

1200
v.º 3.
190
Hypothese da

Sôro-predisposição

DISSERTAÇÃO INAUGURAL

APRESENTADA Á

ESCOLA MEDICO-CIRURGICA DO PORTO

POR

Alberfo Nogueira Gonçalves

(EX-EXTERNO DO HOSPITAL DE SANTO ANTONIO)

PORTO

TYP. A VAPOR DA EMPRESA LITTERARIA E TYPOGRAPHICA

128, Rua de D. Pedro, 184

1905

122/3 EMC

ESCOLA MEDICO-CIRURGICA DO PORTO

DIRECTOR

Antonio Joaquim de Moraes Caldas

LENTE SECRETARIO

Clemente Joaquim dos Santos Pinto

LENTE SECRETARIO INTERINO

José Alfredo Mendes de Magalhães

CORPO CATHEDRATICO

Lentes Cathedratricos

1. ^a CADEIRA—Anatomia descriptiva geral	Luiz de Freitas Viegas.
2. ^a CADEIRA—Physiologia	Antonio Placido da Costa.
3. ^a CADEIRA—Historia natural dos medicamentos e materia medica	Ilydio Ayres Pereira do Valle.
4. ^a CADEIRA—Pathologia externa e therapeutica externa	Antonio Joaquim de Moraes Caldas Clemente Joaquim dos Santos Pinto.
5. ^a CADEIRA—Medicina operatoria	
6. ^a CADEIRA—Partos, doenças das mulheres de parto e dos recém- nascidos	Candido Augusto Corrêa de Pinho.
7. ^a CADEIRA—Pathologia interna e therapeutica interna	José Dias d'Almeida Junior.
8. ^a CADEIRA—Clinica medica	Antonio d'Azevedo Maia.
9. ^a CADEIRA—Clinica cirurgica	Roberto B. do Rosario Frias.
10. ^a CADEIRA—Anatomia pathologica	Augusto H. d'Almeida Brandão.
11. ^a CADEIRA—Medicina legal	Maximiano A. d'Oliveira Lemos.
12. ^a CADEIRA—Pathologia geral, se- miologia e historia medica	Alberto Pereira Pinto d'Aguiar.
13. ^a CADEIRA—Hygiene	João Lopes da S. Martins Junior.
14. ^a CADEIRA—Histologia e physiolo- gia geral	José Alfredo Mendes de Magalhães
15. ^a CADEIRA—Anatomia topographica	Carlos Alberto de Lima.

Lentes jubilados

Secção medica.	José d'Andrade Gramaxo.
Secção cirurgica	Pedro Augusto Dias.
	Dr. Agostinho Antonio do Souto.

Lentes substitutos

Secção medica.	Vaga.
	Vaga.
Secção cirurgica	Antonio Joaquim de Souza Junior.
	Vaga.

Lente demonstrador

Secção cirurgica	Vaga.
----------------------------	-------

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' memoria

de

Meu Pae

A minha mãe

A meu irmão Adriano

N' meus irmãos

Silvina

Alcinda

Victorino

N' minha familia

A MEU PADRINHO

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

Julio Ferreira dos Santos Silva

E A SUA EX.^{ma} FAMILIA

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

Manoel de Miranda Castro

E SUA EX.^{ma} FAMILIA

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

DR. TITO FONTES

E SUA EX.^{ma} ESPOSA

No meu amigo e contemporaneo

Adriano Fontes

AOS EX.^{mos} SNRS.

Dr. João Baptista Pereira

Dr. Augusto Bianchi

Dr. Mario de Castro

Dr. João A. Guimarães

Manoel Pinto da Fonseca

Joaquim Pinto da Fonseca

Dr. Constantino Coelho do Valle Cabral

Commendador Constantino Nunes de Sá

João Gonçalves dos Santos

Antonio Rodrigues Alves

Nos meus condiscipulos

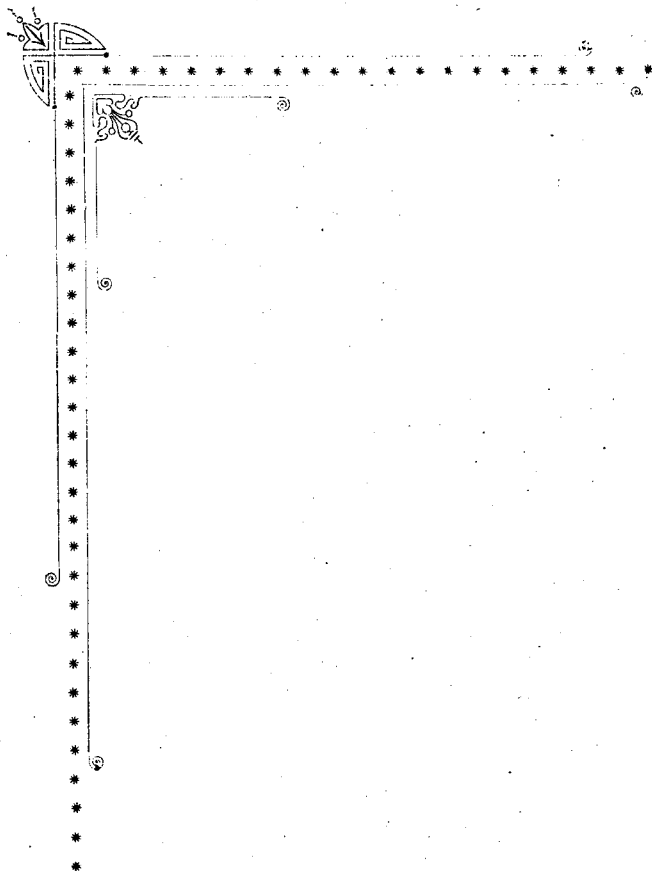
Nos meus contemporaneos

Nos meus amigos

Ao meu illustre presidente de these

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

Dr. Alberto Pereira Pinto d'Aguiar



Prefacio

A evolução que nestes ultimos annos tem tido o problema da immundade, a completa abandono em que tem cahido o estudo da inversa — a predisposição — fizeram com que escolhesse para assumpto da minha dissertação inaugural um thema inherente ao segundo problema.

Tendo-me suggerido a hypothese de que aquelles dois phenomenos não são senão manifestações inversas d'uma causa commum, e sendo a immundade transmissivel por sóras, veio-me á ideia verificar o problema inverso, se a predis-

posição infecciosa é igualmente transmissivel por
sôros, d'aqui o meu thema "Soro-predisposição,,.

Não nos moveu um intuito meramente especulativo mas sim o grande alcance pratico que o problema teria.

O assumpto que reputo extraordinariamente interessante quer sob o ponto de vista theorico quer sob o ponto de vista pratico, ainda não foi, creio eu, iniciada por nenhum experimentador, e era no entanto, bem digno de ser estudada pois que hoje quasi todos os processos morbidos se vão

reduzindo pouco a pouco a processos toxi-infecciosos, sendo justo portanto já que tanta atenção tem merecido a imunidade, que se consagrasse um pouco de estudo ao problema inverso — a predisposição.



Lamento que não pudesse documentar por completo no campo experimental a minha hypo-

these e que não tivesse demonstrado o mais completamente possível o problema, como desejava.

Mas o pouco tempo de que dispuz para confeccionar a minha dissertação inaugural, ainda cerceada consideravelmente por difficuldades alheias á minha vontade e inherentes a installações laboratorias, fizeram com que somente conseguisse alguns argumentos experimentaes sobre que pudesse assentar a hypothese da sóro-predisposição.

As interpretações d'algumas das minhas ex-

periencias, e as conclusões a que cheguei não são destituídas de erros e de rigor experimental pois que não só os animaes de que retirava os sôros, mas tambem os animaes preparados não eram por vezes conservados em installações perfeitamente adequadas áquelle fim; e não havendo nos nossos laboratorios pessoal em numero sufficiente para exercer uma vigilancia necessaria sobre os animaes em experiencia, é possível que muitos pormenores fallassem nessas experiencias, os quaes talvez elucidassem alguns pontos do problema.

Como aconselha o maior experimentador no campo da bacterio-pathologia *Metchnikoff* é necessario sempre que se trabalhe com sôras, que os animaes d'onde aquelles provêm estejam nas melhores condicções—o que infelizmente não aconteceu nas minhas experiencias, por falta de installações proprias, difficuldades que eu por mais que tentasse não pude de forma alguma remover.



Não tive a nortear o meu assumpto, a orientar as minhas experiencias, trabalhos ou documentos experimentaes já realizados neste sentido, pois julgo que não ha nada feito sobre predisposição.

*Desde **Pasteur** que em collaboração com seus discipulos ainda realisou algumas experiencias para crear a predisposição por condições physicas, este problema cahiu por completo na esquecimento para dar logar ao inverso em que se tem escripto em tal labyrintho de tratados, mona-*

*

graphias, artigos etc., que só um espirito possuindo um admiravel criterio scientifico deixaria de perder-se.

As experiencias realizadas sobre este ultimo problema, amontoam-se sem ordem, sem nexo, tornando este problema, que mais do que nenhum precisava de ordem e methodo, não uma doutrina assente sobre factos positivos e methodicos mas um montão d'experiencias sem que d'ahi se possa tirar uma conclusão — uma lei.

Não é preciso para assentar uma theoria,

para formular uma lei, d'um montão d'experiencias; bastam algumas, methodicas e positivas; embora para a demonstrar completamente em todos os seus detalhes seja necessario multiplicar e variar as experiencias fundamentaes.

É por isso que, ao affirmar que não havia experiencias realizadas no sentido da transmissão da predisposição, não se conclua d'ahi que tinha conhecimento de quanta experiencia e de quanta se tem escripto sobre immunidad e implicitamente sobre predisposição.

Mas como nessa bibliographia que consultei não encontrasse citação alguma de experiencias orientadas naquelle sentido, julgo poder affirmar que iniciei o problema, embora não tenha a pretensão de o julgar completamente demonstrado.

*

*

*

Para terminar, peço licença ao meu illustre presidente de these o Ill.^{mo} e Ex.^{mo} Sr. Dr. Alberto d'Aguiar para lhe testemunhar o meu pro-

fundo agradecimento não só pelas constantes provas de consideração com que me honrou bem como pelo valioso auxílio e proveitosos ensinamentos que me dispensou.

No pessoal do Laboratorio e em especial ao Ill.^{mo} Sr. Ignacio d'Oliveira, zeloso preparador do Laboratorio de bacteriologia do Hospital do Bomfim, aqui registro os meus agradecimentos.

CAPITULO I

Predisposição — Immunidade relações e causas.



REDISPOSIÇÃO e immunidade estão tão intimamente ligadas, que o estudo d'uma traz implicitamente o estudo da outra; se, por commodidade de estudo se separam, theoricamente devem ser estudadas juntamente.

Se bem que, muito antes das celebres descobertas de PASTEUR e DAVAINÉ, a começar nos tempos mais remotos da medicina, se fallava de doenças contagiosas, bem como de predisposição e immunidade — o facto é que o problema só ganhou vulto e se radicou scientificamente desde que PASTEUR demonstrou, d'um modo certo e positivo,

que havia doenças infecto-contagiosas, e que estas eram devidas a *micro organismos*.

Demonstrada que foi a existencia de doenças contagiosas devidas a *micro-organismos*, começaram os bacterio-pathologistas a notar mais, que certos individuos contrahiam com facilidade uma dada doença, enquanto que outros resistiam a ella d'uma maneira evidente.

Dois problemas surgiram dos ensinamentos d'esta observação: porque razão certos individuos contrahem uma determinada doença infecciosa, enquanto que outros resistem a essa mesma doença? E, porque razão a contrahem com intensidades differentes em diversas epochas da vida? Era o problema da immuniidade e da predisposição formulado em toda a sua complexidade.

Mas, antes de definirmos o que sejam estes problemas, vejamos o mechanismo pelo qual se adoece na infecção. Conhecido o mechanismo pelo qual se contrahe uma doença infecciosa, estaria esclarecido o processo pelo qual se resiste.

O problema pathogenico da infecção deu origem a numerosas theorias, mas vejamos se todas ellas não se poderão reduzir a uma unica.

A primeira theoria formulada por TOUSSAINT explicava a infecção por embolias capillares obstruindo os vasos.

TOUSSAINT baseava-se sobre as lesões geradas pela bacteridia carbunculosa.

Esta theoria cahiu deante d'este facto bem simples: é que a maior parte dos micro-organismos não vivem no sangue; em geral localisam-se em um órgão, em um systema, e raramente atacam o sangue.

Mais tarde PASTEUR, baseando-se sobre as exhaustão do oxigenio *in vitro* pelos micro-organismos formulou a hypothese de que a infecção é devida a uma anoxhemia. Mas, se *in vitro* as colonias microbianas produzem uma exhaustão consideravel de oxigenio, no organismo sujeito a infecção localisada a um determinado órgão ou systema, aquelle factor tem um papel muito restricto.

Foi então que PASTEUR, ROUX e CHAMBERLAND applicaram á infecção a doutrina da concorrencia vital de que a primeira theoria não era mais do que uma applicação muito restricta.

O organismo pôde ser considerado como

constituído por duas partes: um aggregado de cellulas (parte solida dos *solidistas*), um meio liquido (parte liquida, *humor*, dos humoristas) chamado *meio interno* á custa do qual se nutrem as cellulas organicas.

Se neste meio interno penetram os micro-organismos, estabelece-se a concorrência vital — *o struggle for life* — entre as cellulas organicas e os micro-organismos, e então a selecção natural fará persistir os mais aptos. Se as cellulas organicas estão adaptadas á lucta, a victoria pertence-lhes, o organismo triumphá da infecção e o equilibrio vital permanece; se por outro lado vencem os micro-organismos, o equilibrio vital rompe-se e a doença estala.

O organismo pode vencer ou porque os seus elementos cellulares estão trainados com vantagem á lucta contra os micro-organismos, ou porque os micro-organismos são d'uma virulencia fraca e não estão adaptados a luctar, ou ainda porque estes dois factores interveem e se combinam.

Mas, para não complicar o problema, supponhamos que os micro-organismos teem uma virulencia constante.

Reconheceu-se que mesmo dada a constancia de virulencia microbiana, os organismos tinham uma variavel faculdade de adaptação á luta.

Esta faculdade de adaptação á luta variava de individuo para individuo e no mesmo individuo em diferentes epochas da vida e em diferentes condições de meio exterior, constituindo assim uma serie de gradações na resistencia em face dos micro-organismos.

Immuniidade e predisposição não são mais do que os extremos d'esta serie de *étapes* na faculdade de resistencia á luta.

Immuniidade e predisposição assim consideradas derivam immediatamente do processo pathogenico da infecção e teem a mesma causa: a *concorrenca vital*, o principio *darwiniano* da selecção natural.

A theoria da concorrenca vital como theoria pathogenica da infecção, e de que as outras não são senão applicações restrictas, e primeiramente formulada por PASTEUR e seus discipulos, foi em 1880 exposta por BOUCHARD aos seus discipulos, no seu curso de pathologia geral da faculdade de

Paris, e adoptada em 1881 por GRAVITZ e hoje accete por quasi todos os bacterio-pathologists.

Mas, definida assim a causa da immunidad e da sua inversa — a predisposição — um outro problema se impunha: estudar o seu mechanismo, isto é, saber como o organismo criava essa faculdade de resistencia á lucta.

CAPITULO II

Immunidade — Seu mechanismo — Processos d'immunisação.



EXPLICAÇÃO do mechanismo da immunidade, cuja causa intima reside *na concorrencia vital*, tem sido objecto de innumeradas theorias, a ponto de ainda hoje estarmos longe de conhecer todos os seus segredos. Comtudo, o detalhe d'essas theorias e as experiencias que se realizaram, tornaram conhecidos os variados processos d'immunisação, que por seu turno trouxeram factos novos á explicação do mechanismo da immunidade.

Vejamos qual a evolução theorica que o mechanismo da immunidade tem seguido e quaes os pro-

cessos d'immunisação que derivaram naturalmente d'esses estudos e theorias.

A primeira theoria formulada a respeito do mechanismo da immuniidade, devia ser natural e logicamente lançada pelo fundador da bacteriopathologia — PASTEUR.

PASTEUR formulou com effeito, em 1880, a primeira theoria conhecida pelo nome de theoria da *subtracção* : os micro-organismos, penetrando no meio interno d'um organismo, esgotam todos os principios necessarios ao seu desenvolvimento, tornando o meio improprio a uma pullulação ulterior. A immuniidade era devida á exaustão dos principios nutritivos do meio interno, tornado assim improprio para a pullulação dos micro-organismos.

PASTEUR, baseado nas suas experiencias sobre o carbunculo, foi levado a formular esta theoria que, de resto, nunca affirmou d'uma maneira cathorica, e mesmo em 1889 numa carta a DUCLAUX, PASTEUR accitava a hypothese contraria : a theoria da *addição* exposta por CHAUCHEAU.

CHAUCHEAU, observando culturas *in vitro*, reconheceu que, após um certo tempo, o desenvolvi-

mento das colonias bacterianas se suspendia e que a sua virulencia diminuia. D'este facto CHAUVEAU deduziu a sua theoria : os micro-organismos lançados no meio interno deixavam de desenvolver-se, devido á accumulacão de productos de secreção bacteriana que impediam a pullulaçãõ dos micro-organismos.

Era como se vê uma doutrina essencialmente opposta á de PASTEUR—emquanto nesta havia *subtracção* dos principios necessarios á vida dos infinitamente pequenos, naquella havia *addicção* de substancias nocivas ao seu desenvolvimento, substancias que eram segregadas pelos proprios bacillos. Mas, quer na doutrina de PASTEUR, quer na de CHAUVEAU, a immuidade resultava d'uma modificação humoral—eram portanto doutrinas essencialmente *humoristicas*.

Estas doutrinas eram insustentaveis, porquanto se a immuidade fosse devida á subtracção ou addicção ao meio interno de substancias vaccinantes, esta immuidade deveria produzir-se e ser mais intensa logo após o ataque infeccioso, o que geralmente não acontece.

Muito ao contrario, a immuidade só se pro-

duz alguns dias depois, isto é, quando, como o provou BOUCHARD, a eliminação d'esses principios se realisasse.

Mas, embora estas doutrinas não explicassem o mechanismo da immunidad, no que todos os bacterio-pathologistas estavam de accordo, era que produzindo no organismo uma infecção por bacillos attenuados, este adquiria uma maior faculdade de resistencia á lucta em frente dos mesmos micro-organismos, nos ataques posteriores.

Estava, pois, estabelecida d'uma maneira experimental a doutrina da *immunidad adquirida*.

Estabelecida e demonstrada, experimentalmente, a doutrina da immunidad adquirida, o problema da immunidad deveria ser encarado sob dois pontos de vista: o lado pratico — *processos de immunisação* e o lado theorico — *mechanismo da immunidad*.

Estes dois pontos de vista são naturalmente inseparaveis, pois que não são mais do que aspectos differentes da mesma questão.

O conhecimento dos processos d'immunisação, desenvolvia-se a *pari passu* dos conhecimentos do mechanismo da immunidad. Auxilia-

vam-se tão mutuamente que, á medida que o mechanismo da immunitade se esclarecia, os processos d'immunisação simplificavam-se e substituíam-se; e por sua vez vinham trazer elementos mais positivos e maior numero de factos para melhor conhecimento e nova orientação do estudo da immunitade; e, se ainda hoje não se chegou á perfeição de crearmos uma immunisação mais ou menos duradoura, contra todas as doenças infecto-contagiosas, é porque o mechanismo da immunitade ainda não está rigorosamente demonstrado.

Mas, embora estes dois pontos de vista sejam naturalmente inseparaveis, por conveniencia de estudo é necessario scindil-os e estudar isoladamente cada um d'elles.

Vejamos primeiro quaes os *processos por que se immunisa um animal*, bem como as experiencias fundamentaes que lhes deram origem, e, seguidamente, as doutrinas que se formularam no sentido de explicar essa immunisação.

A experiencia e a observação diziam-nos que um ataque infeccioso prevenia esse organismo contra um novo ataque da mesma natureza. E'

um facto que embora não tenha uma absoluta generalidade se verifica na maior parte dos casos ; theoreticamente elle deveria dar-se sempre (a *selecção natural* faz-nos crêr que elle se dê sempre); o organismo, depois de vencer um ataque infeccioso, deve ter uma capacidade de resistencia muito mais consideravel em frente dos micro-organismos, e, se na observação corrente dos factos elle não se verifica sempre, é porque não entramos em conta com um precioso factor — o *factor tempo*. —

Embora haja alguns factos em que pareça que um ataque infeccioso predispõe para outros ataques da mesma doença — a verdade é que todo o ataque infeccioso que cura, cria uma immuni-
dade mais ou menos duradoura — e, se aquelles ataques infecciosos criam uma predisposição, ou é porque o organismo não venceu completamente a luta contra os microbios e estes ficam em latencia no meio interno para voltarem novamente, dentro d'um tempo maior ou menor, á luta, ou é porque aquella immuni-
dade é de tão curta duração que permite aos organismos contrahir a mesma infecção dentro d'um praso muito breve.

PASTEUR demonstrou mais, por via experimen-

tal, que era possível immunisar animaes por culturas attenuadas, isto é, ir creando por adaptações successivas uma maior faculdade de resistencia organica.

Muito embora isto não fôsse senão a demonstração experimental d'um facto já corrente em immunisação artificial, pois que muito antes de Pasteur demonstrar experimentalmente a immunisação por meio de culturas attenuadas, era já pratica corrente as variolisações attenuadas com o fim de immunisar individuos a variolas mais graves; o facto é que taes experiencias marcaram uma das *étapes* mais notaveis da evolução dos nossos conhecimentos sobre immunisação.

Mais tarde, sabendo-se que a infecção era a resultante de dois factores — *microbio e toxinas microbianas* e muito principalmente d'estas, pensou-se em crear uma immunidade por meio de productos soluveis de culturas attenuadas.

Foi o que fez CHARRIN nas suas memoraveis experiencias de 1887.

CHARRIN, desembaraçando as culturas do bacillo por meio do calor a 115° centigrados (a que só resistem algumas *thermophilas*) e verificando pela

cultura que o liquido estava esteril, demonstrou que injectando estes principios soluveis a um coelho, era possivel crear-lhe uma immunidadade contra os micro-organismos que deram origem áquelles principios soluveis.

Parecia á primeira vista que estas experiencias vinham confirmar e demonstrar d'uma maneira cathgorica a doutrina de CHAUVEAU sobre o mechanismo da immunidadade. Comtudo CHARRIN oppõe-se terminantemente a esta hypothese, dizendo que quando a pullulação *in vitro* se suspende, não é só pelo facto de accumulção de substancias de secreção bacteriana, mas tambem pela exhaustão dos materiaes nutritivos d'esse meio de cultura.

Portanto, as suas experiencias tanto poderiam ser favoraveis á doutrina de CHAUVEAU como á sua inversa — a de PASTEUR.

Mas note-se que, se, por um lado, no meio organico, os materiaes nutritivos não faltam, devido á renovação constante dada pela alimentação e pela respiração, por outro lado os productos soluveis são eliminados pelos emunctorios, sobretudo pela urina, como o demonstrou BOUCHARD d'um modo cathgorico.

Mas BOUCHARD demonstrou mais que a secreção urinaria d'um animal infeccionado injectada a um outro animal, o immunisava contra uma nova infecção produzida pelo mesmo microbio.

Estava pois, assente e demonstrada experimentalmente a possibilidade de immunisar individuos por productos soluveis. Estas duas series de experiencias provam-no d'uma maneira absoluta e as experiencias de BOUCHARD não são mais do que um corollario das de CHARRIN.

Em 1891 BOUCHARD verificou que injectando a um coelho o sôro dum outro coelho refractario ao bacillo pyocyanico, tornava este animal refractario a uma nova infecção produzida por este bacillo.

Estava portanto aberta a era do sôro-vaccinação.

Mais tarde BEHRING em collaboração com KITASATO confirmaram as experiencias de BOUCHARD, immunisando, por meio de sôros d'animaes tornados refractarios ao tetano, animaes predispostos para a mesma infecção.

E continuando as suas experiencias, estes bacteriologistas demonstraram mais, que o sôro dos

animas immunes gosava, além das suas propriedades immunisantes, de propriedades curativas.

As experiencias de BEHRING e KITASATO, confirmando d'uma maneira absoluta as experiencias de BOUCHARD, levaram aquelles bacteriologistas á descoberta da sôro-therapia applicada com tanto successo á diphteria e confirmada d'um modo ruidoso por Roux de fôrma a entrar hoje na pratica corrente.

A *sôro-therapia* tem sido applicada a muitas outras doenças e a algumas com feliz exito, e só espera um melhor conhecimento do mechanismo da immuniidade para se tornar a therapeutica especifica e racional do futuro.

Resumindo assim as experiencias fundamentais em que assentam os processos d'immunisação contra os micro-organismos, como explicar a immuniidade em frente d'estes factos?

Já vimos quaes as primeiras theorias formuladas no sentido de explicar o mechanismo da immuniidade. A doutrina de PASTEUR ou da *subtração* e a doutrina de CHAUVEAU ou da *addicção*. Quer uma quer outra eram doutrinas essencialmente

humoristas; já vimos como estas theorias eram insustentaveis, e que só derivavam da observação de certos factos *in vitro* que não podiam ser applicados aos sêres organisados.

Batido em brecha o humorismo, era natural que os solidistas tentassem explicar o mechanismo da immunidad.

Foi então que MÉTCHNIKOFF apresentou a sua theoria solidista ou theoria da *phagocytose*. Embora as doutrinas solidistas, baseadas na luta dos elementos cellulares contra os microbios e sobre a qual MÉTCHNIKOFF assentou a doutrina da *phagocytose*, só fossem scientificamente expostas em 1892, já em 1880 GRAWITZ tinha emittido a hypothese de que a immunidad era devida a uma maior faculdade de resistencia innata ou adquirida dos elementos cellulares. Comtudo, só a METCHNIKOFF cabe a honra de ter dado corpo áquella doutrina apresentando-a d'um modo scientifico e harmonico, assente sobre factos de observação incontestaveis.

Eis como METCHNIKOFF formulava em 1892 a sua doutrina da *phagocytose* :

«O organismo animal possuie cellulas amiboides, moveis, livres ou fixas capazes de entrarem

em lucta com os microbios. São os *phagocyts*, representados no seu maior numero pelos leucocyts que desempenham este papel d'emgloboamento na lucta contra os microbios.»

Se um organismo é immune a uma determinada doença, os *phagocyts* terão vantagens na lucta com os micro-organismos, e o equilibrio vital não se rompe; pelo contrario, nos organismos predispostos, ou os *phagocyts* não acorrem a defender o organismo no ponto ameaçado, ou se o fazem não possuem supremacia na lucta e são destruidos pelas toxinas microbianas.

Como se vê, a doutrina da phagocytose assim formulada era uma applicação restricta da doutrina da selecção natural, pois que só fazia entrar em jogo certos factores, quando é certo que na concorrência vital entre os micro-organismos e os *phagocyts*, os elementos de lucta são multiplos, e tem de ser considerados em toda a sua extensão. A theoria da phagocytose, que acabo de expôr muito resumidamente e pela fôrma por que METCHNIKOFF a apresentou primeiramente, teve o seu momento aureo, mas baqueou, para o proprio auctor a reformar mais tarde, deante d'este

facto bem simples: é que havia animaes immunes que não manifestavam em frente dos micro-organismos essa phagocytose.

Os humoristas entraram novamente em scena e explicavam o phenomeno por propriedades humoraes capazes não só de impedir o desenvolvimento dos microbios, mas ainda de obstar á acção morbifica das suas toxinas.

FODOR—primeiramente e depois muitos outros bacteriologistas, observando o desenvolvimento dos microbios nos soros dos animaes refractarios, bem como a acção d'estes soros sobre as toxinas microbianas, foram levados a emittir a hypothese de que a immuidade era devida a propriedades bactericidas, attenuantes, agglutinantess e antitoxicas dos humores.

E' incontestavel que o sôro de muitos animaes refractarios a certos microbios apresenta realmente estas propriedades reunidas ou isoladas. As propriedades antitoxicas do sôro cuja descoberta se deve a BEHRING e a KITASATO levou estes experimentadores á descoberta dos sôros antitoxicos que tão fecundós teem sido em bacterio-patho-

logia e que hoje já se teem applicado com feliz exito a venenos não microbianos.

Mas se as doutrinas humoristas tinham alguma razão de sêr, para certos casos particulares, não poderiam têr a generalidade que os authores lhes attribuiam porque, e isso era um facto d'observação corrente em experimentalismo bacteriano, havia animaes refractarios a uma determinada doença microbiana cujo sôro era um excellente meio de cultura para aquelle microbio e que, pelo contrario, havia animaes predispostos a determinadas doenças cujo sôro era um pessimo meio de cultura para esses microbios, não se desenvolvendo estes nesse sôro ou desenvolvendo-se mal.

O defeito das theorias humoristas estava em estudar o sôro *in vitro*, quando é certo que o sôro em taes condições não tem as propriedades do sôro *in vivo*, pois que pelo menos lhe falta um dos seus principaes caractêres, o das alterações que constantemente se dão nas suas propriedades chimicas.

E' esta instabilidade chimica do sôro *in vivo*, que faz com que as suas propriedades estudadas

in vitro, onde falta aquelle precioso character, não possam ser applicadas áquelle.

Mas, alem d'isso, as theorias humoristas eram insustentaveis, pois encaravam o problema só por um lado — *humor* — sendo certo que a resistencia ou a predisposição d'um organismo deve depender de todos os elementos que o constituem, isto é, elementos cellulares e meio interno ou humor, pois que nos organismos superiores estes dois elementos são perfeitamente inseparaveis, dependendo a existencia e as modificações d'um da existencia e modificações d'outro.

Foi o que tentou METCHNIKOFF com a sua nova theoria, que não é mais do que uma ampliação da sua primeira theoria, a *phagocytose*.

Na sua nova theoria, METCHNIKOFF fez entrar em jogo os dois factores phagocytos e humores, sem comtudo fazer uma theoria eclectica como o fizeram os eclectistas — e que não merece o nome de theoria, pois que não é mais do que uma simples vista d'espírito, não explicando nada e servindo somente para harmonisar um certo numero de factos d'observação.

METCHNIKOFF admite duas especies de phago-

cytos microphagos que englobariam sobretudo as cellulas d'origem vegetal e os macrophagos que dirigiriam a sua acção especialmente sobre as cellulas d'origem animal. Os phagocytos englobariam os microbios e sujeital-os-iam a uma especie de digestão intracellular effectuada á custa de cytases — a *micro-cytase* para os microphagos e a *macro-cytase* para os macrophagos.

Estes fermentos não se separam das cellulas phagocytarias enquanto estas estão intactas. Nos casos d'immunidade natural uma primeira infecção exerceria sobre os phagocytos não só uma excitabilidade sufficiente para elles pôrem em acção as suas cytases, mas obrigando-os á secreção de substancias que vinham auxiliar a acção dos phagocytos sobre as cellulas microbianas. Estas substancias são os *fixadores* ou *intermediarios* de ERLICH.

Não está ainda bem explicada a acção d'estes fixadores sobre as cellulas microbianas. Para ERLICH os fixadores são corpos intermediarios entre os microbios e as cytases. BORDET não admite este modo de interpretar a acção dos fixadores e julga que a sua acção é devida a uma especie de

mordançage que sensibilisa os elementos figurados e facilita o seu englobamento e a acção fermentativa dos cytases.

Na immuidade adquirida por meio de sôros, estes actuariam não só pelos fixadores que contem mas tambem excitando os phagocytos á secreção de novos fixadores especificos.

Como se vê, a theoria cellular de METCHNIKOFF consiste simplesmente na admissão d'uma propriedade cellular que se vai desenvolvendo parallelamente a infecções successivas, obrigando os phagocytos a modificações cellulares capazes de vencer a lucta com os microbios.

A phagocytose não seria uma propriedade especial das cellulas, seria antes a resultante d'uma propriedade commum e fundamental de todas as cellulas: *a nutrição cellular*.

Comtudo, se bem que METCHNIKOFF demonstre d'uma maneira clara e positiva a phagocytose, o mesmo não faz com respeito aos fixadores especificos, não affirmando qual a sua origem nem mesmo quaes as modificações cellulares que as cellulas soffrem e que lhes dão essa faculdade de secreção de substancias fixadoras.

Se bem que a theoria cellular de METCHNIKOFF, como ultimamente elle a formulou, seja hoje accete por quasi todos os bacteriologistas e aquella que explica o maior numero de factos, é certo que ella ainda tem muitas lacunas e que só a physiologia cellular poderá explicar porque não é nos organismos superiores altamente differenciados que a immunidadede verá ser estudada, mas sim nos organismos unicellulares, como já o fez METCHNIKOFF estudando a immunidadede nos organismos unicellulares contra os microbios, e como este e outros auctores teem feito para as toxinas e substancias toxicas.

Só o estudo da physiologia geral nos poderá trazer a solução do problema da immunidadede e do inverso, — a *predisposição*, — e só então é que todos os factos que possuímos poderão ter uma explicação sufficiente e verdadeira, já dando uma orientação mais racional e mais methodica aos processos d'immunisação que possuímos, já fazendo-nos conhecer aquelles que ainda estão cheios d'obscuridade e de interrogações.

CAPITULO III

A hypothese da sôro-predisposição; breve critica á theoria cellular de Metchnikoff.



OMO vimos no primeiro capitulo, immunnidade e predisposição não eram mais do que os extremos d'uma serie d'*étapes* na faculdade de resistencia organica em face dos micro-organismos; poderiam, porém, ser considerados como manifestações inversas da mesma causa — *a concorrencia vital*.

Ora se teem como causa a *concorrencia vital*, certamente que os seus mechanismos hão-de ser identicos senão os mesmos.

O estudo da predisposição deveria seguir *pari*

passu o da immuniidade, pois que certamente o estudo d'uma viria elucidar sobre o mechanismo da outra e trazer factos novos tendentes á sua explicação.

Factos bem conhecidos em bacterio-pathologia levam-nos a prever que o mechanismo da immuniidade e o da predisposição devem ser os mesmos.

Refiro-me principalmente aos factos de antagonismo.

É bem conhecido, se bem que ainda não demonstrado positivamente, que certas doenças infecciosas conferem uma immuniidade para outras doenças infecciosas; por exemplo: os individuos impaludados apresentam uma notavel immuniidade para a tuberculose; pelo contrario, outras doenças infecciosas criam uma notavel predisposição para outras doenças — por exemplo: a predisposição creada pela syphilis para a tuberculose; mas ha mais, certos estados refractarios são outras tantas predisposições para certas doenças — assim os individuos quanto mais refractarios ao impaludismo tanto mais predispostos para a tuberculose.

Como se vê, parece que estes argumentos bastariam para nos fazer prever que o mechanismo da predisposição e o da immuniidade eram identicos.

De resto, o facto de que os seus mechanismos deveriam ser identicos é que a predisposição creou por *selecção natural* um mechanismo inverso do da immuniidade.

O estado actual dos nossos conhecimentos sobre immuniidade e as doutrinas actualmente accites sobre o seu mechanismo, authorisam-nos a formular a hypothese da sôro-predisposição?

Como vimos no esboço rapido que fizemos no capitulo anterior sobre a evolução das doutrinas tendentes a explicar o mechanismo da immuniidade, a hypothese mais accitavel e aquella que hoje é accite por quasi todos os bacterio-pathologists, é a doutrina cellular de METCHNIKOFF.

Vejamos se dentro da theoria cellular de METCHNIKOFF, com todo o seu desenvolvimento, nós poderemos defender a hypothese de *sôro-predisposição*.

Se a immuniidade é devida a uma propriedade cellular, a phagocytose, a qual só necessita do

concurso de certas substancias *fixadoras*, que lhe sirvam de intermediario entre os elementos phagocytarios e as cellulas microbianas, e se esta doutrina em todos os seus detalhes é verdadeira, certamente que a hypothese da sôro-predisposição é insustentavel.

Se todos os sôros conteem, como affirma METCHNIKOFF, maior ou menor quantidade de fixadores mais ou menos especificos, se os sôros, sejam de que animal fôr, possuem propriedades estimulantes, dadas pelas suas estimulinas, da producção de propriedades immunisantes, não seria viavel a hypothese da sôro-predisposição.

As experiencias tentadas neste sentido deveriam falhar em toda a linha e talvez que nos levassem a conclusões precisamente contrarias d'aquellas a que pretendiamos chegar.

Pois se a immunidadé é a resultante de dois factores — *phagocytos e fixadores* — nós, injectando sôro d'um animal predisposto a um immune á mesma doença, não só não lhe poderíamos modificar as propriedades do primeiro factor, mas era possivel até que lhe modificassemos o segundo pela excitação que exerciamos sobre os phagocy-

tos o que os obrigava á secreção de maior quantidade de fixador.

Assim, ou conservariamos a immuidade que o animal já possuia, ou augmentar-lhe-iamos essa immuidade; mas nunca seria possivel crear-se uma predisposição.

Mas os sôros actuarão na producção da immuidade devido ás substancias fixadoras que transportam e que por seu turno excitarão os phagocytos á secreção de novos fixadores, ou essa excitabilidade da phagocytose será devida a uma modificação das propriedades chimicas dos phagocytos que lhe permittam a secreção d'essas substancias e uma maior capacidade de resistencia em frente dos micro-organismos?

Não ha factos em biologia que nos levam a fazer crêr que essas mutações das propriedades chimicas das cellulas organicas são susceptiveis de produzir modificações perfeitamente antagonicas?

Por exemplo: a *impregnação materna por meio de feto*. — Um feto com qualidades hereditarias paternas pode impregnar a mãe por tal forma que os filhos subseqüentes e de paternidade differente

apresentem os caractères hereditarios do primeiro pae.

Embora sejam factos que não estejam ainda definitivamente explicados, a litteratura medica registra alguns documentos d'impregnação materna por meio do feto, impregnação tal que produziu nos filhos subsequentes caractères perfeitamente antagonicos dos progenitores.

Não se affirma, e com certa razão, que o aleitamento ao seio, feito por uma ama, influe e modifica o character e o temperamento do aleitado?

Não são factos estes de modificações profundas nas propriedades chimicas das cellulas?

Parece-me que sim, e essas modificações são por vezes tão profundas que, como no primeiro caso, se reflectem sobre as propriedades chimicas do ovulo, modificando-as por tal forma que o ovo sahido da fecundação d'este ovulo deu origem a um feto apresentando caractères hereditarios do pae do primeiro feto.

Se ha factos que nos explicam que estas mutações nas propriedades chimicas das cellulas organicas são possiveis, não nos repugna tambem

admittir que os phagocytos segregam por identico processo substancias fixadoras que lhe permitem uma maior capacidade de englobamento em frente dos micro-organismos; mas, a nosso vêr, tal facto não se dá em virtude d'uma excitação produzida pelos fixadores levados no sôro, mas sim porque este sôro encerra em si substancias que, modificando profundamente as propriedades chimicas dos phagocytos, os obrigou á secreção d'essas substancias, criando-lhes assim uma maior faculdade de resistencia em frente dos infinitamente pequenos.

Mas se os sôros dos animaes immunes, injectados a animaes predispostos, lhes modificam as propriedades chimicas dos seus phagocytos a ponto tal que os incitam á secreção de substancias que lhes augmentam a faculdade de resistencia em frente dos micro-organismos, não será possivel que injectando sôro d'um animal predisposto a um animal immune, este sôro vá modificar as propriedades chimicas dos phagocytos em sentido inverso, isto é, diminuindo-lhes a resistencia em frente dos micro-organismos?

Era o problema inverso do resolvido por

BOUCHARD e confirmado depois na primeira parte das experiencias de BEHRING.

Pois, immunnidade e predisposição não são phenomenos resultantes da mesma causa? Não são exteriorisações differentes d'um phenomeno geral: *a concorrência vital*?

Sendo phenomenos que teem a mesma causa poderão differir no seu mechanismo?

Como se vê, foi sobre alicerces pouco solidos, porque são todos hypotheticos, que edifiquei a hypothese da sôro-predisposição e que realizei algumas experiencias tendentes não a demonstrar d'uma maneira positiva o problema, mas sim para conseguir alguns factos experimentaes em que assentasse a possibilidade da transmissão da predisposição por meio de soros.

CAPITULO IV

Resultados experimentaes

I—TECHNICA

s experiencias que realizei requeriam pequena technica, que se acha descripta com todo o rigor e precisão nos livros didacticos; mas, como algumas particularidades de technica fossem por mim modificadas, julgo digna de menção a que segui:

I—*Preparação do sôro sanguineo dos caviás*— Não é por vezes facil a colheita do sangue em animaes pequenos como o caviá; não só porque é necessario aproveitar a maior quantidade de sangue,

mas tambem porque é necessario colhê-lo o mais asepticamente possivel.

Eis o processo que usei, o qual me foi indicado pelo meu illustre presidente de these o Ex.^{mo} Sr. Dr. Alberto d'Aguiar e que me permittiu recolher com uma asepsia praticamente realisavel a maior quantidade de sangue possivel:

a) *Cuidados preliminares* — Esterilisam-se¹ convenientemente os ferros destinados á operação: um ou dois bisturis, tesoura, duas pinças de dissecação e um pouco de seda fina é o sufficiente. Esterilisa-se egualmente ao autoclave a 110° ou 115° durante vinte minutos o vaso de vidro, destinado a recolher o sangue, que deve ter uma capacidade sufficiente para uma boa separação do coagulo e do sôro.

b) *Procura da arteria.* — A arteria escolhida, e que tendo um calibre regular é bastante acessivel, é a carotida. Para a achar — fixa-se convenientemente o animal de forma que fique com o pescoço bem estendido — barbêa-se a região an-

¹ Basta ferver-os durante um quarto d'hora em agua, á qual se addiciona um pouco de carbonato de soda ou borax.

terior do pescoço e desinfecta-se lavando primeiramente com sabão e sublimado e em seguida com um pouco d'alcool. Feito isto, faz-se uma incisão mediana longitudinal na extensão de 3 ou 4 centímetros, cortando só a pelle. Faz-se a incisão do cuticular e d'alguns folhetos aponevroticos até se encontrar a trachea; d'um e d'outro lado e costeando a trachea, encontram-se dois feixes musculares; separa-se um d'elles por meio d'uma incisão transversal e desbridando-o para um e outro lado, encontra-se immediatamente por baixo a carotida.

c) *Colheita do sangue e separação do soro.* — Descoberta a carotida, laqueia-se esta na parte mais superior e desbrida-se numa grande extensão, tendo o cuidado de deixar adherente á arteria alguma aponevrose. Pinça-se a arteria entre os ramos d'uma pinça de dissecação proximo do laço de laqueação e fixa-se com outra pinça pela aponevrose que envolve o vaso. Pedese a um ajudante que corte a arteria entre o laço e a pinça e, abrindo esta, deixa-se correr o sangue no vaso que o mesmo ajudante segura, tendo o cuidado de o abrir o menos possivel para não o

*

inquinar. O ajudante deve conservar o vaso inclinado durante o tempo em que o sangue correr, inclinação que se conservará vinte e quatro horas para que o sôro se separe.

II. *Injecção do sôro.* — Vinte e quatro horas depois, o sôro encontra-se separado do coagulo; para o recolher volta-se o vaso de vidro, dando-lhe uma inclinação inversa da que tinha anteriormente, e fica assim o sôro perfeitamente isolado. Recolhe-se por meio d'uma seringa de Roux ou de LUER, anteriormente esterilizada, e procede-se á injecção.

As injecções de sôro que realizei foram todas intra-peritoneaes; para isso, barbea-se uma pequena parte do abdomen, cauterisa-se o ponto em que se deseja fazer a injecção e introduz-se rapidamente a agulha em sentido perpendicular, tendo o cuidado de não a introduzir demasiadamente; faz-se depois progredir lentamente o embolo da seringa medindo no corpo d'esta ou no braço do embolo o numero de cm^s que se deseja injectar; retira-se a agulha rapidamente e cauterisa-se o local da injecção novamente.

III. *Inoculação.* — Escolhidas as culturas que

se pretende inocular, e que devem datar de 24 horas, e reconhecido em preparações que o bacillo se encontra puro, lança-se em cada tubo de cultura alguns centímetros cubicos de caldo, desfaz-se depois as culturas neste caldo por meio d'um fio de platina e recolhendo este liquido de cultura por meio d'uma seringa de ROUX ou de LUER, esterilizadas, procede-se á injeccão, medindo do mesmo modo o numero de cm³ que se devem inocular.

As inoculações que realizei foram todas subcutaneas—para isso faz-se uma cauterisação no ponto destinado á inoculação, introduz-se a agulha, fazendo uma prega na pelle e verificando que a agulha esteja no tecido cellular, injecta-se a quantidade de liquido que se deseja—retira-se a agulha e cauteriza-se novamente o ponto d'inoculação.

IV *Cultura do oedema.* — Faz-se uma cauterisação linear segundo a linha em que se deseja fazer a incisão da pelle. Tendo os ferros (1 bisturi, pinças, tesoura e uma agulha de sutura com fio de sutura) esterilizados, faz-se uma incisão da pelle segundo aquella linha.

Aberto o oedema corta-se por meio de bisturi

um pouco de falsa membrana, que, fixada num fio de platina, se passeia uma ou mais vezes num ou mais tubos de sôro, que se deixam na estufa a 37° durante 24 horas.

V *Exame das culturas.* — Se as falsas membranas encerram o bacillo diphterico, as colonias, 24 horas depois, apresentam se desenvolvidas, tendo o aspecto de pequenas colonias isoladas, perliformes. Recolhe-se por meio d'um fio de platina uma d'estas colonias, a qual se estende n'uma lamina para se examinar ao microscopio.

VI *Processos de coloração.* — Os mais empregados e que facilitam o diagnostico do bacillo diphterico: — Azul de ROUX ou KHÜNE durante alguns segundos — pouco importante pois não são especificos. Pelo methodo de GRAM que os bacillos omam quando as culturas são recentes.

Por meio do KHÜNE durante meio minuto lavando, e córando com a vesuvina rapidamente. Os bacillos diphtericos ficam corados de azul nos topos e de amarello no centro.

Por meio do NEISSER — podendo-se usar o antigo processo — que consistia em córar durante 20 minutos na solução A cuja formula é:

Azul de Methyleno.	1 gr.
Alcool 96°	20 cm ³
Acido acetico.	50 »
Agua	950 »

Lava-se em seguida, e córa-se rapidamente com a solução B, cuja formula é:

Vesuvina.	2 gr.
Agua	1:000 »

Por meio do NEISSER novo, que substitue com vantagem aquelle antigo methodo, porque é muito mais rapido, conservando a sua especificidade de coloração em frente do bacillo diphterico. Eis o processo :

Córa-se durante meio minuto por meio d'uma solução formada de partes eguaes das soluções seguintes:

A	{	Azul de methylene	0,25 gr.
		Alcool	5, »
		Agua distillada	2.500 »
		Acido acetico	12,5 »
B	{	Violeta crystal	0,25 gr.
		Alcool	2,5 »
		Agua distillada	75, »

lava-se e cõra-se rapidamente na solução cuja formula é a seguinte :

Chrysoidina.	0,5 gr.
Agua distillada quente.	150 gr.

Os bacillos ficam corados da mesma forma que no NEISSER antigo.

VII *Fixação dos animaes.* — Uma das principaes condições para que se possa tentar algumas experiencias em animaes, e para que estas sejam feitas com algum rigor, é a fixação perfeita dos animaes, de modo a poder-se trabalhar confiadamente com elles. Nos laboratorios que possuem um pequeno pessoal e onde muitas vezes não temos ajudantes em numero sufficiente, aquella condição é por vezes difficil de realizar.

Para animaes docéis como o caviá ou o coelho, a fixação é relativamente facil; basta para os fixar um simples estrado ao qual se prende o animal atando-lhe os membros aos cantos do estrado; ou prendendo-os em aparelhos especiaes, mais ou menos complicados, que se encontram em laboratorios regularmente montados.

Mas, quando se trata de animaes pouco docéis, como por exemplo o rato, é necessario o maior

cuidado não só porque esses roedores não respeitam o experimentador, mas também porque ha perigo de fugirem inoculados. Usava-se para segurar os ratos d'um processo que alem d'exigir bastantes ajudantes não nos livrava por vezes d'aquelles perigos.

Segurava-se por meio d'uma pinça longa pela pelle do cachaço e, logo que o animal estava bem seguro pelo cachaço, estendia-se numa mesa em que outros ajudantes seguravam com pinças, uns no focinho outros nos membros do animal até que este ficasse immovel. Além de ser um pouco barbaro e moroso, era incommodo ter-se tantos ajudantes para segurar um animal bem pequeno, e perigoso, poisque bastava uma pequena distração d'um auxiliar para que o experimentador fosse mordido ou para que o rato fugisse.

Foi para obviar a estes inconvenientes e para poder dispensar aquelle numero d'ajudantes, que a maior parte das vezes eu não tinha, que pensei em modificar esse systema procurando aparelho adequado á fixação dos ratos. Depois d'alguns modelos em madeira em que procurava aproveitar a minha idéa, cheguei á construcção d'um pe-

queno aparelho onde os ratos se prendem com facilidade e onde não ha perigo de se ser mordido ou d'elle fugir.

Eis uma descripção summaria do aparelho: Consta duma caixa rectangular de metal de 25^{cm} de comprimento por 12^{cm} de largura e 10^{cm} de altura cuja face superior é fechada por uma grade, cujos fios d'arame sufficientemente resistentes são solitariamente aparafusados a uma das paredes, de modo a poderem-se retirar, deixando assim a descoberto a região do rato em que se pretende operar.

Dentro d'esta caixa ha uma placa movel que se ajusta perfeitamente ás paredes lateraes e que desliza no sentido vertical numa corrediça quadrada que a obriga a conservar-se sempre paralela á base do aparelho. Esta placa movel pode fixar-se a diversas alturas por meio de dois parafusos de fixação que a prende ás paredes transversaes do aparelho.

Numa das paredes lateraes ha um orificio circular sufficiente para dar passagem ao rato, munido d'uma porta corrediça; e em cada canto da face superior ha um gancho destinado á fixação dos membros do animal.

Processo para fixar os ratos. Descida a placa movel até á base do apparelho e verificado que as grades estão todas aparafusadas, introduz-se o rato pelo orificio lateral, fecha-se a porta corre-diça, volta-se o apparelho com a face gradeada para baixo e deixa-se descer a placa movel até que o rato fique espalmado contra as grades — tendo o cuidado de não apertar demasiadamente para não comprometter a respiração do animal. Volta-se de novo o apparelho com as grades para cima, e por meio d'uma pinça passam-se uns laços aos membros do rato que se atam aos ganchos existentes nos quatro cantos do apparelho; deixa-se descer um pouco a placa movel para que o rato esteja á vontade e tirando um, dois ou mais fios da grade no logar em que se pretende inocular ou injectar o animal — tem-se este prompto a qualquer trabalho sem perigo do rato fugir ou de se ser mordido.

Durante as minhas experiencias deu-me sempre o melhor resultado, permittindo-me trabalhar sosinho, rapidamente e com segurança.

Apresento o croquis do apparelho para melhor comprehensão d'este e do seu funccionamento.

II — EXPERIENCIAS

I.^a SERIE DE EXPERIENCIAS

EXP. I— Coelho preparado por meio de injeções intra-peritoneaes de sôro de sangue de caviá.

Injectado com 18cm^3 de sôro dadas em doses de $2,5\text{cm}^3$ de dois em dois dias. Inoculado vinte e quatro horas depois da ultima injeção, sob a pelle do abdomen com $2,5\text{cm}^3$ de cultura de bacillos da diphteria.¹

Resultado — Vinte e quatro horas depois de inoculado revelou um pronunciado œdema no ponto d'inoculação, acompanhado d'um estado geral mau, que se foi accentuando até que morreu passados 7 dias depois de inoculado. A autopsia revelou-me um consideravel œdema gelatinoso, que se estendia até ao thorax, apresentando falsas membranas.

EXP. II— Coelho preparado por meio de injeções de sôro de sangue de caviá.

Injectado com 18cm^3 de sôro em doses de 2cm^3 de dois em dois dias. Inoculado vinte e quatro horas de-

¹ O liquido de cultura inoculado foi preparado lançando em cada tubo de cultura um sôro solidificado e datando de 24 horas 4cm^3 de caldo desfazendo bem a cultura e emulcionando bem a mistura.

pois da ultima inecção com 2,5^{cm3} de cultura de bacillos da diphteria (a mesma que serviu para o coelho precedente).

Resultado—Vinte e quatro horas depois de inoculado, apresentava um consideravel œdema no ponto de inoculação, acompanhado d'um estado geral extraordinariamente abatido.

Morreu 60 horas depois de inoculado, sendo a morte precedida d'uma grande hypothermia.

A autopsia revelou-me um extenso œdema gelatinoso com falsas membranas: congestão renal e urina hemorrhagica muito rica em albumina.

Dois coelhos testemunhas d'estas experiencias e inoculados com a mesma dose e da mesma cultura, não apresentaram cedema local, tendo um morrido quatro dias depois de inoculado com uma pleuro-peritonite e o outro resistido á inoculação. ¹

2.^a SERIE DE EXPERIÊNCIAS

EXP. III—Coelho immunisado por duas inecções sub-cutaneas de sôro anti-diphterico de cinco centímetros cubicos, representando mil unidades de BEHRING.

Preparado com 35^{cm3} de sôro de sangue de caviá

¹ As culturas empregadas estavam virulentas, pois que um caviá inoculado com a mesma cultura appareceu morto no dia immediato.

Fiz culturas dos œdemas que não se desenvolveram por defeito da technica.

em injeções intra-peritoneaes de 5^{cm3} dadas diariamente.

Inoculado vinte e quatro horas depois da ultima injeção com 25^{cm3} de cultura de bacillos da diphteria.

Resultado — Resistiu á inoculação, não tendo manifestado o menor symptoma nem local nem geral de reacção.

EXP. IV — Coelho immunisado com a mesma dose de sôro anti-diphterico, testemunha da Exp. III, e inoculado com 25^{cm3} da mesma cultura.

Resultado — Resistiu á inoculação, não tendo apresentado symptomas de reacção.

O coelho normal e testemunha d'estas experiencias, e inoculado com a mesma dose de cultura, apresentou um grande oedema local morrendo sete dias depois de inoculado.

3.^a SERIE DE EXPERIENCIAS

EXP. V — Rato preparado por meio de injeções de sôro de caviá.

Injectado com 8^{cm3} de sôro em injeções intra-peritoneaes dadas em doses de 2^{cm3} de dois em dois dias.

Inoculado vinte e quatro horas depois da ultima injeção com 15^{cm3} de cultura de bacillo da diphteria. ¹

¹ As culturas inoculadas foram preparadas como as precedentes.

Resultado — Nada apresentou de importante nem local nem geralmente. Sacrificado oito dias depois de inoculado e autopsiado nada revelou digno de menção.

EXP. VI — Rato preparado por meio de injeções de sôro de sangue de caviá.

Injectado com 8cm^3 cubicos de sôro dados em doses de 2cm^3 de dois em dois dias. Inoculado com 1cm^3 de cultura de bacillos da diptheria.

Resultado — Apresentava vinte e quatro horas depois uma ligeira reacção no local d'inoculação com congestão e endurecimento do tegumento. Sacrificado oito dias depois por meio do chloroformio, a autopsia revelou-me um derrame sôro-sanguinolento no ponto de inoculação, e congestão intensa dos vasos peritoneaes.

Fiz culturas da serosidade local em sôro solidificado que vinte e quatro horas depois se achavam bem desenvolvidas, e que em preparações directas reconheci pelo azul de ROUX e pelo GRAM que as culturas eram constituídas por bacillos da diptheria. Fiz passagens e inoculei 2cm^3 de cultura a um caviá que vinte e quatro horas depois apresentava um grande cedema no ponto de inoculação e que appareceu morto quarenta e oito horas depois.

O rato testemunha d'estas experiencias e inoculado com 3cm^3 da mesma cultura nada apresentou de importante. Sacrificado e autopsiado nada apresentava

localmente. As culturas feitas raspando o local de inoculação restaram estereis.

4.^a SÉRIE DE EXPERIÊNCIAS

EXP. VII—Rato preparado por meio de injeções de sêro de sangue de caviá.

Injectado com 14^{cm³} de sêro em doses de 2^{cm³} de dois em dois dias. Inoculado com 2^{cm³} de culturas de bacillos da diptheria. ¹

Resultado — Apareceu morto vinte e quatro horas depois, sendo sómente autopsiado dois dias depois de inoculado. Apresentava localmente uma ligeira suffusão sanguinea e grande derrame peritoneal. Fiz culturas da suffusão local e do derrame que vinte e quatro horas depois verifiquei serem constituídas por coccus.

EXP. VIII—Rato preparado por meio de injeções de sêro de sangue de caviá.

Injectado com 14^{cm³} de sêro em doses de 2^{cm³} de dois em dois dias. Inoculado 24 horas depois com 2^{cm³} de cultura.

Resultado — Apareceu morto vinte e quatro horas depois de inoculado, apresentando um edema

¹ Líquido cultural preparado como o precedente, mas aproveitando o bacillo colhido do rato da Exp. VI.

consideravel no ponto de inoculação com falsas membranas.

Fiz culturas d'este oedema, que se desenvolveram e que em preparações directas eram constituídos por um bacillo curto que tomava o GRAM e se corava bem pelo ROUX (bacillo da diphteria?).

Fiz passagens e inoculei um caviá que morreu quarenta e oito horas depois de inoculado, apresentando no local de inoculação, um grande oedema. Fiz culturas d'este oedema, que se desenvolveram bem e que eram constituídas por coccus e bacillos curtos da diphteria que tomavam o NEISSER.

O rato testemunha d'estas experiencias e inoculado com 2^{cm3} de cultura appareceu morto dois dias depois de inoculado; a autopsia não me revelou nada digno de menção.

Obs.— Estes ratos estavam em mau estado quando foram inoculados, devido ás condições em que estavam collocados.

5.^a SERIE DE EXPERIENCIAS

EXP. IX— Rato preparado por meio de injecções de sôro de sangue de caviá.

Injectado com 20^{cm3} em doses de 5^{cm3} de dois em dois dias. Inoculado com 2,5^{cm3} de cultura de bacillos da diphteria,

Resultado— Apresentou 24 horas depois de ino-

culado um oedema no ponto de inoculação. Fiz culturas do oedema quatro dias depois, recolhendo um pouco de falsa membrana, que vinte e quatro horas depois se achavam bem desenvolvidas, e que em preparações directas mostravam serem constituidas por bacillos longos que se coravam bem pelo NEISSER.

Fiz passagens d'esta cultura e inoculei um caviá com 1cm^3 que morreu 30 horas depois, apresentando um grande oedema no local d'inoculação que em culturas revelou a existencia de bacillos da diphteria.

EXP. V—Rato preparado por meio d'injecções de sôro de sangue de caviá.

Injectado com 15cm^3 de sôro em doses de 5cm^3 de dois em dois dias. Inoculado com $2,5\text{cm}^3$ de cultura de bacillos da diphteria.

Resultado — Apresentava localmente um ligeiro oedema com endurecimento cutaneo.

Fiz culturas do oedema 14 dias depois d'inoculado que restaram estereis. Morreu dias depois, não sendo autopsiado.

EXP. XI—Rato preparado por meio d'injecções de sôro de caviá.

Injectado com 9cm^3 de sôro em doses de 3cm^3 dadas de dois em dois dias.

Inoculado com $2,5\text{cm}^3$ de cultura de bacillos da diphteria.

Resultado — Nada apresentou localmente. Sacrifi-

cado por meio do chloroformio e autopsiado, a autopsia nada revelou digno de menção.

O Rato testemunha d'estas experiencias e inoculado com 2,5^{cm³} da mesma cultura não apresentou localmente nada digno d'interesse.

Comtudo, quatro dias depois d'inoculado abri o local de inoculação e raspando este local, bem como recolhendo um pouco do fascies superficialis fiz culturas que restaram estereis. ¹

6.ª SERIE D'EXPERIENCIAS

EXP. XII— Rato preparado por meio de sôro de sangue de coelho ² preparado por injeções de sôro de caviá.

Injectado com 10^{cm³} numa só dose. Inoculado vinte e quatro horas depois com 1^{cm³} de cultura. ³

Resultado — Apresentou vinte e quatro horas depois d'inoculado um grande cedema no local d'inoculação.

¹ As culturas que foram inoculadas a estes ratos foram preparadas deitando 5^{cm³} de caldo em cada tubo de cultura e emulsionando bem a mistura.

² Este coelho foi preparado por meio de 15^{cm³} de sôro de caviá dado em doses de 5^{cm³} de dois em dois dias e recolhendo-lhe o sangue 48 horas depois da ultima injeção.

³ Esta cultura foi preparada lançando 1^{cm³} de caldo em cada tubo de cultura e inoculando 1^{cm³} a cada rato. Corresponde um tubo de cultura por cada rato. O bacillo aproveitado foi o da Exp. X.

Dois dias depois d'inoculado abri o oedema e recolhendo um pouco de falsa membrana fiz culturas em sôro solidificado, que se desenvolveram bem e que em preparações reconheci pelo NEISSER que se tratava de bacillos diphtericos *longos*.

Fiz passagens e inoculei um caviá que morreu vinte e sete horas depois de inoculado, tendo apresentado um grande oedema; autopsiado e fazendo culturas do oedema, estas desenvolveram-se bem, mostrando em preparações serem constituídas por bacillos da diphteria que tomavam bem o NEISSER.

O rato testemunha d'esta experiencia e inoculado com 1^{cm}³ do mesmo liquido de cultura (um tubo de cultura por cada rato), apresentou um endurecimento no local da inoculação, que abri 48 horas depois e de que fiz culturas raspando o local d'inoculação; estas pegaram e 24 horas depois mostraram ser constituídas por bacillos diphtericos, *forma curta*.

Fiz passagens e inoculei uma cultura a um caviá tendo um peso aproximado do da exp. antecedente; este morreu 32 horas depois d'inoculado, apresentando um grande oedema; autopsiado e feitas culturas do oedema, estas eram constituídas por bacillos diphtericos.

7.^a SERIE DE EXPERIENCIAS

EXP. XIII—Rato preparado por meio de sôro de sangue de caviá.

Injectado com 32cm^3 de sôro em doses de 8cm^3 dadas diariamente. Inoculado com 2cm^3 de liquido de cultura de bacillos da diphteria. ¹

Resultado — Apresentava 24 horas depois da inoculação diphterica grande oedema no local d'inoculação; quatro dias depois fiz culturas do oedema, culturas que vinte e quatro horas depois se achavam bem desenvolvidas e que em preparações revelaram ser constituídas por bacillos longos que tomavam bem o NEISSER. Fiz passagens e inoculei uma cultura a um caviá que morreu 26 horas depois d'inoculado, apresentando um grande oedema.

Quatorze dias depois de inoculado sacrifiquei o animal e recolhi novamente o oedema, a autopsia revelou-me um oedema extenso com falsas membranas, uma intensa congestão peritoneal com augmento consideravel de volume do baço. As culturas desenvolveram-se bem e mostraram-se, em preparações, constituídas por *bacillos longos* que tomavam bem o NEISSER. Fiz passagens d'esta cultura e inoculei um caviá, que morreu 28 horas depois d'inoculado.

O Rato testemunha d'esta experiencia e inoculado com 2cm^3 do mesmo liquido de cultura, apresentou 24 horas depois um endurecimento no ponto de ino-

¹ Liquido preparado lançando 4cm^3 de caldo em 4 tubos de cultura (1cm^3 em cada) e inoculando 2cm^3 a cada rato.

culação; quatro dias depois abri o local de inoculação e fiz culturas d'aquelle nódulo, que vinte e quatro horas depois se achavam bem desenvolvidas e que eram constituídas por *bacilos curtos* que se coravam bem pelo NEISSER.

Fiz passagens e inoculei um caviá que morreu 30 horas depois de inoculado, apresentando um grande edema no ponto d'inoculação.

Quatorze dias depois sacrifiquei o rato testemunha; autopsiei-o e fiz novamente culturas do nódulo existente no local de inoculação; a autopsia não me revelou nada d'importante, não havendo congestão alguma do peritoneo; as culturas pegaram mas em lugar de bacillos diphtericos eram constituídas por coccus vulgares e por streptococcus.

8 SERIE DE EXPERIENCIAS

EXP. XIV—Rato preparado por meio de sôro de sangue de caviá.

Injectado com 24^{cm³} de sôro em doses de 6^{cm³} das diariamente. Inoculado com 2^{cm³} de cultura. ¹

Resultado —Edema local bastante extenso. Quatro dias depois de inoculado sacrifiquei o animal e reco-

¹ Liquido de cultura preparado por meio de 2 tubos de cultura aos quaes se addicionou 2^{cm³} de caldo a cada tubo.

lhi o œdema. A autopsia revelou-me um œdema extenso com falsas membranas, congestão intensa da parede abdominal e grande congestão peritoneal. As colonias desenvolveram-se bem e eram constituídas por bacillos longos que tomavam bem o NEISSER.

Fiz passagens e inoculei a um caviá pesando 600^{gr} 3^{cm³} de liquido de cultura. ¹ Este appareceu morto 54 horas depois de inoculado, apresentando grande œdema.

O rato testemunha d'esta experiencia apresentou 24 horas depois um nódulo no ponto de inoculação. Sacrifiquei-o 4 dias depois, e fiz culturas d'aquelle nódulo.

A autopsia não me revelou nada digno de menção. Não havia congestão peritoneal. As culturas achavam-se desenvolvidas 24 horas depois e eram constituídas por *bacillos longos e curtos* que se coravam bem por meio do NEISSER.

Fiz passagens e inoculei a um caviá pesando 400^{gr}. 2^{cm³} de liquido de cultura. ²

Este appareceu morto 72 horas depois de inoculado com œdema local extenso.

¹ Preparado lançando num tubo de cultura 3^{cm³} de caldo.

² Preparado lançando num tubo de cultura 3^{cm³} de caldo.

9.^a SERIE DE EXPERIENCIAS

Exp, XV — Rato preparado por meio de sôro de sangue de caviá.

Injectado com 9^{cm3} de sôro dados em doses de 3^{cm3} diariamente. Inoculado 24 horas depois da ultima injeccão com 1^{cm3} de cultura.¹

Resultado — Vinte e quatro horas depois de inoculado apresentou grande œdema no ponto da inoculação; seis dias depois d'inoculado sacrifiquei o rato e fiz culturas do œdema.

A autopsia revelou-me um grande œdema com falsas membranas, congestão de parede abdominal e congestão intensa do peritoneo. As culturas 24 horas depois achavam-se bem desenvolvidas e em preparações mostraram ser constituídas por bacillos diphtericos que se coravam bem pelo NEISSER.

EXP. XVI — Rato preparado por meio de sôro de sangue de caviá.

Injectado com 9^{cm3} de sôro em doses de 3^{cm3} dadas diariamente.

Inoculado 24 horas depois da ultima injeccão com 1^{cm3} do mesmo liquido de cultura do da Exp. xv.

Resultado — (Edema no local de inoculação; seis

¹ Liquido cultural preparado tomando 4 tubos de culturas do bacillo do rato da exp. XIII e lançando 1^{cm3} de caldo em cada tubo. Injectou-se 1^{cm3} deste liquido a cada rato.

dias depois sacrifiquei o animal e fiz culturas do oedema. — A autopsia revelou-me um oedema com falsas membranas e congestão peritoneal. As culturas desenvolveram-se bem e eram constituídas por bacillos diphtericos que tomavam nitidamente o NEISSER.

EXP. XVII — Rato preparado por meio de sôro de sangue de cobaia. Injectado com 6cm^3 de sôro dados em doses de 3cm^3 de dois em dois dias. Inoculado com 1cm^3 do mesmo liquido cultural das experiencias anteriores.

Resultado — Pequeno oedema localmente; sete dias depois de inoculado sacrifiquei o rato e fiz culturas do oedema. A autopsia revelou-me um pequeno oedema com falsas membranas e ligeira congestão peritoneal com augmento de volume do baço. As culturas desenvolveram-se bem e eram construídas por bacillos diphtericos longos que se coravam bem pelo NEISSER.

O rato testemunha d'estas ultimas experiencias e inoculado com 1cm^3 do mesmo liquido cultural não apresentou localmente senão um pequeno nódulo no ponto de inoculação; sete dias depois sacrifiquei este rato e fiz culturas d'aquelle nódulo e do local da inoculação. A autopsia não me revelou vestígios de oedema, somente me revelou aquelle nódulo, não havendo congestão peritoneal. As culturas pegaram mas mostraram em preparações directas serem constituídas por coccus, não encontrando em nenhum dos tubos de cultura bacillos diphtericos.

CAPITULO V

Discussão das minhas experiencias.



As dificuldades que constantemente surgiram no decurso das minhas experiencias, umas devidas á falta de pratica laboratorial, tão necessaria para experiencias d'esta natureza que requerem, além d'um espirito observador, um methodo experimental que só se adquire com grande pratica nos laboratorios; outras muito alheias á minha vontade, fizeram com que realizasse um numero muito limitado de experiencias, e portanto poucas serão as conclusões que d'ellas poderei tirar.

Não era intento meu, nem sequer tentava resolver o problema, pois que isso seria trabalho

para longos annos, já porque era necessario variar muito as experiencias, já porque á medida que as ia executando, as incognitas do problema iam augmentando.

O que pretendia e o que julgo ter conseguido eram factos experimentaes em que firmasse a minha hypothese e que pudessem servir de inicio a experiencias mais completas, mais rigorosas, tendentes a demonstrar a doutrina da sôro-predisposição.

O bacillo a que dei a preferencia para realizar as minhas experiencias, foi o bacillo diptherico. Foi-me indicado pelo meu illustre presidente de these, o Ex.^{mo} Snr. Dr. Alberto d'Aguiar, e feliz foi a escolha, pois que alem de ser um bacillo que é rapido nas suas manifestações morbidas, a sua biologia está regularmente conhecida.

A sua toxina está bem estudada, os seus effeitos bem determinados e o seu diagnostico, quer em preparações por meio dos corantes especificos, quer em culturas, é relativamente facil para quem, como eu, tiver uma insignificante pratica laboratorial.

Não devia ter limitado as minhas experien-

cias a este bacillo, deveria ter estudado a sôro-predisposição relativamente a outros bacillos, mas o pouco tempo de que dispuz não me permittiu que realisasse aquellas experiencias.

E' de suppor que as experiencias que realizei sejam accusadas de falta de methodo, o que não admira, pois que tendo pouca pratica em experimentalismo, e não tendo experiencias que me indicassem a norma que deveria seguir, eu, certamente, deveria ser pouco methodico nas que realizei.

Tanto mais que nunca consegui realizar experimentalmente o plano que previamente traçava, já porque não conseguia animaes em numero sufficiente, já porque muitas vezes aquelles morriam durante o periodo de preparação, devido a qualquer intercorrença creada pelas más condições em que estavam collocados.

Para as minhas experiencias preliminares escolhi dois animaes com differença de predisposição: o caviá e o coelho; emquanto que o primeiro inoculado com uma determinada dose de cultura por kilogramma de animal, morre no periodo de vinte e quatro a quarenta e oito horas, o segundo inocu-

lado com a mesma dose por kilogramma de animal, e da mesma cultura só morre quatro a cinco dias depois de inoculado.

Tentei por meio de sôro do mais predisposto, o *cavid*, augmentar a predisposição ao menos predisposto, o *coelho*. Foi o que realizei nas Exp. I e II: preparados os animaes como indiquei nas experiencias e inoculados, as differenças entre os animaes preparados e os testemunhas eram bem sensiveis.

Os primeiros apresentavam um grande edema local, os testemunhas não apresentavam localmente nada digno de menção; o estado geral dos coelhos preparados era muito mais abatido do que o das testemunhas — e um dos coelhos preparados morreu 60 horas depois d'inoculado, sendo a morte precedida d'algumas horas d'uma grande hypothermia — o outro só morreu sete dias depois, enquanto que os coelhos testemunhas um morreu quatro dias depois e o outro resistiu á inoculação.

Julgo que estas differenças entre os coelhos preparados e os testemunhas, são devidas a um augmento de predisposição creada pelo sôro. Po-

der-se-ha objectar que a presença do oedema nos preparados indicava antes uma maior faculdade de resistencia que uma predisposição; mas a lesão característica da diphteria por via subcutanea é o oedema com falsas membranas no local d'inoculação; ora se é assim, creio que nos preparados havia maior faculdade de contrahirem a doença de que nos segundos.

De resto, o facto d'um dos coelhos preparados morrer num lapso de tempo muito curto, (60 horas) não é sufficiente para nos inclinarmos antes para um augmento de predisposição ?

Na segunda serie de experiencias. (Exp. III e IV) eu pretendia verificar experimentalmente se os sôros dos animaes predispostos á diphteria possuiam propriedades anti-immunisantes contra aquella doença.

Immunisei dois coelhos e, tomando um para testemunha, preparei o outro por meio de sôro de caviá, como descrevo nas *Experiencias*; inoculei estes dois coelhos bem como um testemunha não immunisado com a mesma cultura e na mesma dose. Não houve differenças algumas sensiveis entre os dois coelhos immunisados, conservando

os dois a immuniidade que lhe foi conferida pelo sôro anti-diphtherico. O testemunha, pelo contrario, contrahiui a diphtheria apresentando oedema local e morrendo sete dias depois.

Mas estas experiencias que realizei, e que exponho a titulo de experiencias preliminares, não poderiam dar os resultados que desejava, pois que tanto o caviá que me fornecia o sôro como o coelho a quem o injectava, eram animaes predispostos mais ou menos para a diphtheria.

Era necessario que realizasse as experiencias em animaes perfeitamente immunes á diphtheria. Escolhi para essas experiencias o rato; alguns authores affirmam que este é immune por completo á diphtheria, outros affirmam que inoculando-lhes grandes dóses, elles contraheem a diphtheria. Eu creio que a primeira hypothese é verdadeira; como veremos, nos ratos a que inoculei grandes dóses de bacillos da diphtheria, esses mesmos não apresentavam localmente signaes de reacção.

Ora usando das dóses vulgares que é costume inocular, aquelles devem ser considerados como perfeitamente immunes á diphtheria—pois que não apresentam symptoma nem local nem geral que

indique que contraem a doença; parece que o seu sôro possui substancias bacteriolyticas que dissolvem os microbios.

Na terceira serie d'experiencias que realizei, preparei os ratos por meio de sôro de sangue de caviá injectando-lhes pequenas quantidades de sôro. (Exp. v e vi) e inoculei-os, bem como a um testemunha, com a mesma cultura de bacillos diphtericos differindo somente as doses para serem proporcionaes ao tamanho dos ratos.

As differenças entre os ratos preparados e os testemunhas foram pouco importantes. No da Exp. v não havia nada de importante; no da Exp. vi havia no local d'inoculação um derrame sero-sanguinolento com congestão peritoneal, derrame que cultivado oito dias depois de inoculado me provou conter bacillos diphtericos virulentos, pois que inoculados a um caviá o matou em menos de 48 horas. Pelo contrario o rato testemunha nem apresentava nada localmente, nem no local d'inoculação havia bacillos diphtericos.

Embora, nestas experiencias, eu não tivesse colhido nada d'importante a não ser a permanencia do bacillo no rato preparado com toda a sua

virulencia o que se não dava no rato testemunha, aumentei o sôro injectado para vêr se conseguia predispor ratos á diphteria.

Na quarta serie d'experiencias, Exp. VII e VIII preparei dois ratos injectando-lhes 14^{cm3} de sôro a cada, como disse nas *Experiencias* e inoculei-os bem como a um testemunha com a mesma dose da mesma cultura sendo esta constituida por bacillos recolhidos no rato da Exp. VI. Os resultados que me deram estas experiencias foram nulos pois que estavam em más condições quando foram inoculados e appareceram mortos no dia immediato sendo a morte devida, com toda a probabilidade, a qualquer intercorrença exterior.

Comtudo num dos ratos (Exp. VIII) havia um œdema com falsas membranas cujas culturas apresentavam um bacillo que tornava o GRAM e que inoculado a um caviá o matou, tendo as culturas do œdema d'este revelado o bacillo diphterico. O rato testemunha, que tambem appareceu morto 48 horas depois, não apresentou nada digno de menção.

Na quinta serie d'experiencias, preparei tres

ratos em ordem decrescente de quantidade de sôro, como descrevo nas Exp IX, X, XI.

Inoculei-os, bem como a um testemunha, com a mesma dôse da mesma cultura de bacillos diphtericos.

O mais preparado apresentava localmente cede-ma que continha bacillos diphtericos virulentos, quatro dias depois de inoculado. O rato que havia sido preparado com uma dôse de sôro immediatamente inferior áquelle apresentava localmente um endurecimento que, quatorze dias depois, não continha o bacillo; o menos preparado não apresentava absolutamente nada, bem como o testemunha; do local d'inoculação d'este fiz culturas quatro dias depois que restaram estereis.

Como se vê d'estas experiencias parece-me que a quantidade de sôro influe consideravelmente na faculdade dos ratos crearem uma predisposição em frente da diphteria.

Na sexta serie d'experiencias eu tentei repetir uma experiencia de WASSERMAN ¹ Este auctor, preparando um sôro *anti-cytasico* por meio de inje-

¹ METCHNIKOFF — L'immunité dans les maladies infectieuses.

ção de sôro de caviás a coelhos e recolhendo o sôro d'este animal, conseguiu, injectando este sôro a caviás, tornal-os mais sensiveis aos cocco-bacillos typhicos do que os testemunhas inoculados com a mesma dôse de cocco-bacillos. WASSERMAN suppunha que este sôro era capaz de neutralizar, nos caviás a que se injecta, a cytase livre, tornando estes mais sensiveis áquella infecção.

Como nesta experiencia houvesse um augmento de predisposição conferida pelo sôro *anti-cytasico*, eu tentei applicar esta experiencia á minha hypothese.

Preparei para isso um coelho por meio de sôro de caviás e recolhi o sôro d'aquelle. Injectei este sôro a um rato e inoculei-o, bem como a um testemunha, com a mesma dôse de cultura de bacillos da diphteria colhidos no rato da Exp. ix. A dose inoculada foi consideravel, pois que correspondia a um tubo de cultura por animal.

As differenças entre o rato preparado e o testemunha teem já alguma importancia. No preparado havia oedema com falsas membranas, no testemunha havia um nódulo, como que um enkystamento da injeção; dois dias depois, quer d'um quer

d'outro fiz culturas que se desenvolveram bem e que continham bacillos diphtericos — no rato preparado *bacillos longos*, no testemunha *bacillos curtos*. A diferença de virulencia entre estes dois bacillos era pouco apreciavel, pois que os primeiros mataram um caviá em 27 horas e os segundos em 32 horas. Haveria no rato testemunha uma attenuação de virulencia em relação ao rato preparado?

Como se vê, somente as diferenças no ponto d'inoculação é que teem alguma importancia; emquanto um apresentava oedema com falsas membranas, o outro não apresentava senão um nódulo no local d'inoculação.

Como se vê, a experiencia de WASSERMAN applicada á minha hypothese não deu os resultados que desejava.

Obtive o mesmo que já tinha obtido injectando sôro de caviá a ratos em doses regulares.

Na setima serie d'experiencias augmentei a dose de sôro injectado; preparei um rato com 32^{cm3} de sôro e inoculei-o bem como a um testemunha com a mesma dose de cultura.

A dose inoculada foi consideravel, pois que foi preparada com quatro tubos de cultura, cor-

respondendo portanto dois tubos de cultura por cada rato.

As diferenças entre os dois ratos foram já apreciáveis. O rato preparado apresentou um grande edema no local d'inoculação enquanto que o testemunha não apresentou senão um endurecimento naquella ponto. Fiz cultura d'um e d'outro, ao fim de quatro dias, que se desenvolveram bem, mas em que se deu o mesmo que nas culturas dos ratos da serie anterior. No preparado os bacillos eram *longos*, no testemunha eram *curtos*.

Os primeiros inoculados a um caviá, este morreu 26 horas depois d'inoculado, os segundos inoculados a um caviá mataram-no em 30 horas depois da inoculação. Como se vê, a diferença na morte dos caviás inoculados com as culturas dos dois ratos foi muito semelhante á da serie anterior.

Mas quatorze dias depois, sacrificando os dois ratos, notei que no preparado havia edema com falsas membranas extensas que continham o bacillo diphterico, *longo*, com toda a sua virulencia, pois que matava um caviá em 28 horas, havendo mais uma intensa congestão peritoneal, ao

passo que no testemunha não havia nada de importante localmente, nem congestão peritoneal, bem como as culturas feitas do local da inoculação restaram perfeitamente estereis.

Como se vê, as diferenças entre estes dois ratos são bem sensíveis. No primeiro *oedema* com bacillos *longos*, tendo-os conservado com toda a sua virulencia durante quatorze dias; no segundo — nem *oedema*, atenuação da virulencia e a não conservação dos bacillos.

Na oitava serie d'experiencias preparei um rato injectando-lhe 24^{cm.3} de sôro e inoculei-o com uma dôse bastante forte de bacillos da diphteria, pois correspondia a um tubo de cultura por cada rato. As diferenças foram como nos ratos da serie anterior, bastante sensíveis; no preparado havia *oedema* extenso com falsas membranas e congestão intensa do peritoneo. As culturas do *oedema* feitas quatro dias depois continham o bacillo diphterico *longo*, virulento pois matava um caviá de 600 gr. em 54 horas.

No testemunha não havia localmente senão um nódulo identico ao dos ratos testemunhas anteriores que quatro dias depois continha bacillos

diphthericos longos e curtos mas cuja virulencia relativamente ao rato anterior estava attenuada, pois que só matou um caviá de 400 gr. em 72 horas, não havendo como no preparado congestão peritoneal.

Na nona e ultima serie d'experiencias preparei tres ratos, os dois primeiros com 9^{cm_3} e o terceiro com 6^{cm_3} ; eram ratos muito pequenos e portanto estas doses de sôro eram proporcionaes ás doses que tinha anteriormente injectado aos ratos grandes. Inoculei-os, bem como a um testemunha, com a mesma dose de cultura que tinha sido aproveitada da do rato da Exp. XIII; a dose injectada foi pequena, 1^{cm_3} a cada, tendo aproveitado 2 tubos de cultura.

O primeiro, sacrificado seis dias depois d'inoculado, apresentava á autopsia um grande oedema com falsas membranas, que em culturas revelaram a existencia do bacillo diphtherico, forma longa e grande congestão peritoneal. O segundo sacrificado seis dias depois revelou-me o mesmo que no rato anterior e as culturas eram constituídas pelo mesmo bacillo. O terceiro revelou-me, sete dias depois, um pequeno oedema com ligeira con-

gestão peritoneal; no edema d'este rato havia ainda bacillos dipthericos.

No rato testemunha sacrificado seis dias depois d'inoculado não apresentou localmente nada e as culturas restaram estereis.

Como se vê, nesta ultima serie d'experiencias confirmei os resultados que já tinha obtido nas series anteriores. Os ratos preparados com maiores quantidades de sôro apresentam maior edema com formação de falsas membranas, e conservam o bacillo por bastante tempo, ao passo que os ratos testemunhas não apresentam localmente nada ou, quando as doses são consideraveis, apresentam um nódulo, como que um enkystamento da injeção, mas que conserva os bacillos durante um tempo relativamente curto.

CAPITULO VI

Resultados e Conclusões



COMO vimos no capitulo anterior, não são muitos os resultados a que cheguei e portanto as conclusões que d'ahi posso tirar não são de molde a affirmar plenamente a hypothese da sôro-predisposição.

Comtudo, taes resultados levam-me a crêr que aquella hypothese é viavel, e que só necessita um maior numero d'experiencias, não só para poder assentar sobre melhores alicerces experimentaes, mas tambem para resolver muitas incognitas que o problema encerra e de que só um estudo muito detalhado poderia dar a solução.

Um dos resultados que mais poderá impressionar, como sendo de molde a destruir a minha hypothese, seria para quem de leve os apreciasse, o não ter conseguido vencer a immunidadade natural do rato até ao ponto de o matar depois de o ter preparado com o sôro d'um animal facilmente predisposto — *o cavid*.

O facto de não ter conseguido que os ratos morram de diphteria, é bastante para se affirmar que não consegui vencer ou modificar-lhes a immunidadade natural e muito intensa que esses animaes possuem em face da diphteria?

Pois é necessario, para que um animal esteja predisposto para uma doença, que elle morra fatalmente d'essa doença?

Creio que não. A predisposição não é incompativel com a cura; os animaes predispostos para uma dada doença infecciosa podem contrahir essa doença devido a que os seus elementos não estão adaptados á lucta com vantagem sobre os micro-organismos; mas, desde que a lucta se trave, o organismo pode-se ir modificando no sentido de conseguir a superioridade sobre os seus antagonistas e subjugal-os. Nem por isso deixavam es-

ses animaes de estar predispostos no momento em que se deu a infecção.

Nos animaes que possuem uma immuidade natural contra certos microbios, esses, pelo contrario, não contraem essa doença, como se os micro-organismos fossem immediatamente destruidos logo após a sua penetração no meio interno; e se chegam a contrahir a doença, isto é, a haver luta entre os dois elementos, essa luta passa-se tão silenciosamente que não se traduz por signaes exteriores apreciaveis.

Ora, os ratos são naturalmente immunes á diphtheria e desde que se lhes inocule bacillos diphthericos, elles não apresentam em face d'estes reacção que indique a existencia d'uma luta apreciavel entre os dois elementos.

Dá-se sensivelmente no organismo dos ratos o mesmo que se daria se nós cultivassemos *in vitro*, o bacillo diphtherico num meio improprio ao seu desenvolvimento; aquelles attenuavam-se e acabavam por desaparecer d'esse meio num tempo relativamente curto.

Ora nas minhas experiencias eu notei que as injectões de sôro provocavam no organismo do

rato modificações que lhe permittiam que os bacillos dipthericos se desenvolvessem e obrigassem os elementos organicos a entrar em lucta com elles.

Foi o que se deu em quasi todas as minhas experiencias; e, á medida que eu augmentava a quantidade de sôro injectado, não só essa reacção local se tornava mais intensa mas tambem appareciam symptomas geraes que indicavam que o organismo estava infeccionado.

Ora, o mesmo não se dava nos ratos testemunhas, estes não apresentavam reacção local nem geral apreciavel.

A producção do oedema no ponto de inoculação que em algumas das minhas experiencias era bastante extenso com formação de falsas membranas, as congestões intensas do peritoneo que apresentavam certos ratos das minhas experiencias, não são sufficientes para affirmar que aquelles contrahiram a diptheria e que essa predisposição lhes foi dada pelas injectções de sôro?

Pois não affirmam todos os livros didacticos que o symptoma pathognomonic da infecção diptherica, por via subcutanea, nos nossos ani-

maes d'experiencias é o cedema local com formação de falsas membranas?

Se assim é, os ratos que preparei e que apresentaram maior ou menor cedema com falsas membranas mais ou menos extensas contrahiram a diphteria.

Creio mais, que, se não consegui crear nelles uma predisposição tão completa em frente do bacillo de diphteria como a que possui o caviá e fazer com que aquelles morressem infeccionados, foi, porque, pelo menos, a dose de sôro que injectei foi pequena, pois que notei que á medida que augmentava aquella dose o cedema local tornava-se mais intenso.

O facto de os ratos preparados conservarem com toda a sua virulencia os bacillos durante um periodo bastante longo — 14 dias como no rato da Exp. XIII — o que não acontecia nos ratos testemunhas, não é um argumento importante a favor da minha hypothese?

Creio que sim; tanto mais que experiencias em bacteriologia me provam que essa permanencia dos micro-organismos productores d'uma

dada doença, num animal immune contra esta doença, é pouco duradoura.

CHARRIN, estudando a evolução do *bacillo do pus-azul* nos animaes immunisados e predispostos, notou que nos primeiros os baccillos attenuavam-se e desapareciam dentro d'um tempo mais ou menos longo, mas sempre num tempo consideravelmente inferior ao que levavam os bacillos a desaparecer dos animaes predispostos, e notou mais que aquelle tempo era proporcional á dose inoculada.

Muitas outras experiencias se tem feito no mesmo sentido e todas têm conduzido a conclusões precisamente identicas ás de CHARRIN.

Nas minhas experiencias notei que os bacillos desapareciam dos ratos não preparados num periodo bastante curto, relativamente aos ratos preparados.

Nunca foi além de cinco dias a permanencia dos bacillos nos ratos não preparados, enquanto que nos ratos preparados eu consegui recolher ainda o bacillo ao fim de quatorze dias, conservando a sua primitiva virulencia.

Parece que as injectões de sôro modificaram

o organismo do rato de maneira a permittir-lhe que o bacillo se desenvolvesse e pudesse exercer a sua acção morbifica sobre aquelles, isto é, crearam ao rato uma predisposição para a diphteria.

Concluindo, parece-me poder affirmar que os soros dos animaes predispostos para a diphteria, injectados a animaes immunes, modificam estes por tal forma que lhes criam uma predisposição, não tão consideravel como a que possuíam os animaes que forneceram o soro, mas sufficiente para que os immunes se diphterisem.

É de suppor que este methodo applicado a outros micro-organismos dê resultados identicos, e que a sôro-predisposição que hoje ainda é uma hypothese se torne dentro de breve uma doutrina geral assente sobre factos incontestaveis.

CAPITULO VII

Vantagens e applicações

 logico e methodico, para terminar este breve estudo, apresentar quaes as vantagens que poderão advir do estudo experimental da hypothese da sôro-predisposição.

Como affirmei no capitulo anterior não cheguei, nem sequer era esse o objecto das minhas experiencias, a demonstrar em toda a a sua generalidade o problema, mas consegui factos experimentaes que me fazem suppor que é possivel e realizavel tramittir-se a predisposição por meio de sôros.

Demonstrada, d'uma maneira irrefutavel, a

transmissibilidade da predisposição por meio de sôros e provada, experimentalmente, que essa predisposição é especifica, quaes seriam as vantagens que tal methodo nos daria?

Não fallando no grande alcance especulativo e dos factos novos que o estudo do sôro-predisposição trazia aos nossos conhecimentos sobre immunnidade e da orientação que esses factos dariam ás doutrinas actualmente dominantes sobre tal problema, o estudo da sôro-predisposição teria um alcance pratico muito mais consideravel e foi sob este ponto de vista que encarei o problema, pois viria elucidar muitos problemas de bacterio-pathologia ainda hoje mal estudados.

Comprehende-se que, se nós por meio de sôros podessemos transmittir uma predisposição especifica para certas doenças microbianas, poderíamos crear nos animaes de laboratorio a predisposição que o homem tem para certas doenças infecciosas e que ainda hoje não foi possivel transmittir aos animaes d'experiencias.

Assim criaríamos com um novo animal d'experiencia em que poderíamos produzir essas doen-

ças peculiares ao homem, um novo methodo experimental, fecundo em resultados praticos.

A syphilis, as febres eruptivas a blenorrhagia e tantas outras doenças que hoje ainda não foi possivel inocular aos animaes communs de laboratorio, seriam então inoculaveis a estes animaes *sôro-predispostos* e o estudo da sua etiologia, pathogenia, anatomia-pathologica e, certamente, da therapeutica entraria numa nova phase mais racional e mais scientifica.

Seria um novo campo d'experiencias de largos horisontes que certamente não seria para desprezar, pois que aquellas doenças ainda hoje mal conhecidas no que respeita á sua etiologia, pathogenia e anatomia pathologica, seriam certamente estudadas com relativa facilidade.

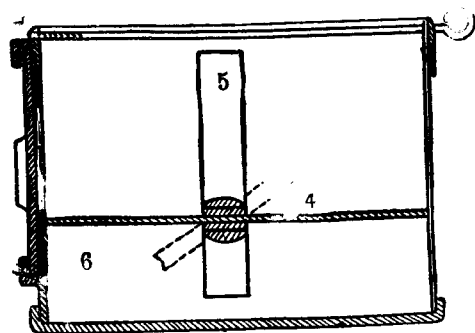
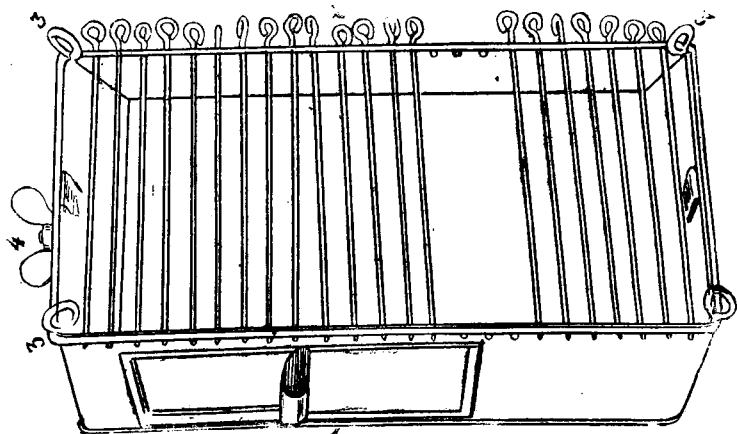
Talvez mesmo que o discutido problema do cancro, tivesse neste novo methodo um grande terreno para estudo e para experiencias que certamente viriam elucidar profundamente as doutrinas sobre a sua pathogenia.

O facto de não ter demonstrado duma maneira cathgorica o problema, pois isso seria estudo para largo tempo e somente ter conseguido

argumentos em que assentasse a minha hypothese, não é de molde a deixar ficar no esquecimento este problema que alem de ter um grande alcance especulativo, tem um grande valor pratico e que tem fóros a ser estudado por experimentadores que alliem a um rigoroso methodo experimental, um criterio imparcial e scientifico.



Apparelho destinado á fixação dos ratos



1 — porta corrediça. 2 — fios da grade. 3 — ganchos para atar os membros do rato. 4 — parafusos de fixação. 5 — corrediça em que desliza a placa movel. 6 — corte da placa movel.

PROPOSIÇÕES

Anatomia descriptiva.— Não estão ainda assentes as bases d'uma nomenclatura anatomica.

Histologia e physiologia geral.— Cada acto vital do protoplasma é devido a um enzima especifico.

Anatomia topographica.— O estudo da anatomia topographica deve preceder o estudo da anatomia descriptiva.

Pathologia geral.— A immuidade é uma resultante da selecção natural.

Physiologia.— O organismo é uma fonte de raios N.

Materia medica.— O tratamento das intoxicações só será racional com a descoberta dos soros antitoxicos.

Pathologia externa.— O diagnostico entre um kysto ovarico e uma gravidez topica é, por vezes, impossivel.

Anatomia pathologica.— A velhice natural tem as suas lesões anatomopathologicas especificas.

Pathologia interna.— Na exploração de pleuresias suspeitas de purulencia é preferivel o uso d'um trocart grosso.

Hygiene.— O segredo em materia de hygiene é mais prejudicial do que util.

Operações.— A gravidez não contra-indica uma intervenção abdominal.

Partos.— A hygiene da gravidez é o melhor tratamento prophylatico do aborto.

Medicina legal.— Não esquecer em certas pesquisas medico-legaes que « cada um é como o leite que mamou. »

Visto.

O Presidente,

Alberto d'Aguar.

Pode imprimir-se.

O Director,

Moraes Caldas.

ERRATAS

PAG.	LINHA	ONDE SE LÊ	LEIA-SE
3	11	as	a
9	17	humorísticas	humoristas
42	18	prende	prendem
56	<i>Nota</i>	4	2