-enterite nas creanças e a febre typhoide infantil, só pôde ser feito pela bacteriologia.

Hygiene — A agoa da lavagem das casas não deve ser lançada á rua.

VISTO

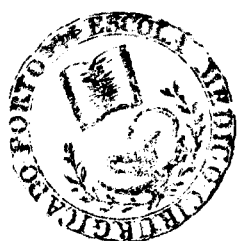
Ricardo Jorge.

Presidente.

IMPRIMA-SE

D. Lebre.

Director interino.



ERRATAS

Pag.	Linha	Onde se lê	Leia-se
8	9	a fluxo	o fluxo
9	12	colorações	corações
15	4	isolades	isoladas
17	7	Coloração	Coração
21	16	tornada	tornado
23	27	aerobio que,	aerobio, quer
22	29	fruto	frutos
31	25	mystagmos de	mystagmos e
34	22 e 23	tosnadas	tornadas
34	23 e 24	intima-	intimas
36	8	segundo grau	segundo o grau
37	9	apparelho urinario (meningites)	apparelho urinario
40	15	sobrs	sobre
43	17 e 18	virulentos	toxicos
66	15	Morpann	Marpmann

entre as linhas 12 e 13 da pag. 37 deve intercalar-se o seguinte:

8.º Meningeas (meningites).