

FACULDADE DE MEDICINA DE PORTO ALEGRE

THESE

apresentada á

Faculdade de Medicina de Porto Alegre

a 14 de Novembro de 1924
e defendida a 19 de Dezembro de 1924

pele

Dr. OSCAR BERNARDO PEREIRA

Natural do Estado do Rio Grande do Sul

Filho legítimo de Manuel José Pereira e de D^{ca} Belmira Martins Pereira



**O PHENOMENO DE D'HERELLE E AS INFECCOES
PELOS BACILLOS COLI E DYSENTERICOS**

(Cadeira de Microbiologia)

Trabalho do Laboratorio do Prof. Pereira Filho

THESE INAUGURAL

Approvada com distincção (gráo 10)

Premio Oswaldo Cruz



1924

LIVRARIA DO GLOBO - Andradas, 272-274 - Porto Alegre

Filiaes: Santa Maria e Pelotas



FACULDADE DE MEDICINA DE PORTO ALEGRE

Director: Prof. SARMENTO LEITE - Vice-Director: Prof. SERAPIÃO MARIANTE
 Secretario: Prof. SARMENTO LEITE FILHO

DOCENCIA EM 1924

<i>Cadeiras</i>	<i>Professores</i>
Physica medica	Ney Cabral
Chimica medica	Christiano Fischer
Historia natural medica	Sarmiento Barata
Histologia e embryologia	Marques Pereira
Anatomia descriptiva (1.ª Parte)	Moysés Menezes
Physiologia (1.ª Parte)	Raul Pilla (Interino)
Anatomia Descriptiva (2.ª Parte)	Sarmiento Leite
Physiologia - (2.ª parte)	Fabio de Barros
Microbiologia	Pereira Filho
Clínica Propedeutica medica	Plinio Gama (Interino)
Clínica Propedeutica Cirurgica	Guerra Blessmann (Interino)
Pathologia geral (1)	Gonçalves Vianna (Interino)
Anatomia e Physiologia Pathologicas	Gonçalves Vianna
Pharmacologia e arte de Formular	A. Galvão (Interino)
Pathologia Cirurgica	Diogo Ferráz
Clínica Dermatologica e Syphiligraphica	Ulysses de Nonohay
Clínica Ophthalmologica	Freire de Figueiredo (interino)
Clínica Cirurgica	Frederico Falk
Anatomia medico Cirurgica e Operações	Guerra Blessmann
Therapeutica	Octacilio Rosa
	Paula Esteves
Clínica medica (2)	Annes Dias (Interino)
	Aurelio Py
	Octavio de Sousa
Clínica Pediatrica medica e hygiene Infan- til(3)	Raul Moreira (Substituto)
Clínica Pediatrica cirurgica e orthopedia	Nogueira Flôres
Clínica oto-rhino-laryngologica	Alberto de Sousa (Interino)
Pathologia medica (1.ª parte)	Thomaz Mariante (Interino)
Pathologia medica: 2.ª Parte(4)	Sarmiento Leite F.º (Substituto)
Hygiene (5)	Freitas e Castro
Medicina legal	Annes Dias
Clínica Obstetrica	Freire de Figueiredo
Clínica Gynecologica(6)	Martim Gomes (Substituto)
Clínica neurologica	Luiz Guedes (Interino)
Clínica Psychiatrica	Luiz Guedes
Chimica analytica	Henrique Oliveira (Interino)
Pharmacologia (1.ª Parte) (7)	Carlos Leite (Interino)
Hygiene, parte geral	Waldemar Castro (Interino)
Bromatologia	João de Deus Barbachan (Int.º)
Toxicologia	Argymiro Galvão (Interino)
Pharmacologia (2.ª Parte)	José Paranhos
Clínica odont. e estomatologica	
Noções de Pthol. geral e anat. Pathol. appli- cada, Therapeutica dentaria	Cirne Lima
Substituto da 7.ª Secção	Freitas e Castro
Substituto da 9.ª Secção	Sarmiento Leite Filho
" " 10.ª Secção	Martim Gomes
" " 15.ª Secção	Carlos Leite
" " 16.ª Secção	Raul Moreira
Professores Jubilados	Carvalho Freitas e Dias Campos
" Honorarios	Carlos Barbosa, Olinto de Oliveira e Protasio Alves.
Professor Cathedratico em disponibilidade	Fróes da Fonseca
Professor substituto em disponibilidade	Mario de Bittencourt

- 1 O Cathedratico Prof. Mario Totta está licenciado.
- 2 E' Cathedratico da 3.ª Cadeira o Prof. Thomaz Mariante.
- 3 O Cathedratico Prof. Gonçalves Carneiro, está licenciado.
- 4 E' Cathedratico o Prof. Alberto de Sousa.
- 5 O Cathedratico Prof. Velho Py está licenciado.
- 6 O Cathedratico Prof. Serapião Mariante está licenciado.

NOTA — A Faculdade não approva nem reprova as opiniões emitidas nas theses pelos seus autores.



O eminente
 Dr. Guilherme Pereira de Castro e Rio
 Grande de
 Borges
 com grande
 de
 Medeiros,
 -administrador affecto
 offerere
 Ditos



P. Pezzeri 5/17/926.

*Exmos. Srs. Membros da Congregação
da Faculdade de Medicina de Porto Alegre.*

A comissão abaixo firmada, eleita para se pronunciar sobre a these apresentada a esta Faculdade pelo doutorando Oscar Bernardo Pereira, candidato ao premio *Oswaldo Cruz*, vem gostosamente desobrigar-se daquella honrosa incumbencia.

Nossos Estatutos estabelecem que a recompensa acima mencionada deve ser conferida a um trabalho de valor sobre Microbiologia ou Hygiene.

Ora, a dissertação de que nos occupamos e que versa sobre questões da primeira daquellas cadeiras é incontestavelmente uma obra valiosa, já pela originalidade, em nosso meio, do assumpto tratado, já pelo apuro com que foi feita.

Nestas condições, a referida comissão é de parecer que seja concedido o premio *Oswaldo Cruz* á these intitulada *O fenómeno de d'Herelle e as infeções pelos bacillos coli e dysentericos*, e de auctoria do doutorando Oscar Bernardo Pereira.

Sala das sessões da Congregeção da Faculdade de Medicina de Porto Alegre, 20 de Dezembro de 1924.

A comissão:

(assig.) Prof. João Baptista Marques Pereira,
presidente.

Prof. Raymundo Gonçalves Vianna.
Prof. Heitor Annes Dias.

A meus queridos paes

Ao meu irmão Prof. Pereira Filho

A' minha cunhada e sobrinhos

A' minha noiva

Aos meus tios José Pereira Rojão
e Exma. Esposa

Aos meus primos e afilhado
Oscar Saraiva

Aos amigos Leopoldo Gomes
Saraiva e Antonio Malheiros Braga

Ao director da Hygiene Estadual
Dr. José Flores Soares

Ao Dr. José Carlos Ferreira

Aos meus collegas e amigos

Dos preclaros mestres, Profs.
Octavio de Souza, Annes Dias,
Sarmiento Barata, Sarmiento
Leite, Aurelio Py, Marques
Pereira, Martin Gomes
e Thomaz Maricante.

Aos auxiliares do Laboratorio Prof.
Pereira Filho: Dr. Gaspar Faria,
Dr. Rodolpho Eichenberg, Dra. Rita
Medeiros, Antonio Pereira Junior,
Justo Morem, Celso Freire, Sta.
Maria Castro, Sta. Julieta Rodri-
gues e Waldemar Silva.

Notulas Prévias

De grande complexidade são os processos de cura nas molestias infectuosas. Tão complexos e dissemelhantes são elles que não hesito em affirmar que nenhuma das theorias de immuidade actualmente conhecidas explicam sufficientemente os processos curadores naturaes e o estado de resistencia anomalo e exagerado do organismo animal em face das infecções ou intoxicações. Obvio é, pois, asseverar que a formação dos anti-corpos, ponto unico visado pelos magistraes trabalhos de Pasteur, Metchnikoff, Ehrlich, Nicolle e Bordet, não póde ser generalizada. E apenas bastará recordar, para termos innumerous testemunhos, as differenças clinicas observadas nos processos de cura das molestias infectuosas; na realidade, da evolução cyclica bastas vezes terminada em lyses das infecções typhicas e paratyphicas vão, evidentemente, grandes differenças da crise brutal das pneumonias francas, assim como da marcha regular da erysipela á convalescença da diphtheria. Verdaderamente a complexidade desses factos é muita, e sobremaneira difficil de explicação.

Novo aspecto dos processos curadores naturaes e da immuidade foram revelados pelas memoraveis observações de d'Herelle, que são inteiramente independentes da noção dos anti-corpos. Segundo esse sabio pesquisador, ha nas materias fecaes dos convalescentes de algumas molestias infectuosas (febre typhica e dysenteria bacillar, entre outras) um ser animado, filtravel, invisivel, assegurado da cura

pela destruição do microbio causador da molestia. Dos convalescentes e curados transmittir-se-ia elle aos individuos sãos que soffriam a infecção, sendo assim, nas epidemias, a immundade contagiosa (d'Herelle), noção inteiramente original e muito suggestiva. Esse verdadeiro microbio da immundade, no dizer de d'Herelle, é um bacteriophago obrigatorio ou um microbio dos microbios, cuja importancia em bacteriologia é consideravel e promete ser de grande interesse scientifico-pratico, pois se declaram verdadeiras epidemias nos tubos de cultura, havendo germes mortos, curados, resistentes, vaccinados e portadores de microbios como uma epidemia humana ou animal (epizootia). Curam-se até as cellulas microbianas "portadoras de germes" pela applicação do sôro anti-bacteriophago.

Por fim, inclue d'Herelle "esse micro-organismo" em novo genero para o qual propõe o termo *Bacteriophagum*, que lembra a sua propriedade principal. Denomina, consequentemente, *Bacteriophagum intestinale* o "germe" que se encontra no intestino dos dysentericos.

Persistam embora, em alguns desses pontos, divergencias de interpretação que ainda se não removeram, o certo é que não se pódem considerar refutadas essas investigações do sabio bacteriologo canadense (1), as quaes lhe valeram um diploma honorario da Universidade de Leyde, bem como a admiração sincera do mundo scientifico.

Tal é o assumpto do meu trabalho inaugural que divido em duas partes: a primeira dellas synthetisa o estado actual dos nossos conhecimentos sobre tão precioso e fertil ponto da bacteriologia; na segunda, inteiramente experimental, farei a identificação dos bacillos dysentericos em doentes de Porto Alegre, bem como estudarei as relações do bacteriophago com a therapeutica das infecções colibacillares e dysentericas, para o que tive o valioso auxilio dos Profs.

(1) Segundo NEDERLANDSCH TIJDSCHRIFT, nasceu em 1873 em Montreal.

Octavio de Souza, José Carlos Ferreira, Guerra Blessmann,
Octacilio Rosa e Luis Guedes.

Sou tambem devedor de gratidão aos Profs. Marques
Pereira e Pereira Filho pelos conselhos autorisados que
tanto influiram na minha educação bacteriologica.



O PHENOMENO DE D'HERELLE
E AS INFECCÕES PELOS
BACILLOS COLI E DYSENTERICOS

PRIMEIRA PARTE

CAPITULO I

Reminiscencia historica da descoberta do phenomeno bacteriophagico.

Adduz-se da consulta á litteratura bacteriologica que diversos experimentadores descreveram o phenomeno da lyse microbiana.

Na Microbiologia classica do Prof. Duciaux ⁽²⁾, lêm-se as interessantes pesquisas de Hankin nas aguas de alguns rios da India (Jumna e Ganges), onde encontrou aguas correntes tão altamente bactericidas como solutos de sublimado corrosivo, porém que ficavam inactivas depois da ebulição pouco demorada, sem haver precipitação ou outra mudança apparente de suas propriedades.

Hankin ⁽³⁾, em 1896, accentuou tambem essa acção bactericida sobre o vibrão cholericó, attribuindo-a a um principio volatil.

Frankland ⁽⁴⁾ fez analogas verificações nas aguas do rio Támesis que impediram o crescimento do colibacillo e do bacillo de Eberth-Gaffky.

Emmerich e Löw ⁽⁵⁾, por sua vez, verificaram a acção

(2) *Traité de Microbiologie*, tome II, pg. 721, 1899.

(3) *Annales de l'Institut Pasteur*, 1896, pgs. 511-523.

(4) *El fenómeno de d'Herelle* — Por el Professor Dr. R. Otto, Berlin, Institut "Robert Koch", pg. 5 — *Revista Medica de Hamburgo* — Año IV — 1923.

(5) *Zeitschr. f. Hyg.*, 1899, t. XXXI, pg. 1.

lysante dos fermentos bacterianos sobre as culturas da mesma especie ou de especies differentes (enzymas conformes ou heteroformes).

São de Malfitano (6), no entanto, as observações que os fermentos libertados pela autolyse do germe de Davaine nagua distillada são destruidos pelo aquecimento a 65°. Adicionando á essa mistura, liquido fresco proveniente da lyse de outras bacteridias, presenciou pouco a pouco a desintegração das bacterias aquecidas.

Evidentemente, Emmerich e Löw e não menos Gamaleia (7) comprehenderam a importancia dos fermentos bacterianos ou outros na immundade e na therapia das molestias infectuosas. Os primeiros autores imputam o apparecimento das fórmas de involução nas culturas velhas á acção dos fermentos bacterianos. Respeitante á acção bactericida do succo gastrico, já o haviam escripto algures que aquelles productos intervêm consideravelmente na immundade natural.

A publicação de E. W. Twort (8), de 1915, relata importantes pesquisas que passamos a synthetisar:

1) Pela sementeira sobre gelose simples da vaccina glycerinada, o autor encontrou micrococcos, em colonias brancas e opacas, que se tornaram, em tempo reduzido, transparentes e vitreas, parecendo estar lysadas.

2) Pelo exame microscopico, certificou-se que essas colonias eram formadas de detricos microbianos.

3) Duma colonia ligeiramente modificada, obteve, pela sementeira, algumas colonias alteradas e outras com aspecto normal, branco opaco.

4) Particulas das colonias transparentes, levadas aos bordos de colonias normaes, produziram a clarificação da

(6) C. R. de l'Acad. des Sc., 1900, 2 pg. 295.

(7) Cent. f. Bakter., 1899, t. XXVI, pg. 661.

(8) An investigation on the nature of the ultramicroscopic viruses — The Lancet, 4 dec. 1915, 189 — Part. II — pg. 1241-1243.

totalidade das colonias, a partir dos pontos tocados, havendo tambem a morte dos micrococos, que ficaram reduzidos a finas granulações.

5) O agente modificador actúa activamente sobre os microbios vivos, por isso as culturas préviamente mortas foram pouco alteradas, ao passo que as colonias amarellas, em crescimento, apresentaram maior sensibilidade.

6) Filtrados de emulsões de colonias transparentes impediram o desenvolvimento dos micrococos na gelose e quando depositos sobre colonias formadas, produziram zonas claras de lyse, que se estenderam pouco a pouco sobre a superficie total.

7) O principio activo, que actuava sobre bacillos do grupo coli, estaphylococos e outros, morria a 60°.

8) Lembrou a presença dum virus ultra-microscopico, parasito do microbio.

9) Sem demonstrações experimentaes, inclinou-se a crer na existencia duma substancia activa autolytica, originada pelo proprio microbio.

10) Resultados identicos obteve com germe do grupo coli-typhico, isolados de crianças com diarrhéa e do intestino de cães.

11) Previu verificações similares na dysenteria.

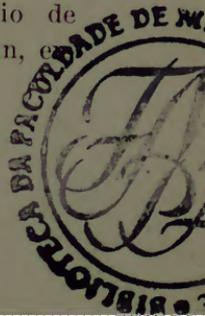
12) A substancia transparente manteve-se activa durante 6 mezes.

Taes são os pontos essenciaes do phenomeno de Twort.

Em artigos de Gildemeister ⁽⁹⁾ acha-se ainda a descrição das fórmias de transformações do bacillo typhico, colibacillo e bacillo dysenterico com um ensaio da classificação das colonias atypicas. Pelas photographias publicadas, vê-se que o autor manejou colonias influenciadas pelo principio lytico.

Devemos tambem relembrar que, no laboratorio de Haffkine, caldos de cultura de cocco-bacillos de Yersin, e

(9) Centralblatt für Bakteriologie — 1916-1917.



espaço de algumas horas, clarificaram-se até a limpidez completa.

Verificação analogia é a de Eliava nas aguas do rio Koura, que banha Tiflis. Depois de algumas horas na estufa, essa agua, adicionada de peptona, continha numerosos vibrões normaes; resemeaduras desse material em gelose deram culturas de vibrões. Decorridas 12 horas, esses germes desapareceram das culturas em agua peptonada e gelose. Este facto experimental, devéras impressionante, foi muitas vezes repetido e analysado em seus pormenores.

Essa série de observações demonstra que o agente lytico, que recebeu mais tarde a denominação de bacteriophago de d'Herelle, preocupou muitos bacteriologos, porém é incontestavelmente a d'Herelle que se deve a technica de isolamento, bem como o seu estudo scientifico, indicador de novos caminhos no terreno da immundade. A este notavel pesquisador pertence, pois, a prioridade da descoberta da bacteriophagia. De effeito, na sessão de 3 de Setembro de 1917, Roux apresentou á Academia de Sciencias de Paris, uma communicação de Felix d'Herelle, intitulada — Sobre um microbio invisivel antagonista dos bacillos dysentericos —, onde vem descripta a experiencia fundamental do phenomeno bacteriophagico, que consistiu em:

- 1) Semear em caldo 10 gottas de fézes de um doente do hospital Pasteur, gravemente atacado de dysenteria bacillar (Shiga-Kruse);

- 2) após uma noite de incubação no thermostato a 37°, filtrar a cultura em vela Chamberland L³;

- 3) fazer semeaduras de bacillos dysentericos de Shiga-Kruse em caldo e adicionar abi 10 gottas do filtrado, para levar em seguida essa mistura á estufa;

- 4) culturas typicas de bacillos dysentericos são obtidas diariamente com technica identica, com excepção unicamente de um dia que coincidiu com as francas melhoras

do paciente, seguida de plena convalescença. O caldo de cultura semeado ficou aparentemente esteril;

5) adicionar a esse meio uma emulsão de bacillos Shiga-Kruse, duma cultura nova em gelose simples, até obter leve opalescência; com 12 horas de incubação na estufa, a cultura ficou inteiramente clarificada, porque havia no filtrado uma substancia lysante dos bacillos dysentericos;

6) uma gotta do meio lysado provocou, em 15 horas, a lyse de uma segunda cultura: uma gotta desta a de uma terceira, etc., obtendo-se assim a lyse cada vez mais rapidamente. Houve então continuação do phenomeno em série, com exaltação em cada passagem;

7) pelo transporte em quatro tubos de gelose inclinada de uma gotta de mistura bacteriophago (meio lysante) + cultura nova de bacillo Shiga-Kruse em caldo, antes da lyse, observaram-se aspectos caracteristicos e variaveis com o tempo de incubação. No primeiro tubo de gelose, semeado logo depois da mistura bacteriophago+cultura Shiga-Kruse, notou-se desenvolvimento normal de bacillos dysentericos, com zonas circulares, de 2 mm. de diametro, sem cultura visivel. No segundo tubo, semeado após uma hora de incubação, viram-se seis zonas aparentemente vasias; no terceiro tubo, com mistura incubada durante duas horas, obtiveram-se 100 buracos; finalmente não se conseguiu vêr culturas apparentes no quarto tubo, semeado tres horas depois da mistura principio lytico+bacteria;

8) as diversas substancias lyticas que d'Herelle isolou eram positivamente lysantes do bacillo Shiga-Kruse, entretanto, por algumas passagens em symbiose com os bacillos paradysentericos typo Hiss ou Flexner, ficaram tambem antagonistas desses germes;

9) o principio anti-Shiga-Kruse não teve poder pathogenico para os animaes de laboratorio;

10) não achou microbios antagonistas nas fézes dos

dysentericos no periodo de estadio, nem nas materias fecaes dos individuos sãos;

11) conclue — que, na dysenteria bacillar, ha immunnidade antimicrobiana heterologa produzida por um micro-organismo antagonista, ao lado da immunnidade antitonica homologa, que provém directamente do organismo attingido;

12) o principio lytico não ataca os bacillos dysentericos mortos pelo calor;

13) goza da propriedade de immunisar o coelho contra bacillos de Shiga-Kruse;

14) factos semelhantes, em dois casos de febres paratyphicas, fizeram d'Herelle aventar a hypothese que esse phenomeno não é especial á dysenteria.

Por onde se vê que o phenomeno de Twort e o de d'Herelle não são identicos, pois nas culturas secundarias ha differenças bem accentuadas. Demais, nessas mesmas culturas, as bacterias resistentes morrem a 60°, ao passo que o principio lytico resiste até a temperatura de 65°. Attendendo-se á temperatura de destruição, é provavel ainda que, no dizer de d'Herelle, o principio activo de Twort seja de natureza diastásica.

Por ultimo, numerosos trabalhos experimentaes, de data recente, demonstram a complexidade e o alto interesse dessas investigações, principalmente no que concerne directamente aos problemas da immunnidade.

CAPITULO II

Bacteriophagotechnia

“La technique en elle même est simple: elle devint compliquée du fait de l'appareillage spécial qu'il faut posséder, des garanties de sécurité dont il faut s'entourer et je crois que seul un spécialiste, habitué à le manier depuis longtemps est susceptible de préparer rapidement et surément un bactériophage actif sur un microbe donné.”

HAUDUROY

A technica de pesquisa do bacteriophago, aconselhada por d'Herelle, assim se realiza:

1.º) Tomam-se materias fecaes (ou qualquer outro producto no qual se suppõe haver o principio lytico) na dóse de 2 a 5 grs. para 50 cm.³ de caldo simples, onde se emulsionam cuidadosamente.

2.º) Depois desta emulsão ter ficado 12 a 18 horas na estufa a 37°, é filtrada em papel Chardin com terra de infusorios e depois em vela Chamberland L² ou L³, disposta no aparelho de Martin.

3.º) Examina-se a cultura do germe a lysar, que, no momento da experimentação, não deve ter mais de 24 horas, para o que se semeou na vespera com essa bacteria um tubo de gelose inclinada; desta cultura recente retiram-se germes para ser inoculados em quatro tubos de caldo peptonado.

4.º) Ao primeiro tubo desse meio cultural adiciona-se uma gotta de filtrado, ao segundo 10 gottas e ao terceiro

2 cm.³. O ultimo tubo serve de testemunho. Levando-se este caldo semeado á estufa a 37°, durante 12.-18 horas, póde-se observar:

- a) a turvação dos tres tubos de caldo pelo desenvolvimento do bacillo dysenterico;
- b) a turvação de um ou dois tubos dentre elles;
- c) a limpidez dos tres tubos.

No ultimo caso, ha bacteriophago muito activo; no segundo, principio lysante de actividade média e no primeiro, não ha bacteriophago ou a bacteria é resistente, sahindo-se deste dilemma pela semeadura de 1/50 cm.³ de cada um dos tres caldos turvos, por meio de uma alça de platina, em tres tubos de gelose inclinada, que são collocados na estufa a 37°.

5.º) Desenvolvimento normal de bacillos dysentericos nos tres tubos de gelose, significa ausencia de principio lysante activo para o bacillo semeado.

6.º) Desenvolvimento anormal da estria bacillar, indica a presença do agente lytico, revelado na camada microbiana pelas zonas circulares, desprovidas de cultura apparente.

Devido á confluencia das zonas vasias, a estria da cultura apresenta-se recortada ou corroida; por vezes vêm-se sómente colonias isoladas ou fragmentos da estria cultural. Quando o principio lytico é abundante, não se formam culturas apparentes na superficie da gelose inclinada.

Technica igual é utilizada para os meios lysados em que se encontram os bacteriophagos de actividade média ou forte.

Querendo-se verificar o poder lysante de um bacteriophago em face de varias bacterias, tomam-se cinco séries de tres tubos de caldo simples ou de Martin, para se semear, em cada série, um dos germes a lysar. Junta-se uma gotta do filtrado ao primeiro tubo das cinco séries, dez gottas ao segundo, dois cm.³ ao terceiro, seguindo-se depois

processo indicado para a experimentação bacteriophagica com a bacteria unica.

Seja o caso de verificar o poder do bacteriophago em face dos bacillos de Shiga-Kruse, Flexner, Hiss, Eberth-Gaffky, Emmerich. De accôrdo, pois, com a indicação de d'Herelle, procederemos, em synthese, como se segue:

1.^a série { 1.^o tubo: bacillo Shiga-Kruse + 1 gotta do filtrado
2.^o tubo: bacillo Shiga-Kruse + 10 gottas do filtrado
3.^o tubo: bacillo Shiga-Kruse + 2 cm.³ do filtrado

2.^a série { 1.^o tubo: bacillo Flexner + 1 gotta do filtrado
2.^o tubo: bacillo Flexner + 10 gottas do filtrado
3.^o tubo: bacillo Flexner + 2 cm.³ do filtrado

3.^a série { 1.^o tubo: bacillo Hiss + 1 gotta do filtrado
2.^o tubo: bacillo Hiss + 10 gottas do filtrado
3.^o tubo: bacillo Hiss + 2 cm.³ do filtrado

4.^a série { 1.^o tubo: bacillo typhico + 1 gotta do filtrado
2.^o tubo: bacillo typhico + 10 gottas do filtrado
3.^o tubo: bacillo typhico + 2 cm.³ do filtrado

5.^a série { 1.^o tubo: colibacillo + 1 gotta do filtrado
2.^o tubo: colibacillo + 10 gottas do filtrado
3.^o tubo: colibacillo + 2 cm.³ do filtrado

Incubação na estufa a 37°, durante 12 a 18 horas. Re-
semeaduras desse material em gelose inclinada.

Lêm-se os resultados no fim de 12, 24 ou 48 horas.

Faz-se mistér ainda — accentúa d'Herelle — regenerar e esterilisar cuidadosamente as velas. Com pressão de 10 a 15 cm.³ de mercúrio, a filtração será feita com rapidez de 10 a 15 minutos no maximo. E' tambem indispensavel que as bacterias a lysar não sejam resistentes nem tenham

propriedades lysogenicas (isto é, portadoras de bacteriophago).

Cumpre-nos obterer, todavia, que ha technicas mais sensiveis do que a mencionada.

E' bem que se não desconheça que a sementeura simultanea em caldo de bacterias e bacteriophagos, com 12 horas de incubação na estufa a 37°, faz que os corpos microbianos sejam atacados logo ao nascer, não adquirindo, deste modo, immundade para o principio lytico.

Mercê de identico artificio technico, Hauduroy preconisa proceder ainda mais seguro, que consiste em collocar a bacteria em condições desfavoraveis de desenvolvimento, sem embaraçar, comtudo, a acção do bacteriophago. Salientem-se, pois, miudamente os diversos tempos do excellente processo de Hauduroy:

1.º) Substancias solidas ou semi-liquidas (fézes, pús ou outro material que se supponha ser portador de bacteriophago) são trituradas ou simplesmente diluidas em caldo ordinario, pondo-se após a emulsão na estufa a 37°, durante 18 horas.

2.º) Realisa-se a primeira filtração dessa mistura em papel de filtro dobrado, sobre o qual se espalhou préviamente diluição aquosa de terra de infusorios. Este tempo é indispensavel quando o meio é rico de materias organicas ou abundante em germes.

3.º) O filtrado é expurgado de bacterias em vela Chamberland L³, adaptada ao aparelho de filtração pelo vazio.

4.º) Dispõem-se em série seis tubos de caldo ordinario. A cada um delles juntam-se, asepticamente, duas ou tres gottas de uma cultura microbiana em caldo, de menos de 24 horas — e 0,5 a 1 cm.³ do liquido filtrado.

5.º) Mantem-se esse meio semeado na temperatura do laboratorio.

6.º) Após 12, 24 e 48 horas se procede á leitura dos resultados, comparando o aspecto desses tubos com os testemunhos, não adicionados de filtrado.

Muito para cuidados são as causas de erro nessas investigações. Não se devem esquecer as provas de esterilização dos filtros, nem a mais rigorosa asepsia pessoal. Não é, outrossim, permittida a confusão do bacteriophago com o “principio bacteriolysante não bacteriophago”, descoberto por d’Herelle no intestino dos cholericos e por Hauduroy nas fézes dos typhicos. De natureza desconhecida, esse principio não fórma zonas claras nos meios solidos.

E’, ainda, de advertir que não ha — na pratica diaria — processo simples que faça uma raça resistente perder a sua resistencia natural. Por via de regra, remedeia-se a este inconveniente examinando-se, na mesma occasião, o poder do principio lysante sobre diversas bacterias.

Releva tambem lembrar que o meio mais efficaz, para isolar o microbio lysogenico do seu principio activo, consiste em repicagens em série sobre gelose ordinaria (15 a 20), com a cautela de semear de cada vez somente uma colonia.

Merece a pena consignar, ao demais, que as raças resistentes (não lysaveis) pódem possuir propriedades lysogenicas, o que quer dizer que, misturadas ás culturas de bacterias normaes, provocam a lyse destas ultimas. São, pois, verdadeiras portadoras de bacteriophagos.

Encontram-se, demais disso, culturas que contêm ao mesmo tempo bacterias lysaveis e bacterias resistentes (culturas mixtas de d’Herelle).

Miudeadas essas causas de interpretações erroneas, assignalo afinal a variante technica aconselhada pelo Prof. R. Kraus e Paulo Marrey para o isolamento do bacteriophago.

1) Diluem-se em agua physiologica as materias fecaes, conservadas préviamente alguns dias na geleira.

2) Filtra-se a emulsão em velas Berkefeld.

3) Em seguida 2, 4, 6 e mais gottas do filtrado são adicionadas a 19 cc. de caldo simples, onde, na mesma

ocasião, dilue-se uma alça duma cultura microbiana em caldo, de 24 horas.

4) Depois de 24 a 48 horas, faz-se resemeadura duma alça dessa cultura em gelose inclinada, observando-se ahí no fim de 24 horas o phenomeno de d'Herelle.

Na mór parte das vezes, o bacteriophago, no momento do isolamento, não produz a lyse da diluição bacteriana. Ha então necessidade de exaltar o seu poder por um dos processos que vou descrever particularizadamente:

1) EXALTAÇÃO DA VIRULENCIA DO BACTERIOPHAGO PELAS PASSAGENS SUCCESSIVAS EM CULTURAS DE BACTERIAS

1) Verificada a existencia do principio lysante activo, pela sementeira da emulsão microbiana em gelose inclinada, separam-se as bacterias da substancias lytica pela filtração da mistura em papel Chardin com terra de infusorios e depois em vela de Chamberland (L² ou L³).

2) Com bacterias recentemente semeadas, prepara-se uma emulsão levemente opalina, onde se adicionam 4 a 5 gottas do filtrado que contém o bacteriophago.

3) Si depois de 24 horas de permanencia no thermostat a 37°, não houver a lyse da emulsão microbiana, passe-se-a em papel Chardin recoberto de terra de infusorios e, por fim, em vela Chamberland. Juntam-se 4 a 5 gottas deste segundo filtrado a uma terceira emulsão de germes.

4) Fazem-se assim tantas passagens quantas forem necessarias para que se observe a lyse microbiana total. Ha, successivamente, com este proceder augmento da actividade do bacteriophago, o que se demonstra pela semeadura de alças de germes de cada passagem em gelose inclinada. Nestas condições, não é infrequente observar no:

1.º tubo de gelose — poucas zonas claras.

- 2.º tubo de gelose — muitas zonas claras.
- 3.º tubo de gelose — camada microbiana descontínua pela abundancia de bacteriophagos.
- 4.º tubo de gelose — algumas colonias isoladas de bacterias.
- 5.º tubo de gelose — raras colonias de bacterias.
- 6.º tubo de gelose — ausencia de colonias bacterianas.

Ao envez desta technica, pódem-se praticar as passagens successivas na superficie da gelose commum:

II) EXALTAÇÃO DA VIRULENCIA DO BACTERIOPHAGO, EM GELOSE INCLINADA, PELAS PASSAGENS SUCCESSIVAS DE GERMES DA VISI-NHANÇA DE ZONAS CLARAS

1) Com um fio de platina, retira-se das proximidades de uma zona clara pequena porção de cultura microbiana que é semeada em gelose inclinada.

2) Desta segunda cultura, colhem-se germes nos limites duma zona clara, com os quaes se fazem sementeiras em estria num terceiro tubo de gelose.

3) Dahi se retira material, em identicas condições, para o 4.º tubo de gelose, depois para o 5.º e assim até se observar sómente fragmentos de cultura na superficie do meio solido, que é lavado cautelosamente com caldo simples.

4) Essa diluição é filtrada em papel Chardin + terra de infusorios e, depois, em vela.

Regra geral, ha nesse filtrado principio activo capaz de lysar a emulsão microbiana em caldo.

III) ISOLAMENTO DO BACTERIOPHAGO PELA TEMPERATURA 58 - 60°

Póde-se nesta technica substituir a filtração da mistura bacteriophago + bacterias pelo aquecimento a 58 - 60°, que não destróe o bacteriophago e mata a maioria dos germes não esporulados. D'Herelle, no entanto, prefere a filtração.

IV) AUGMENTO DA ACTIVIDADE DO BACTERIO- PHAGO "IN VIVO"

1) Administram-se por ingestão a uma cobaia 2 cm.³ do filtrado com o principio lytico; na mesma occasião inoculam-se no peritoneo do mesmo animal alguns cm.³ da cultura lysavel pelo bacteriophago.

2) Dentró de 12 a 18 horas, injectam-se novamente por via peritoneal 10 cc. de caldo esteril.

3) Minutos após, com uma pipeta Pasteur, extráe-se certa porção de exsudato peritoneal que se addiciona a alguns centimetros cubicos de agua citratada contida num tubo esteril.

4) Essa mistura, incubada durante algumas horas na estufa a 37°, depois filtrada em papel Chardin + terra de infusorios e, finalmente, em vela Chamberland, é nitidamente mais lysante que o bacteriophago ingerido pela cobaia.

Nas technicas descriptas, são, em synthese, factores a considerar:

1) a quantidade de bacillos existentes no meio cultural;

2) a quantidade e a actividade dos bacteriophagos.

O titulo da emulsão microbiana póde variar desde algumas unidades até varios milhões por cc. Empregando-se emulsões bacterianas muito concentradas, o meio mantem-se ainda mais ou menos turvo no fim da experimentação, parecendo que os lysatos dos bacillos impedem a acção dis-

solvente do bacteriophago, sem prejudicar contudo a sua acção bactericida, que é sempre total.

Semeaduras de poucos principios bacteriophagos permitem que a turvação da emulsão bacteriana aumente pouco a pouco durante as 5 ou 6 primeiras horas; depois o aspecto turvo desaparece, cada vez mais rapidamente, para o meio ficar inteiramente limpido no fim de mais 2 horas. Ao contrario, com semeaduras massigas de bacteriophago, a acção lytica inicia-se de modo intenso.

Por fim, vem de molde pôr aqui em relevo os processos de doseamento do bacteriophago — PROCESSO DE D'HERELLE — publicado em 19 de Novembro de 1919, na "Société de Biologie", que consiste em addicionar a 10 cc. de uma emulsão com 250 milhões de microbios por cc. $1/50.000$ de cc. de principio lytico. Em seguida, uma alça dessa mistura (seja $1/100$ de cc. que contém $1/50.000.000$ de cm.^3 da cultura do bacteriophago) e semeada em gelose inclinada. Conta-se então o numero de zonas claras e calcula-se a actividade do bacteriophago.

Exemplifiquemos para melhor comprehensão. Supponhamos que se contem 61 espaços claros: 61 por $1/50.000.000$ de cm.^3 corresponde a 3.050.000.000 de bacteriophagos por cm.^3 .

PROCESSO DE APPELMANS — E' baseado no processo de diluições successivas preconizado por Miquel para a analyse da agua. Com effeito, em tubos semeados com o germe lysavel, addicionam-se quantidades decrescentes do bacteriophago $1/10$, $1/100$ $1/1000$ até 1.000.000.000.000.

Leitura dos resultados:

- 1) ausencia do bacteriophago = desenvolvimento normal do germe;
- 2) presença do bacteriophago = lyse microbiana immediata ou ulterior.

PROCESSO DE ANDRÉ GRATIA e Srta. LOÏS DE KRUIF — Consiste em introduzir 0,5 de principio lytico

em um tubo com 4,5 cc. de caldo ordinario (diluição a 1/10). Depois da mistura, retira-se 0,5 cc. desta diluição que se leva a um segundo tubo com 4,5 cc. de caldo (diluição a 1/100). Com technica idéntica, faz-se a série de 12 tubos, continuando sempre com as diluições ao decimo. Semear-se, por fim, uma gotta da cultura recente do germe lysavel.

O bacteriophago não se acha sómente nas fézes dos convalescentes de molestias infecciosas (febre typhoide, dysenteria, etc.). E', ao contrario, muito espalhado na natureza. Dumas e Martin verificaram que se encontra 5 vezes sobre 8 nas fézes de individuos atacados anteriormente de infecção intestinal. Foi igualmente evidenciado nas materias fecaes da cobaia, assim como nas fézes do duodeno, jejuno e colon de um doente que morreu de hemorragia meningéa.

E' observavel na terra e nas aguas de cidades (agua do Sena).

A technica de Dumas e Martin consistiu em semear 150 cc. d'agua em 150 cc. de caldo simples; filtrar em vela Chamberland L³, depois da permanencia do meio cultural na estufa durante 24 horas. O filtrado lysou o bacillo dysenterico de Shiga-Kruse e o colibacillo, havendo a reproducção do phenomeno em série e desenvolvimento de colonias caracteristicas. Era, entretanto, inactivo para o vibrão cholérico.

Achou-se ainda na agua do mar.

Como explicar, pois, essas verificações, em apparencia paradoxaes? Hauduroy diz que a agua e a terra pôdem ser contaminadas pelas materias fecaes, resistindo unicamente o bacteriophago á acção do tempo e de outros factores nocivos ás bacterias. Alois Bachmann, investigando o conteúdo de poços cegos de diferentes pontos dos suburbios de Buenos Ayres e sitios visinhos, em 7 observações conseguiu encontrar o bacteriophago em 6 casos. Affirma mesmo que alguns desses principios lysantes têm uma actividade



inicial muito maior que os isolados directamente das fézes de doentes. Adicionou 1 cc. do producto extrahido de um poço cego da rua Famatina, a 150 cc. de caldo simples. Depois da incubação na estufa a 37° durante 24 horas, filtrou a mistura em papel e depois em vela Berkefeld. Effectivou então a seguinte mistura:

1	1 cc.	0,5 cc.	3,7 cc.	limpido	limpido
2	1 cc.	0,3 cc.	3,9 cc.	limpido	limpido
3	1 cc.	0,1 cc.	3,5 cc.	limpido	limpido

Mui curiosa é ainda a presença do bacteriophago no sangue dos typhicos convalescentes (Hauduroy) e nas urinas de alguns pyelo-nephriticos (d'Herelle).

Combiesco diz, além disso, que o principio lytico, susceptivel de produzir o phenomeno de d'Herelle, é encontrado na enterokinase e na trypsina do commercio. Procura explicar os resultados positivos obtidos com a trypsina, dizendo que os productos commerciaes contêm ordinariamente principio lysante.

Sem embargo, Flu acha que a trypsina não possui acção sobre os germes vivos e não provoca a lyse transmissivel duma cultura bacteriana pura sem bacteriophago. Na verdade, das pesquisas de Mouton, de Fermi, Kantorowicz, Kruse e Jochmann resultam que os fermentos proteolyticos não actuam sobre os germes vivos.

Bail, Otto e Winkler, Kraus e Marrey, Weinberg e Aznar, Lemos Monteiro retiraram ainda directamente, de culturas de differentes especies, principios bacteriolyticos capazes de realisar uma série indefinida de passagens.

Deduz-se, finalmente, do trabalho de Guntza Petrovanu que alguns exsudatos amygdalianos, especialmente os exsudatos escarlatinosos, contêm um principio lytico para al-

gumas raças de colibacillo, sem que esse germe fizesse parte da flóra dessas anginas.

E. B. Mc Kinley⁽¹⁰⁾ publicou verificações de “substancia bacteriophágica” em tecidos normaes e pathologicos do homem e dos animaes. Encontrou bacteriophagos em 17 casos dos 36 observados. Houve transmissão em série, produzindo-se as zonas caracteristicas em cultura em meios solidos, pelo que considera essa substancia lytica como um verdadeiro bacteriophago.

Taes em conjuncto os pontos que merecem citação no capitulo da technica do phenomeno d’Herelle.

(10) Journal of Laboratory and Clinical Medicine (9-XII-1923).

CAPITULO III

Pontos capitaes das propriedades do bacteriophago

Discorrendo sobre as propriedades do principio bacteriophagico, querem-se citadas sómente as observações sujeitas a accurada analyse. Assim, mistér se faz bem esmiuçar propriedades physicas ou biologicas estudadas e confirmadas por diversos experimentadores.

Consideremos primeiro a *filtrabilidade*, que é a base da technica do isolamento do bacteriophago. Geralmente é facto comprovado que o principio lysante atravessa as membranas permeaveis ás proteínas do sôro sanguineo. Não são retidas, pois, pelos filtros Chamberland, Berkefeld, filtros-membranas de Haen, de póros maiores, e saccoes de colloidio. Convém, todavia, saber que não passam atravez dos dialysadores de Abderhalden, visto que correspondem em tamanho ás moleculas albuminoides. Atravessam, comtudo, as membranas de Haen menos bem que as enzymas (Prausnitz).

Prausnitz conclue que as dimensões do bacteriophago não são inferiores a 0,02. Para Levaditi, o virus da vaccina, da raiva e da encephalite lethargica, apresentam iguaes dimensões.

Quanto á resistencia do principio lytico ao *calor*, verificou-se que a temperatura de inactivação não é igual á temperatura de morte do microbio lysavel. Nada ha, porém, que faça o bacteriophago inactivado a 70° readquirir, por si só, a actividade primitiva.

No entanto, via de regra, com duas ou tres passagens, ha reaparecimento do phenomeno lytico. De facto, filtrando-se a mistura bacteriophago aquecido + bacteria e juntando-se o filtrado ao microbio lysavel, verifica-se que, pela repetição desta technica, duas ou tres vezes, o principio lytico torna a adquirir a acção anterior.

E' sabido tambem que ha relação intima entre a temperatura de inactivação e o poder lytico do bacteriophago. E' elle, na verdade, tanto mais resistente quanto maior fôr o seu poder lysante. Effectivamente, exaltando-se a virulencia de um espécime, por passagens successivas, observa-se que fica cada vez mais resistente ao calor.

E' por igual comprovado que a temperatura de 102° em meio humido ou 135° a secco destróe o principio lytico, impossibilitando assim o reaparecimento do phenomeno pelas filtrações successivas.

Resiste, ainda, ao aquecimento prolongado á temperatura de 60 - 65° (Bordet e Ciuca) — até a 70° durante 30 minutos (Anna Kuttner) e 70° em 10 aquecimentos diferentes (Kabeshima). — Morre, consoante Kabeshima, a 75°. Para d'Herelle, o bacteriophago morre a 65° em 30 minutos.

De ordinario, a acção do tempo sobre o bacteriophago varia com o espécime estudado.

Cousa mui commum é a conservação da actividade bacteriophagica durante diversos annos (7 a 8 annos pelo menos).

Casos ha, ao demais, em que todo o poder lytico desaparece em alguns mezes. Merece apontada ainda a igualdade de resistencia do bacteriophago e bacterias banaes á acção dos raios ultra-violetas e ás emanções do radio.

Zoeller escolheu, para estudar esse poder destruidor dos raios ultra-violetas, um bacteriophago de virulencia média, activo sobre o germe de Shiga-Kruse. Diluiu em agua physiologica algumas gottas do caldo com bacteriophago, com o fim de evitar que os raios ultra-violetas fos-

sem retidos pelo caldo ordinario. Depois de 15 minutos de exposição ás irradiações, a uma distancia sufficiente para que o calor não interviesse (45° ao thermometro), observou pela semeadura em meios culturaes convenientes:

- 1) que o germe Shiga-Kruse morre em 10 minutos;
- 2) que o bacteriophago foi destruido;
- 3) que o sôro agglutinante paratyphico B a 1/2.500 perdeu parte de seu poder agglutinante (inferior a 1/100).

Brutsaert, no laboratorio de bacteriologia da Universidade de Louvain, em 1923, verificou que um bacteriophago Herelle P I de virulencia média é apenas attenuado pela irradiação durante um dia, readquirindo a virulencia primitiva logo pela primeira passagem. Pela irradiação menos prolongada, o mesmo principio lytico não é modificado.

Outro ponto interessante a estudar é a *acção do fluoreto de sodio*.

D'Herelle demonstrou que o bacteriophago conserva-se durante muito tempo activo em soluto de fluoreto de sodio a 1 %. Em taes condições, para alguns physiologistas, toda actividade vital é supprimida, affirmando até Kabeshima e outros experimentadores que o bacteriophago não é um ser vivo. Ora tal conclusão, baseado nessa experiencia, não é verdadeira, porque bacterias não esporuladas (bacillos dysentericos e colibacillos) cultivam-se facilmente em caldos adicionados de fluoreto de sodio a 2 por 1.000.

Para Brutsaert, a influencia do fluoreto de sodio varia de um principio lysante a outro. Numa concentração fluoretada a 10 por 1.000, alguns germes ainda se desenvolvem, ao passo que, na maioria dos casos, o principio lysante não se multiplica.

Não se devem esquecer, outrosim, as propriedades da *glycerina sobre o bacteriophago*. Caublott affirma que o bacteriophago não morre, durante muito tempo, na glycerina-caldo ou glycerina-sôro physiologico, em partes iguaes, diluições essas que possuem acção impediante sobre o desenvolvimento de alguns germes. Emulsões microbianas em agua glyce-



rinada são lysadas pelo principio de d'Herelle, ficando este ultimo vivo na glicerina depois da evaporação lenta da agua existente no meio. Todavia, Hauduroy diz que o bacteriophago é destruido pela glicerina. Para d'Herelle o caldo glicerinado a 30 % não exerce acção nociva sobre o principio lysante, impedindo, no entanto, a reproducção microbiana.

Igualmente característica é a *absorção do bacteriophago pelos corpos inertes*.

Caublot (1923) fez a proposito rigorosa prova experimental:

Num tubo de ensaio esteril juntou terra de infusorios esterilizada no autoclave a 120° durante 20 minutos, e 20 gottas de bacteriophago anti-coli, mantendo esse contacto alguns instantes. Centrifugada a mistura a 3.000 voltas, durante 10 minutos, decantou o liquido superior e substituiu-o pela agua physiologica, repetindo depois as centrifugações e lavagens cinco vezes. Com o liquido da ultima lavagem, houve lyse imperfeita de uma cultura nova de coli lysavel, ao passo que o sedimento levado a uma emulsão nova do mesmo coli, produziu a lyse completa. O principio lytico é ainda fixado pelos corpos microbianos mortos, assim como pelo negro animal — factos esses commumente verificados com os virus filtraveis e toxinas microbianas.

Releva salientar ainda que o bacteriophago *não actúa sobre os microbios mortos por qualquer processo* (aquecimento, antisepticos ou envelhecimento).

Semeado simultaneamente com o germe a lysar, o principio lytico inibe inteiramente o desenvolvimento deste ultimo, ficando o meio com propriedades lysogenicas.

Recentes estudos trouxeram documentação valiosa no que tange á influencia pela concentração do meio em iões Ph. Favorecido pela alcalinidade até Ph 8,5, o phenomeno lytico é entravado em Ph 7 e 6,8, havendo embaraço completo de acção a Ph 2,5 — bem entendido os limites de ve-

getação dos germes empregado, sendo entre Ph 6,2 — Ph 8, na temperatura de 37°.

Em conclusão, conforme Gratia, uma alcalinidade forte (Ph 8,5) ou uma acidez do meio evita a lyse dos germes.

Segundo Costa Cruz, em soluto acido, o principio bacteriophago floclula. A acidez não sendo muito forte, essa floclulação é reversivel — o que, para esse notavel pesquisador brasileiro, fala contra a natureza viva do bacteriophago

Outro phenomeno importante é a *acção destruidora dos saes neutros de quinina*. Serão apenas referidas, a seguir, os pontos mais interessantes das experiencias de G. Eliava e Pozerski que demonstraram a *acção destruidora dos saes neutros de quinina sobre o principio lytico*.

Para tal fim diluiram primeiro 5 gottas de caldo bacteriophago em 10 cc. de agua physiologica. Uma alça desta mistura addicionada a emulsão de bacillo Shiga-Kruse provocou, pela sementeira immediata em gelose, zonas claras confluentes de bacteriophago, em numero de 80 a 90, e, em caldo, a lyse total. Addicionaram quantidades variaveis de soluto esterilizado de chlorhydrato de quinina a 10 % a essa diluição de bacteriophago em agua salgada, cujo poder lytico fôra medido pela diminuição do diametro das manchas negativas e ainda pela rarefação do numero dellas.

Os solutos de chlorhydrato de quinina a 0,75 % modificaram inteiramente o aspecto das culturas em gelose: as zonas claras de 2 mm. (diametro normal) a uma cabeça de alfinete diminuiram em numero (em lugar de 80, sómente 10 a 15). A 1 % de sal de quinina houve destruição completa do poder bacteriophago.

Para maior clareza, podemos desta fórmula enquadrar os resultados obtidos pelos autores, em meios culturaes, nos limites de Ph entre 2,5 e 8,4.

N.º dos tubos	5	4	3	2	1
Diluição do bacteriophago em agua physiologica	10 cc.	10 cc.	10 cc.	10 cc.	10 cc.
Soluto aquoso de chlorhydrato de quinina a 1 %	0	0,25	0,50	0,75	1 cc.
24 horas no thermostato a 37º					
Resultados das sementeiras de uma alça de mistura	em caldo lyse — em gelose — 80 a 90 confluentes de diametro igual (cerca de 2 mm.)	em caldo lyse — em gelose — co-	em caldo lyse — em gelose — co-	em caldo lyse — em gelose — 10 a 15 manchas de diametro variavel	em caldo lyse — ausencia de manchas de diametro variavel

É possível que esta acção destruidora da quinina *in vitro*, se realise também *in vivo*, donde a explicação de innumeros factos observáveis em tratados simultaneamente pelo principio lytico e aquelle alcaloide.

Com o fim de evitar a supressão do bacteriophago, agente da cura natural e antagonista dos germes especificos, contra-indica-se a administração da quinina aos typhicos, paratyphicos e dysentericos.

São também do patrimonio classico o *modo de agir de diversas substancias chemicas* sobre o agente lytico. No dizer de Bruynoghe e Brutsaert, os differentes bacteriophagos resistem desigualmente ao iodeto de potassio, chloreto de manganez e sulfocyaneto de potassio. Resistem, não obstante, á acção do chloroformio, ether, acetona, xylol ordinario (2,5 per %). O poder lytico é momentaneamente supprimido pela essencia de thymo ou de cravo.

Wolff e Janzen affirmam que a optochina, eucupina, vucina (derivados da quinina), chinosol, yatren, tryptaflavina, rivanol, verde malachita actuam sobre os bacteriophagos anti-coli, anti-typhico, anti-dysenterico e anti-estaphylococcico. Adicionando-se uma certa quantidade de um dos antisepticos mencionados numa cultura de um desses germes, misturada ao principio lytico correspondente, não se observam os espaços claros nas culturas de 24 horas, em gelose simples.

Revela ainda frisar a *adsorção do principio bacteriophago pelos colloides e pelo hydroxydo de aluminio*. Em resumo, Necker verificou que a actividade do bacteriophago sobre o bacillo de d'Herelle é fortemente inhibida pelos colloides mineraes (iodargol, electromanganol, electroseleonio, electrocuprol, electrargol, electrotorhodio). Segundo o resultado obtido com o hydroxydo de aluminio essa diminuição de actividade é devida a um phenomeno de adsorção. Doerr não observou a acção lytica do bacteriophago em meios gelatinados. Para Brutsaert, o bacteriophago não

é activo no caldo gelatinado. Alguns espécimes são ahí cultivaveis, outros desaparecem pelas repicagens successivas.

A albumina do ovo adicionada á agua peptonada simples, em grande quantidade, pôde impedir o phenomeno de d'Herelle; seja uma mistura de agua peptonada + albumina de ovo na proporção de 18 gottas por cm.³.

Não se ha de esquecer, outrosim, que o bacteriophago é susceptivel de adaptação, propriedade esta brillantemente demonstrada por d'Herelle e por numerosos pesquisadores.

Bablet e d'Herelle verificaram mais que o principio lytico habitua-se á acção nociva da glycerina. Ainda Wolff e Janzen, do laboratorio de Hygiene da Universidade de Amsterdam, fizeram observações analogas com o chinosol (a 1/600) e dizem até que uma fraca quantidade de anti-septico pôde favorecer a acção do bacteriophago.

A gelose, a gomma (Boerr e Berger) impedem a lyse microbiana transmissivel.

Nakamura notou tambem que a addição ao caldo de cultura de substancias gommosas inibe a acção bacteriophagica.

Citemos ultimamente que o agente lysante é polyvalente, agindo sobre diversos germes, isto é, por exemplo, tem propriedades lysantes em face do bacillo de Eberth, bacillo de Shiga-Kruse e colibacillo.

Diversos são, portanto, os germes lysaveis pelo bacteriophago. Entre elles, estão as bacterias do grupo coli-typhico, o estaphylococco, o enterococco, o bacillo pyocyanico, o cocco-bacillo de Yersin, o vibrião de Koch, o *Bact. typhi murium*, o *B. cholerae suum*, o *B. sanguinarum*, o germe do "Barbone" dos buffalos, o pneumobacillo de Friedländer.

As raças immoveis são as mais lysaveis, bacillos dysentericos, bacillo da typhose das gallinhas, raças immoveis do colibacillo.

Com o emprego de artificios de technica, um bacteriophago pôde perder o poder lytico para germes anteriormente lysaveis por elle, e igualmente, microbios não ata-

cados a principio pelo agente lytico soffrer a lyse ulteriormente.

A sensibilidade das especies bacterianas não é equivalente, o bacillo de Shiga-Kruse parece ser o mais adaptavel aos principios lyticos extranhos.

Diga-se por fim de corrida os effeitos do principio de d'Herelle sobre o organismo animal. Vejamos, em resumo, os resultados obtidos:

- 1.º) pela inoculação unica do bacteriophago;
- 2.º) pela inoculação repetida do mesmo principio lytante.

I. — Ha, pela *inoculação unica* (por via oral, subcutanea, intra-venosa), do lysado bacteriophago num animal:

- 1) uma immuidade quasi immediata contra varias doses mortaes de virus, podendo mesmo essa immuidade activa ser transmittida passivamente;
- 2) apparecem, em sete horas, no sôro desse animal, propriedades lyticas.

II. — A *inoculação repetida de um bacteriophago* provoca no organismo animal:

- 1) sensibilidade para o germe;
- 2) apparecimento de propriedades antilyticas no sôro sanguineo.

Assim, injeccões repetidas do bacteriophago em animaes produzem anti-corpos especificos (sôro anti-lytico). Fazendo-se, portanto, em coelhos uma série de injeccões subcutaneas de bacteriophago, com 4 a 5 dias de intervallo, o sôro desse animal adquire propriedades anti-lyticas.

Impede, conseguintemente, na dose de 2 a 3 gottas, a lyse microbiana numa mistura bacteria lysavel + bacteriophago. Possuem, além disso, propriedades sensibilisantes: misturado a um microbio lysogenico, este sôro transforma-o em germe normal.

E' facto sem duvida que o bacteriophago, em face das bacterias que lysa, tem propriedades opsonisantes energicas, variaveis com a sua virulencia, ou, em outras palavras, a

phagocytose de um germe é mais intensa quando se realisa com o bacteriophago adaptado.

Digno de nota é a *influencia dos electrolytos* sobre a lyse microbiana transmissivel.

Costa Cruz demonstrou que a propriedade lytica dum bacteriophago não se manifesta em meio privado de electrolytos livres. Lisbonne e Carrère confirmaram, com grande rigorismo experimental, os resultados do illustre pesquisador brasileiro.

Num meio constituido por Liebig (5 grs.) e agua distillada (1.000 cc.), o principio lytico activo, misturado a germes sensiveis, não provoca a lyse microbiana. A addição de peptona de Witte (10 por 1.000) a esse meio permite o desenvolvimento dos microbios, sem que o poder lytico se manifeste. Basta, finalmente, adicionar, a esse liquido um electrolyto para que a acção lysante se dê em 4 a 5 horas, no thermostato a 37° Lisbonne e Carrère estudaram, nesse particular, a acção do K Cl, Na Br, Na Cl, K Br, Na I e K I em soluto N/10. Ao contrario, a glycose, a maltose e a lactose não exercem nenhuma acção activante.

O principio lytico não se póde, pois, fixar sobre os germes na ausencia de saes e fica, então, inerte — facto este comparavel ao que se dá com os anti-corpos, principalmente com as agglutininas.

Convem aqui mencionado que d'Herelle não é de igual opinião. Para esse pesquisador, o bacteriophago virulento para o germe de Flexner ataca essa bacteria e multiplica-se num meio pobre em electrolytos, constituido sómente por um soluto de peptona de Witte em agua distillada. Diz haver reproducção do bacteriophago em série, com augmento rapido de seu poder lytico.

A' baila traz o precedente opinar a magistral experiencia de Costa Cruz:

Addicionou 0,5 de bacteriophago muito activo contendo 0,78 per 100 de Cl Na a dois balões:

A) um balão com 100 cc. dagua distillada



B) um balão com 100 cc. d'agua physiologica
Após 3 horas de permanencia na estufa a 37°, doscou
esses dois liquidos (processo de Appelmans).

Titulou-os de novo depois da filtração em vela Chamberland obtendo os seguintes resultados:

<i>Antes da filtração</i>	<i>Depois da filtração</i>
Agua distillada — activo até mais de 1/100.000	Agua distillada — activo até 1/10
Agua physiologica — activo até mais de 1/100.000	Agua physiologica — activo até mais de 1/100.000

Concluiu, pois, que o bacteriophago floclula na agua distillada.

E' de citar tambem que Paul Brutsaert observou, no caldo hypersalgado, os bacteriophagos se desenvolverem como no caldo de boi peptonado ordinario, sem atenuação de virulencia. Ao contrario, esses meios de cultura hypersalgados tornam os estaphylococcos mais sensiveis á acção inibidora dos bacteriophagos.

Faz-se notar como facto de conclusão pratica a *phagocytose* do bacteriophago. Bruynoghe e Maisin examinaram cuidadosamente a acção dos globulos brancos sobre o principio lytico.

Com esse fim, misturaram um traço de bacteriophago em certa quantidade de globulos de pús (2 cc.) e dosearam o principio lytico logo depois da mistura e 24 horas após o contacto, na temperatura de estufa. Verificaram então que ha diminuição do poder bacteriophagico de 100 a um multiplo de 1.000. Parece tambem demonstrado que a redução da actividade não é observavel nas misturas:

- 1) bacteriophago + phagocytos mortos (pús tuberculoso ou envelhecido);
- 2) bacteriophago + sangue.

Disso se depreende que o principio lytico é phagocytado como os microbios; por conseguinte, para que se consiga modificar a evolução de certas lesões estaphylococcicas, é necessario repetir a applicação do bacteriophago, nos limites da technica adequada.

Consoante d'Herelle, o sôro anti-dysenterico, em doses convenientes, impede momentaneamente a acção lysante do bacteriophago sobre o germe de Shiga-Kruse (d'Herelle).

As differenças manifestadas, no poder fermentativo dos assucares, entre os espécimes bacterianos normaes e resistentes ao bacteriophago, são certamente das que mais merecem estudos pormenorizados. Kraus e Marrey ⁽¹¹⁾ observaram que um filtrado bacteriophagico actua sobre os bacillos do grupo de Shiga-Kruse que não fermentam a manita, não se dando o mesmo com os outros espécimes, inlysaveis. A fermentação não se produz de igual modo nos meios assucarados com bacteriophago e nos tubos testemunhos sem esse producto lysante.

O Dr José Maria Gomes notou tambem a modificação fermentativa do colibacillo sobre diversos assucares, sob a influencia do principio lytico. No notavel trabalho experimental desse assistente do Instituto de Butantan, vê-se ainda que a hemotoxina do vibrião Kadikoj não é alterada pelo filtrado de fêzes ⁽¹²⁾.

Para Costa Cruz, o bacteriophago goza de propriedades antigenicas, sendo neutralizado directamente pelo sôro anti-bacteriophago (acção antilytica).

(11) Trabalho do Instituto Butantan, publicado em 6-V-1922, no Brasil Medico.

(12) Trabalho do Instituto Butantan — Experiência sobre Bacteriophagia. Acção sobre os globulos vermelhos, toxinas e assucares — pg. 412 — Brasil Medico — 30-XII-1924.

O sôro anti-Flexner, pelo seu poder antilytico, protege tambem as bacterias contra o principio bacteriophagico. D'onde conclue que o bacteriophago não é um principio normal de germe ⁽¹³⁾.

A peptona não é indispensavel para a reproducção do principio lytico (Lepper); todavia, quantidades pequenas (0,04 por %) influem nitidamente sobre o titulo lysante; -- o que apoia a theoria de Maitland (necessidade de alguma substancia accessoria para a reproducção completa do principio bacteriophagico) ⁽¹⁴⁾. Conseguiu, outrosim, Lepper a transmissão em série do bacteriophago, graças a incubação com um germe sensivel cultivado em meio synthetico —; este producto permittiu a obtenção de um principio lytico muito mais activo que o original.

Taes são os factos essenciaes assignalados pelos diversos pesquisadores que nos servirão para estudar a natureza intima do phenomeno de d'Herelle, materia do capitulo seguinte.

⁽¹³⁾ Sobre a lyse microbiana transmissivel (bacteriophago de d'Herelle) — pg. 131 — 2 de Setembro-1922 — n.º 35 — Brasil Medico.

⁽¹⁴⁾ British Journal of Experimental Pathology, Londres, Fevereiro-1924.

CAPITULO IV

Hypotheses emitidas sobre a natureza do bacteriophago

Firmados no estudo preliminar das propriedades mais evidentes do bacteriophago, examinemos agora as hypotheses aventadas sobre a sua natureza.

Por amor á feição didactica, dividem-se essas theorias em dois grupos:

- 1.º grupo — Theorias que consideram o bacteriophago extranho á bacteria.
- 2.º grupo — Theorias que reputam o bacteriophago proveniente da bacteria.

Examinemos, pois, separadamente, cada um desses grupos:

1.º grupo — O bacteriophago não é produzido pela bacteria — E' então um principio chimico ou vivo?

No entender de alguns pesquisadores, a lyse microbiana é provocada por um principio chimico extranho á bacteria. Entre os innumerados factos bacteriologicos dessa ordem estão os phenomenos de Neufeld e de Flemming. De facto, derramando-se 0,1 a 0,2 de bile de coelho em 2 cm.³ de caldo de cultura de pneumococcus virulentos, de 24 horas, os microbios são dissolvidos inteiramente em 3 a 20 minutos, ficando o meio limpido (phenomeno de Neufeld).

Tambem o choleato de sodio Merck (1 por 1.000) com o sulfato de magnesio, e ainda o taurocholato de sodio a 5 % produzem a mesma lyse bacteriana, que é impedida, no

entanto, pelo liquido ascitico e assucars fermentesciveis. Observação equivalente é o phenomeno de Flemming ou a destruição do estaphylococco pelas albuminas.

São partidarios desse modo de vêr Kabeshima, Anna Kuttner e Borchardt.

Tamezo Kabeshima conclue que o principio bacteriolysante não é ser vivo e sim um catalysador. Recorda que no corpo de todos os germes, ha pro-diastrase ou pro-fermento.

Sob a influencia, pois, do catalysador, a bacteria se autolysa com formação de fermento, que exerce, por sua vez, a função de catalysador para os germes da nova geração. Pela repetição desse phenomeno, tem-se, pois, diz aquelle autor, a apparencia de germinação.

Quanto á origem do catalysador, acha que os germes pathogenicos ao penetrarem no intestino provocam a reacção de algumas glandulas intestinaes, que se manifestam pela secreção de catalysador contra as bacterias pathogenicas, as quaes procuram digerir como na digestão do elemento nutritivo.

São, em resumo, os argumentos de Kabeshima:

- 1) Actividade do bacteriophago durante 4 annos.
- 2) Conservação do poder lytico depois da precipitação pela acetona.
- 3) Resistencia ao acido phenico, fluoreto de sodio, etc.
- 4) Com os fermentos, destruição ao calor a 75°.
- 5) Actuar em porções minimas sobre grandes quantidades de germes.
- 6) Multiplicação sómente em presença de cultura bacteriana.

Essas diversas observações de Kabeshima, particularmente a acção do calor e as propriedades das lysinas obtidas pela precipitação pelo alcool e acetona, não foram confirmadas pelos diversos pesquisadores.

Conclue, finalmente, que “esse fermento de immuidade

bacteriolysante” é factor precioso na immuidade das molestias infecciosas intestinaes.

Segundo Maisin, o bacteriophago é um colloide azotado,

Identicas constantes physicas não são observaveis na bacteria e no bacteriophago. Além disso, o principio lysante apresenta individualidade propria sempre a mesma depois de muitas passagens em culturas de germes variados (possibilidade de produzir grandes e pequenas zonas claras, polyvalencia, etc.).

Injectando-se em animaes o producto da lyse (principio bacteriolysante + detricos de desintegração dos microbios), produz-se um sôro anti-bacteriophago e anti-bacteriano. Saturado pelas bacterias esse sôro conserva todas as suas propriedades anti-bacteriophagas (Prausnitz). Para a maioria dos autores, todos esses dados experimentaes tendem a demonstrar que o principio lytico é extranho á bacteria.

Consoante a opinião de d’Herelle, o bacteriophago tem as propriedades caracteristicas dos seres vivos:

- 1) Assimilação em meio heterogeneo.
- 2) Accomodação ás condições adversas do meio.

Na verdade, como vimos no capitulo anterior, o bacteriophago é susceptivel de diminuição e exaltação de virulencia — factos esses communs a todos os seres bacterianos vivos.

Gjorup considera, pois, o bacteriophago como virus filtravel, que vive como parasito obrigado da bacteria. Inclina-se a crêr que o estudo experimental da bacteriophagia indica o caminho a seguir nas investigações sobre virus ultraviviveis ⁽¹⁵⁾.

Acostuma-se tambem á açção de certas substancias chemicas (glycerina — Ballet, chinisol — Wolff e Janzen), assim como ao sôro anti-bacteriophago (Prausnitz, Bruy-

(15) Hospitalstidende, Copenhague, 6-Abril-1921 — n.º 14.

noghe). Vive, por fim, a custa do germe vivo, tendo consequentemente a propriedade de assimilação em meio heterogeneo, independente da nutrição da bacteria. A assimilação e a adaptação são, pois, duas propriedades que caracterizam a natureza viva do bacteriophago (d'Herelle).

Essa theoria de d'Herelle, que considera o bacteriophago como ser vivo parasito interno e obrigatorio das bacterias, é a mais acceita pelos scientistas francezes. Foi o producto de dois annos de intenso labor no Instituto Pasteur de Saïgon por parte de d'Herelle.

Aqui menciono tambem o 2.º grupo de hypotheses: a bacteriophagia é provocada por um agente chimico ou vivo proveniente da bacteria que se regenera em cada passagem, graças aos germes recentes contidos na série de emulsões sobre as quaes se faz actuar traços das emulsões anteriormente lysadas.

No opinar dos especialistas, o principio originado da bacteria pôde ser:

- 1.º) Autolysina anormal dependente de variação do metabolismo microbiano.
- 2.º) Autolysina normal.

A theoria de Bordet e Ciuca é baseada na producção de uma autolysina anormal, sob a influencia do exsudato leucocytario (intestinal ou peritoneal). Resumamos, pois, a experiencia fundamental desta hypothese: De um cobaio que soffreu, com alguns dias de intervallo, tres ou quatro injecções peritoneaes de colibacillo, retiraram aquelles autores um ou dois dias depois da ultima injecção, exsudato peritoneal muito rico em leucocytos e que, addicionado ao colibacillo normal, modificou-o, conferindo-lhe propriedades autolyticas evidentes, transmissiveis em série de culturas. Concluem dahi que as injecções colibacillares na cavidade peritoneal provocam affluxo de leucocytos, os quaes secretam um principio que vicia de tal modo o metabolismo das bacterias que ellas se lysam, tornando-se esta lyse hereditaria.

Conseqüentemente, affirmam os incansaveis investigadores, a tendencia a autolyse transmite-se hereditariamente por intermedio das raças não lysaveis e sim lysogenicas (portadoras de germes).

Essa verificação experimental não é sempre constante. D'Herelle e Hauduroy não conseguiram, com a technica indicada por Bordet e Ciuca, obter o principio lytico. Todavia, J. Bordet, acaba de verificar o apparecimento espontaneo e recente da propriedade lysogenica nas culturas puras do colibacillo.

Attento a essas considerações, convem, não obstante, lembrar que a hypothese duma autolysina anormal é tambem defendida por Lisbonne e Carrère. Para esses scien- tistas, no emtanto, a viciação inicial depende dum antago- nismo microbiano.

A technica empregada consistiu em semear traço de cultura de colibacillo numa cultura em caldo de bacillo dysenterico de Shiga-Kruse. Decorrido tempo variavel de permanencia na estufa, filtraram a cultura em vela Cham- berland L³. A 10 cm.³ de caldo adicionaram emulsão es- pessa de bacillo de Shiga-Kruse e 20 gottas do filtrado. Em seguida, praticaram a passagem na estufa e nova filtração, repetindo essas operações em série com os filtrados suc- cessivos. Houve lyse total do germe de Shiga-Kruse na 3.^a ou 4.^a passagem.

Realisaram 7 experiencias com 5 espécimes de coli (4 isolados da urina, 1 das fézes de um caso de dysenteria amebiana). Essa prova laboratorial foi assim realisada:

- a) Cultura do bacillo de Shiga-Kruse em caldo, se- meado 5 a 6 dias depois da incubação ao ther- mostato com traço de cultura colibacillar. Fil- tração após 48 horas a 37°.
- b) Emulsão concentrada de bacillo Shiga-Kruse e traço de cultura colibacillar. Foram misturados a 10 cm.³ de caldo, que foi filtrado depois de 48 horas de permanencia na estufa.

- c) Semeadura de bacillo de Shiga-Kruse em 10 cm.³ de caldo, onde, no dia seguinte, misturam colibacillo; depois, diariamente, durante 4 dias, juntavam emulsão de bacillo de Shiga-Kruse de 24 horas. Por fim procederam á filtração.

Observaram, em resumo, a lyse total e transmissivel duas vezes na segunda passagem, duas vezes na terceira, tres vezes na quarta, não havendo cultura secundaria depois da 6.^a passagem.

Emulsão espessa do germe de Shiga-Kruse em 10 cm.³ de caldo foi lysada por uma gotta do filtrado, que se manifestou activa sobre tres espécimes do germe Shiga-Kruse.

Identicos resultados foram obtidos com colibacillo e Proteus X¹⁹.

Nas pesquisas citadas havia a concorrência vital entre dois germes: na opinião de Lisbonne e Carrère as acções fermentativas de um microbio pódem provocar a viciação no metabolismo do outro e originar, assim, a lyse transmissivel. Pensam ainda que o principio shigaphagico encontrado nas materias fecaes é o resultado duma reacção microbiana intestinal analoga a realisada *in vitro*.

Pertence ás verdades adquiridas a comprovação experimental de varios exemplos de acção antagonista de certos microbios. O bacillo pyocyanico, por exemplo, que age pela pyocyanase, tem acção antagonista em face do bacillo de Davaine; do mesmo modo o estreptococco, o pneumobacillo e o estaphylococco, porém de um modo limitado.

E' mister, todavia, accentuar que os trabalhos daquelles autores foram repetidos com resultados negativos por diversos bacteriologistas (Beckerich e Hauduroy, e finalmente Hauduroy), não sendo os casos de lyse microbiana, algumas vezes observados, indefinidamente transmissiveis em série.

Lisbonne e Carrère, tendo remettido a Beckerich e Hauduroy os germes das suas investigações, o ultimo verificou que um espécime de colibacillo era portador de bacterio-

phago (amostra resistente e lysogenica) — dahi a causa de erro na leitura dos resultados.

Donde concluem que a lyse transmissivel é a “expressão de possibilidades physiologicas da bacteria” — Bordet, Lisbonne e Carrère.

Não obstante esta verificação, convem lembrar que Lisbonne e Carrère, estudando espécimes microbianos da mesma origem, conservadas em Bruxellas e Montpellier, notaram que um colibacillo (origem de d’Herelle-Bordet), não lysogenico num laboratorio, apresentou-se com propriedades lyticas em outro, após um anno de conservação; tambem, um bacillo coli (retirado da agua) não lysogenico, depois se tornou bacteriolysante.

Vamos agora a hypothese que considera a lyse provocada por uma autolysina normal ou, em outras palavras, que explica o phenomeno lytico em série pela introdução dos productos da autolyse espontanea dos germes em nova emulsão microbiana.

São defensores desta hypothese, com algumas modificações, notaveis pesquisadores (Pico, Kraus e Marrey, Weinberg e Aznar, Davison, Costa Cruz, Leddingham, Bail, Gildemeister, Lemos Monteiro e outros).

Pico estabeleceu a seguinte fórmula:

A bacteriophagia consiste em uma activação da autolyse normal das bacterias, que se manifesta em certas condições experimentaes.

Para esse pesquisador o principio lytico é contido e elaborado pelos proprios microbios, sem intervenção dos bacteriophagos. E’ o que procurou demonstrar em interessantes trabalhos laboratoriaes. Aqueceu de 83 a 95°, durante uma hora, uma emulsão de bacteridias carbunculosas recentes, em sôro physiologico. Placas de gelose simples foram semeadas com esse material. Dahi retirou germes duma colonia isolada para resemeaduras em gelose inclinada. Depois, em 12·cm.³ de agua distillada esteril, emulsionou uma alça normal, não muito carregada, de bacillos

retirados dessa ultima cultura. No fim de 6 dias, o liquido ficou limpido, com leve deposito de detricos bacillares pouco coraveis e alguns espóros.

A outra emulsão de bacillos carbunculosos, recentemente preparada pela mesma technica, addicionou 2-3 cm.³ daquelle liquido claro. Em 48 horas deu-se a clarificação completa da mistura. Com identico proceder, em duas passagens, o resultado foi obtido em 24 horas. Essas experiencias foram realizadas na temperatura de 15-20°, havendo tambem duas passagens duplas a 37°. Ainda emulsões de bacillos em agua physiologica filtrada em vela Berkefeld, produziram a lyse em 24 horas, a 37°. Taxou, consequentemente, de incorrecto o nome de bacteriophagia dado a esses phenomenos autolyticos.

Maitland, baseado no estudo das culturas cruzadas, conclue que o bacteriophago tem caracteres proprios, isto é, uma entidade independente do germe lysavel. A' identica conclusão chegou Asheshov pelo estudo das colonias do principio lysante.

Oscar Bail ⁽¹⁶⁾ achou um bacteriophago activo para o bacillo paradyserterico Flexner, em culturas velhas do mesmo germe, obtidas em caldo, préviamente centrifugadas e levadas a 58°. Dahi a sua conclusão que o bacteriophago provém das bacterias lysadas e que as bacterias são constituídas por elementos com capacidade vital e de multiplicação. Admitte que o principio lytico é uma fôrma filtravel do germe destruido que, sob essa nóva fôrma, precisa, para a sua nutrição, das substancias das bacterias.

Muitos autores, entre elles Gildemeister, Kraus e Marrey, verificaram, de accôrdo com os trabalhos de Bail, a presença do principio lytico em culturas velhas, em meios liquidos.

(16) Wiener Klinischer Woch., ns. 37, 46 — 1921.

Lemos Monteiro, em pacientes experiencias realizadas no Instituto Sôrotherapico de Butantan (São Paulo), encontrou, por sua vez, em culturas velhas em gelose inclinada, de bacillo dysenterico Shiga-Kruse, bacillo carbunculoso e cocco-bacillos de Yersin um principio lysante desses germes, não sendo, todavia, sua actividade muito grande. A technica usada consistiu em juntar 10 cc. de caldo commum a 1,0 de phenolphthaleina á cultura em gelose inclinada, em que havia o agente lytico. Obtida a emulsão microbiana pela raspagem da superficie da gelose, especialmente nas zonas clarificadas, procedeu-se a filtração da mistura, préviamente agitada entre as mãos, em vela Chamberland. Para o preparo da emulsão do germe a lysar diluiu-se em 10 cm.³ de caldo uma alça bem cheia de bacterias de uma cultura de 18 a 24 horas, em gelose inclinada. Desse material as sementeiras foram feitas, em gottas (5, 10 ou 20), com pipeta de Pasteur. A observação do phenomeno foi realisada em tubos com 10 cm.³ de caldo commum a 1,0 de phenolphthaleina e em gelose inclinada, procedendo-se a resemadura desde as primeiras horas até 24 horas depois de permanencia no thermostato a 37°.

Kraus, desde os estudos iniciaes da bacteriophagia, considera os principios activos dos filtrados como productos do germe, tendo mesmo observado, em collaboraçã com Beltrami, que algumas gottas de cultura de colibacillo adicionadas a cultura de bacillo de Davaine, em caldo, provocam o desaparecimento desse ultimo germe.

Baseados na ausencia de catalase e de reductase, na possibilidade de isolar o bacteriophago de velhas culturas em caldo, no facto do principio lytico lysar sómente germes vivos e tambem no resultado da extração do bacteriophago pelo ether no aparelho de Soxhlet, concluem Bronislawa Fejgin e Supniewski que a lyse transmissivel é provocada por uma substancia elaborada pelos germes vivos.

Para Wollmann, a transmissão da função lysogenica

está ligada a existencia de uma substancia albuminoide em corpusculos, que desaparece pela digestão trypsica.

Weinberg e Aznar defendem tambem a hypothese que explica o phenomeno de d'Herelle pela producção no meio de cultura de uma autobacteriolysina, sem intervenção do organismo animal. Affirmam ter observado uma autobacteriolysina activa, apresentando todas as propriedades do bacteriophago, que lysou uma cultura de 24 horas, desenvolvidos em camada delgada sobre a superficie da gelose.

Otto, Munter e Winkler obtiveram varias vezes o principio lytico de culturas bacterianas. Bail e Gratia dizem que cultivaram o agente lysante partindo de culturas. Costa Cruz considera o bacteriophago um catalysador existente na bacteria, com papel importante no metabolismo normal do germe, pela desintegração de algumas substancias da membrana. Libertado esse catalysador, graças a um processo de desintegração, no intestino ou no meio interno, do antigeno introduzido por via parenteral, há desequilibrio osmotico, resultando a hydratação e a ruptura da cellula por arrebentamento, com libertação de mais catalysador. Para esse illustre cientista, as figuras de perturbação osmotica observaveis nas bacterias atacadas pelo bacteriophago demonstram a acção do catalysador sobre a membrana microbiana. Considera, pois, o principio lysante como colloide, porque não é dialysavel, não obstante não ser chimicamente muito complicado. Pensa em uma substancia labil do germe, uma especie de endo-complemento não secretavel, visto que adhere, sem lysar, aos microbios correspondentes mortos.

E' evidente que, respeitadas as condições adequadas, onde cahiu uma particula de colloide, fórma-se uma pequena zona de lyse independente sem que seja preciso, consoante a sua opinião, acreditar na germinação de um ser vivo.

Por fim é de referir-se a theoria de Salimbeni que attri-

bue a lyse microbiana transmissível a um myxomyceto isolado de certas culturas lysadas (myxomyceto shigaphago).

Acha comparável o phenomeno de d'Herelle a destruição do *Bacillus fluorescens* por um myxomyceto — *Dict'yostelium mucoroïdes* (Pinoy). Esta concepção não é aceita. Não consta, pois, que o outro bacteriologo tenha encontrado aquelle cogumello, provavelmente inquinação accidental das culturas.

Passemos a outro ponto que convem aclarar. Olser e Yasaki (17) affirmam que o bacteriophago é um principio volatil (reivindicação da theoria dos miasmas!), porque, distillando no vacuo, em baixa temperatura, um liquido com corpusculos bacteriophagos, o distillado apresentou propriedades lysantes.

Nenhum fundamento tem semelhante conclusão, pois d'Herelle, pela distillação de culturas de bacteriophagos desenvolvidos a custa de bacillo dysenterico, bacillo coli, estaphylococco aureo, até a secura, ora no vacuo relativo, ora na pressão normal, em temperatura de 43 - 55°, não achou o menor traço de principio lysante na totalidade do distillado. Ha, em resumo, incompatibilidade entre os dois estados: corpuscular e volatil.

Cavaliere (18), estudando a interessante questão da fixação do bacteriophago pelo carvão animal e terra dos infusorios, conclue que o principio lysante é uma substancia diffusivel no meio cultural, de constituição relativamente simples, capaz de produzir alterações das culturas, que impossibilitam o desenvolvimento e a vida dos germes.

Seiffert (19), emfim, considera o bacteriophago como producto intermediario do metabolismo bacteriano, achando que este producto activa os fermentos intra-bacterianos.

(17) Klin. Wochenschr., t. 2, p. 1879, 8 de Outubro-1923.

(18) Annali d'Igiene, Roma, anno XXXIII, n.º 10.

(19) Medizinische Klinik, Berlím — 10-VI-1923.

Para esse pesquisador o phenomeno de d'Herelle é um processo autolytico.

Bem claro está, porém, que essas theorias attinentes á bacteriophagia que citei, longe estão de se ajustarem a todas as observações de bom cunho feitas por investigadores de nomeada. E', pois, um capitulo da bacteriologia que requer novos e pacientes estudos visando clarear alguns pontos duvidosos em assumpto de tanta importancia doutrinaria.



CAPITULO V

Funcção do principio lytico na immuniidade adquirida e na immunização

Coincidindo o apparecimento do bacteriophago com as melhoras clinicas dos doentes, reconheceu d'Herelle a utilidade de estudar a relação entre esses dois factos.

Para bem se apreciar essa coincidencia absoluta, tratar-se-á primeiro da verificação da presença do bacteriophago no organismo infectado; segundamente do mesmo estudo no individuo ou animal são.

1) BACTERIOPHAGO NO INDIVIDUO DOENTE.— Observações recentes de d'Herelle e de Hauduroy na febre typhoide estatuiram os factos seguintes:

- a) Não se encontra principio lytico no inicio e no periodo de estadio da molestia;
- b) A maior actividade do bacteriophago corresponde, em geral, á defervescencia clinica;
- c) Pelas hemoculturas positivas ou negativas feitas no fim da febre typhoide isola-se o principio lytico (Hauduroy);
- d) Regra geral, o bacteriophago apparece com a defervescencia, persistindo até que esta termine; em certos casos, porém, é encontrado sómente no inicio da convalescença;
- e) Ha constancia nos resultados obtidos.

Factos identicos foram evidenciados na dysenteria bacillar, typhose aviaria, septicemia hemorrhagica dos bufalos, peste bubonica e infeções colibacillares.

2) BACTERIOPHAGO NO INDIVIDUO OU ANIMAL SÃO. — Importa agora considerar:

- a) O organismo são no meio infectado;
- b) O organismo são num meio não infectado.

No segundo caso, não se isola nunca o bacteriophago activo. Não foi possível, portanto, achar o bacteriophago anti-pestoso nos habitantes são do centro de Paris, nem tampouco nos gallinheiros com aves são encontra-se o principio lysante do microbio da typhose aviaria. Tambem, no sangue de homens são, não se observa o bacteriophago anti-typhico.

Ao contrario, em meio contaminado é commum verificar-se nas fézes de organismos são um bacteriophago activo para o agente microbiano causador da epidemia ou epizootia reinante. No dizer de d'Herelle "a immundade é tão contagiosa como a molestia, d'onde para elle, a immundade é resultante duma molestia mortal para a bacteria."

De facto, durante as epidemias, os individuos indemnes são portadores de bacteriophagos para os respectivos agentes pathogenicos.

Demonstrada como foi a presença do principio lysante nas aguas contaminadas pelas materias fecaes (agua das canalisações urbanas, agua de exgottos, na terra, etc.), comprehende-se a grande diffusão do bacteriophago no mundo exterior. Tambem o facto do consumo da agua filtrada, com bacteriophago, poder immunizar os individuos demonstra a facil propagação do principio lysante.

Merece desde já mencionar, outrosim, a maneira de pensar de d'Herelle quanto a sorte de uma bacteria pathogenica introduzida no organismo. Os casos que se pôdem apresentar são resumidos nos seguintes itens:

- 1) A molestia não se declara porque o bacteriophago intestinal destróe a bacteria antes do seu desenvolvimento.

- 2) Surge a molestia porque o bacteriophago fica inactivo, permittindo assim o desenvolvimento bacteriano.
- 3) Durante a molestia o bacteriophago, em contacto com o germe pathogenico, augmenta a sua propria acção, que se torna preponderante no momento da convalescença.
- 4) O quadro clinico da molestia reflete, portanto, a lucta entre o bacteriophago e a bacteria pathogenica.
- 5) Verificada, pois, a presença constante do bacteriophago nos casos felizes de algumas molestias infectuosas, pensou d'Herelle conseguir, por sua vez, a cura das mesmas infecções microbianas pela introdução do principio lytico nos organismos infectados. Foi então que diversos pesquisadores empregaram o bacteriophago no tratamento de infecções humanas e dos animaes.

Concretizemos, pois, os resultados obtidos.

As primeiras experimentações foram feitas por d'Herelle na typhose aviaria e na septicemia hemorrhagica dos buffalos.

A typhose aviaria (Fwol Typhoid dos Americanos do Norte) é uma infecção septicemica dos gallinaceos com localisação intestinal, devida ao *Bacterium gallinarum*, Klein ou *Bacterium sanguinarum* de Moore (1898), que é um bastonete visinho do *B. enteritidis*, porém pouco movel ou immovel. E' uma especie visinha, adaptada ou analoga aos bastonetes descriptos por Loeffler (diphtheria dos pombos), por Noeard (Psittarose), Klein (faisão), etc. Parece que se trata de uma salmonellose.

D'Herelle isolou das dejeções de uma gallinha curada um bacteriophago muito activo para o *B. Gallinarum*. Inoculou 0,50 do filtrado de uma cultura lysada, por via subcutanea, em animaes doentes nos diversos periodos da molestia, até em agonisantes. Obteve resultado esplendido:

95 % delles curaram e 5 % morreram. A mortalidade habitual é de 100 % no inicio da epizootia e 95 % no estado endemico.

A ingestão do bacteriophago, com os alimentos, deu tambem bons resultados (d'Herelle).

O principio lytico utilizado nos trabalhos de immunização foi obtido com o seguinte proceder:

- 1) Culturas de *B. Gallinarum* em caldo de Martin, de 9 a 10 horas, com turvação evidente, são adicionadas de bacteriophago muito activo, isolado das dejeções de uma gallinha curada.
- 2) Obtida a lyse completa das bacterias (em cerca de 12 horas), o meio cultural é filtrado em vela e acondicionado, asepticamente, em empólas.

A dóse de inocular é de 0,5 cm.³ sub-cutaneamente, não havendo a menor reacção local ou geral. A epizootia cessa mesmo no dia da immunização.

Na prophylaxia da septicemia hemorrhagica dos bufalos (*barbone*), os resultados conseguidos por d'Herelle e G. Le Louet, com o emprego do bacteriophago, foram surprehendedentes, pois obtiveram uma immunidade visinha do estado refractario (resistencia a 2.000 dóses mortaes).

Essa septicemia buffalina, produzida pelo *bacillus (bipolaris) bubalisepticus*, variedade do *bacillus bipolaris septicus*, é uma molestia mortal em 70 a 99 % dos casos.

Pois bem, uma injeção de 1/25 de cm.³ de bacteriophago (menos de uma gotta) faz os animaes de 100 ks. resistirem no fim de 4 dias, a 5 dóses mortaes e — depois de 60 dias, a 50 dóses seguramente letaes.

D'Herelle e Le Louet verificaram, com este methodo de immunização, um facto interessantissimo: — quanto maior fôr a dóse de bacteriophago inoculado tanto maior será o periodo de incubação necessario para o apparecimento da resistencia anti-bacteriana. Assim:

- 1) Com inoculação de 20 cm.³ de bacteriophago a immunidade apparece em 40 a 60 dias.

- 2) Com inoculação de 5 cm.³ de bacteriophago a immuidade surge em 28 dias.
- 3) Com inoculação de 1/4 cm.³ de bacteriophago a immuidade revela-se em 20 dias.

Para explicar este retardamento no apparecimento de immuidade, d'Herelle propõe a explicação seguinte: com uma dóse forte o animal ficaria no estado visinho da sensibilização, resultando dahi inibição prolongada do poder immunizante do principio lytico.

Para essas experiencias de immunização, o principio lytico foi isolado das dejeções de um buffalo que atravessou indemne a epizootia. Addicionou-se uma gotta de bacteriophago da 10.^a passagem em uma cultura do germe do barbone em caldo, de 12 horas, com turvação bem visivel. Decorridas 12 horas, a cultura — inteiramente lysada — foi filtrada em vela Chamberland L³ e conservada, asepticamente, em empólas esterilizadas. Utilizou-se esse bacteriophago de 20 dias a 5 mezes depois do seu preparo, não havendo nesse espaço de tempo mudança apreciavel na acção acção lytica.

Successos tão brilhantes encorajaram d'Herelle a utilizar o bacteriophago na medicina humana. Tratou então 7 casos de dysenteria bacillar produzida pelo germe de Shiga-Kruse com bacteriophago administrado por via interna. Resultados completos não tardaram: em 24 horas, houve cessação das fézes sanguinolentas, diminuição dos symptomas geraes e desaparecimento do bacillo de Shiga-Kruse das materias fecaes, curando-se completamente os doentes em 5 ou 6 dias.

No Brasil, graças aos notaveis trabalhos de Costa Cruz, o bacteriophago anti-dysenterico é devidamente apreciado pelo corpo medico.

O Instituto Oswaldo Cruz, do Rio de Janeiro, prepara uma bacteriophagina dysenterica muito efficaz, que deve ser administrada de preferencia em jejum ou num momento em que o estomago estiver vasio, diluindo-se o conteúdo de

uma empôla de 2 cm.³ em um copo d'agua bem cheio. Repete-se o tratamento de 12 em 12 horas até a cura completa.

Não ha contra-indicações, podendo o medicamento ser utilizado antes de estabelecido o diagnostico bacteriologico.

Registrem-se aqui, outrosim, as observações de Davison, Otto e Munter, que não accusam resultados favoraveis com a administração do bacteriophago. O primeiro fez crianças dysentericas tomarem de 5 a 1.300 cc. de bacteriophagos, sem melhoras clinicas !

Costa Cruz administrou bacteriophago por via gastrica, na dóse de 2 cc., em 4 casos de dysenteria bacillar, obtendo resultados favoraveis. Dois doentes curaram-se com uma ou duas dóses; em outros dois pacientes os symptomas reapareceram ao suspender-se o tratamento, desaparecendo, todavia, pela nova administração do principio lytico.

Por seu lado, Beckerich e Hauduroy viram melhoras nitidas seguirem a administração do principio lysante nas infecções typhicas e paratyphicas. E' claro, entretanto, que o bacteriophago anti-typhico é menos activo em face do bacillo de Eberth que o bacteriophago anti-dysenterico para o germe de Shiga-Kruse.

Por fim, Hauduroy e Arsimoles trataram pelo principio lytico uma fórmula anormal de infecção typhica, com syndrome dysenteriforme. Houve desaparecimento dos bacillos e cura rapida.

Alessandrini e Doria isolaram bacteriophagos de bacillos typhico das fézes de convalescentes dessa molestia, obtendo assim um filtrado polyvalente que, aquecido 30' a 50°, na dóse de 2 a 5 cm.³ eram inoffensivos por via oral, sub-cutanea ou intra-muscular. Cerca de 50 % dos 18 casos tratados por esse bacteriophago evidenciaram um effeito therapeutico superior ao provocado pelos melhores agentes de immuidade activa.

Cumpre-me, porém, referir os resultados negativos de Otto e Munter.

Affirmam ainda Herderschee e Wolff que a febre durou

mais dois dias em 95 typhicos medicados pelo bacteriophago do que em 105 que não receberam esse tratamento. ⁽²⁰⁾

Resta tambem fazer menção dos primeiros ensaios de Beckerich e Hauduroy para o tratamento, pelo bacteriophago das infecções urinarias colibacillares.

Russell D. Herrold publicou, a proposito dessas localizações, interessante trabalho sobre a acção hemolytica de certos colibacillos, verificando que a percentagem de coli hemolytico nas infecções renaes é maior do que se admitta geralmente. Demais, este typo de germe é mais virulento, ao passo que as infecções pelo bacillo não hemolytico tem marcha mais lenta. Verificou ainda que ha relação definida entre o poder hemolytico do coli e o poder de fermentação dos assucares ⁽²¹⁾.

D'Herelle, por sua vez, empregando technica original, fez verificações importantes em urinas de cinco pyelo-nephriticos: em todos os casos encontrou culturas mixtas de coli-bacteriophago, reconheciveis pelo aspecto caracteristico das culturas.

Para que se possa fazer uma ideia justa e verdadeira do poder therapeutico dessa medicação, relembro ainda um caso de pyelo-nephrite gravida colibacillar tratado pelo bacteriophago de d'Herelle por Courcoux, Philibert e Cordéy. Tratava-se de uma pyelo-nephritica com temperatura de 38° a 39° a cerca de um mez. Injectaram simultaneamente sob a pelle e na bexiga: um lysado de uma cultura colibacillar isolado da urina da paciente. A temperatura cahiu em dois dias a 36°,8 e manteve-se depois entre 36 e 37°, dando-se o parto de modo normal e sem complicações secundarias. Os colibacillos persistiram na urina em muito pequeno numero.

Convem aqui citar a importantissima publicação de

(20) Nederlandsch Tijdschrift v. Geneeskunde, Asterdam 6-1924.

(21) The Journal of Urology — Tomo VII, 1922, n.º 6, pg. 473-480.

Beckerich e Hauduroy sobre o tratamento das infecções urinarias colibacillares pelo bacteriophago de d'Herelle. Obtiveram elles seis casos de cura completa, clinica e bacteriologica, um caso de cura clinica sem que a urina ficasse esteril, 3 insuccessos (entre os quaes um caso de germe resistente a lyse *in vitro*), outro caso em que o principio lytico contribuiu evidentemente para a cura.

As reacções observadas foram de duas especies:

- a) REACÇÃO GERAL — Manifestada por uma crise sudoral, de intensidade variada, dentro de algumas horas.
- b) REACÇÃO LOCAL — Rubor, edema e por vezes, dôr, que desaparece espontaneamente em 24 horas.

As curas obtidas foram promptas: uma pyelo-nephritica com estado geral mau, cuja molestia datava de 3 annos, curou em sete dias com duas injeções de lysado; outros doentes curaram-se em 10, 4 e 3 dias.

Os bacteriophagos foram retirados de urinas de diversos casos de pyelocystites puerperaes. Seguiram a technica habitual, isto é:

- 1) Semear o bacillo coli em balões de caldo.
- 2) Depois de algumas horas de incubação, quando visivel uma leve turvação do meio cultural, addicionar pequenas porções do principio lytico, mantendo-se a mistura a 20 - 25°.
- 3) Em cerca de 12 horas, o meio fica limpido.
- 4) Addicionar nova pequena porção de colibacillo para reforçar a actividade do principio bacteriophago, que agirá rapidamente.
- 5) Pela filtração em vela Chamberland L², eliminar os germes eventualmente resistentes.
- 6) Repartir asepticamente o filtrado em empólas, que devem ser conservadas na geleira.

Doze dias depois o lysado póde ser usado. Emfim, adoptaram um lysado polyvalente.

Actualmente, nas infecções urinarias colibacillares, Hauduroy aconselha o seguinte proceder:

- 1) Introduzir na bexiga 20 cm.³ de bacteriophago puro, repetindo-se esta operação todos os dias ou todos dois dias (4 a 5 vezes).
- 2) Administrar diariamente pela bocca, 10-20 cc. de principio lysante, durante 4 a 5 dias.
- 3) Injectar sub-cutaneamente 3 a 4 cm.³ de bacteriophago, durante dois dias.

Para encarecer a importancia dessa medicação convem mencionar os casos de Philibert e Cordey, cujos resultados foram satisfactorios.

Em synthese, ha quasi sempre cura completa dessas infecções colibacillares, observando-se, todavia, alguns insuccessos nos individuos atacados de infecção chronica.

E' digno tambem de notar os trabalhos de Bruynoghe e Maisin que ensaiaram combater as infecções estaphylococcicas com o respectivo bacteriophago. Injectaram, pois, tanto quanto possivel perto da região doente, doses de bacteriophagos (aquecidos uma hora a 56°), na dose de 0,5 a 2 cm.³. A acção favoravel dessa medicação não tardou a apparecer: houve diminuição do empastamento ao nivel das lesões e desaparecimento total dessas ultimas em 24 a 48 horas.

Em alguns doentes, verificaram ascensão febril, principalmente nos portadores de vastas lesões, dando-se portanto, a absorpção de grandes quantidades de productos microbianos. O logar da injeção ficou doloroso e ligeiramente edemaciado durante 24 horas. Em conclusão, os furunculos desapareceram em alguns dias sem reacções desagradaveis.

Logo depois, Gratia e Jaumin confirmaram esses brilhantes resultados therapeuticos.

Em consequencia da injeção sub-cutanea do bacteriophago, verificaram, além de reacção geral de intensidade

variavel, reacções congestivas locais ao nível da picada, nos focos de infecção e até nas cicatrizes antigas.

Hauduroy publicou também observação de alta valia pratica: era um caso de anthrax grave cuja cura foi visivelmente influenciada pelo bacteriophago.

Bem conhecidos são ainda os doentes de Bartin, com fistulas cirurgicas post-operatoria e furunculoses, tratados pelo principio bacteriophago anti-estaphylococcus. Em 7 observações, registrou 2 insucessos, 3 curas e 2 casos nos quaes a influencia do principio lytico foi favoravel.

Nelson Barboza, illustre cientista patricio, utilisou o bacteriophago estaphylococcico no tratamento de furunculos, abcessos e pyelites. 0,5 a 1 cc. desse producto lytico foi administrado por via subcutanea em duas mulheres com pyelite e estaphylococco na urina, os symptomas clinicos desapareceram completamente em dois dias e 17 horas, respectivamente, ficando as urinas estereis. Conseguiu também melhora rapida de uma ferida suppurante pela administração local do producto lytico.

E' certo, todavia, que, para alguns autores, a acção therapeutica do bacteriophago é considerada ainda como duvidosa. Rejsek (de Praga), num caso de cystite intensa, provocada pelo bacillo pyocyanico, fez injeccões intra-vesicaes de bacteriophago pyocyanico e aconselhou, além disso, uma auto-vaccina pyocyanica e lavagens da bexiga. Não obstante o bom resultado obtido nesse caso, diz que bacillos ha que resistem a acção lytica do bacteriophago, tanto *in vitro* como no organismo animal.

Succede, porém, que essa opinião não é confirmada por experimentadores de nomeada. Recentemente, Gougerot e Peyre fizeram ensaios therapeuticos que patenteiam o valor do systema biologico de d'Herelle. O tratamento local foi o unico empregado. P., que soffria ha 3 annos de furunculos, contra os quaes diversos tratamentos geraes (vacinação, etc.) ou locais foram empregados sem resultado, evoluindo o furunculo sempre até a induração e suppura-

ção, curou-se em 48 horas dessas lesões furunculosas pela administração *in loco* de principio lysante. As pustulas insipientes desapareceram em algumas horas. Trataram tambem com successo um medico atacado de sycose pustulosa variedade superficial com dermo-epidermite erythemato-escamosa, assim como um alfaiate com sycose de grandes nodulos hypodermicos e dermo-epidermite diffusa, do bigode, de toda a barba e do pubis. O preparo do bacteriophago integralmente activo consistiu em diluições de estaphylococco pyogeneo em tubos de caldo nos quaes se addicionaram algumas gottas de principio lytico anti-estaphylococcico, dando-se a lyse microbiana no fim de 24 horas. Fizeram-se novas passagens para a obtenção de um bacteriophago de grande actividade.

Eichhoff realisou, na Clinica de Küttner e no Instituto Hygienico de Breslau, experimentações que demonstram a presença de um principio lysante anti-estrepto e estaphylococcicos nas fézes e no pús de doentes em estado agudo da molestia e na convalescença. Os filtrados anti-Shiga-Kruse exerceram tambem, por sua vez, acção fortemente destruidora sobre os estreptococcus e estaphylococcus. Injectou esses productos no homem na dóse de 3 cm.³ sem observar o menor effeito nocivo.

Cabe-me obtemperar, todavia, que ha inconveniente em fazer séries de injecções sub-cutaneas de bacteriophago, com intervalos de 5 a 6 dias, porque se consegue, deste modo, sensibilizar o organismo.

Demonstrado, cabalmente, se me afigura isso pelo trabalho de Hauduroy sobre a sensibilização de animaes a certas infecções por vaccinação anti-bacteriophaga. Coelhoos novos, de 1.300 a 1.600 grs. de peso, receberam 7 injecções sub-cutaneas de bacteriophago anti-estaphylococcico, na dóse de 2 cm.³, com intervallos de 5 a 6 dias. Coelhoos temunhos foram inoculados com quantidades iguaes de caldo commum. Obtiveram-se resultados que se pódem dividir em dois grupos:



- 1) diversos coelhos emmagreceram com rapidez, entraram em cachexia, morrendo antes ou depois do fim da vacinação, com multiplos abscessos sub-cutaneos produzidos pelo estaphylococco.
- 2) Outros animaes, com augmento de peso normal, injectados intra-venosamente com uma dóse de estaphylococco não mortal para os coelhos testemunhos, logo depois de alguns dias da ultima injeção do principio bacteriolysante, morreram em 24 horas, encontrando-se os germes inoculados, em estado puro, no sangue do coração.

Os animaes testemunhos augmentaram de peso, sem apresentarem abscessos e resistiram ás injeções de estaphylococcos por via endo-phlebica.

Finalmente, nos casos mortaes de peste bubonica do homem, não se conseguiu isolar um principio lysante do cocco-bacillo de Yersin. Bacteriophagos anti-pestosos foram, todavia, observados nos ratos vectores da molestia, graças ao exame systematico dos excrementos dos animaes que resistem a epizootia. Em meio contaminado, a ingestão frequente do germe de Yersin entretem no intestino a virulencia do respectivo bacteriophago; ao contrario, nas regiões indemnes de peste, não ha principio lytico activo nos excrementos dos ratos estando, portanto, esses animaes, no caso de se declarar uma epizootia, expostos a contrahir a peste.

Em synthese, a medicação pelo bacteriophago, isto é, a lysinotherapie no dizer de Pico, sabio pesquisador argentino, é de grande valor quando instituida no inicio da molestia. A injeção e a ingestão de meios com principio lytico são de inocuidade absoluta, mesmo no caso de erro de diagnostico.

Entrou na pratica corrente. E' preciso não esquecer,

entretanto, que algumas especies bacterianas são homogêneas em face do principio bacteriophago (bacillo dysenterico, cocco-bacillo de Yersin), o que quer dizer que uma raça do bacteriophago virulento age igualmente sobre todos os espécimes isolados. Outras raças bacterianas ha, ao contrario, que são heterogêneas (bacillo typhico, bacillo coli e estaphylococco), isto é, não são lysadas pelo mesmo bacteriophago; neste ultimo caso um exame laboratorial é necessario, com o fim de se verificar si o germe especifico é lysado pelo espécime do bacteriophago que possuimos.

Agora que, duma maneira geral, tratei do estado actual do phenomeno de d'Herelle, passo á parte experimental do nosso trabalho, que constituirá assumpto dos capítulos seguintes.

SEGUNDA PARTE

Provas experimentaes

CAPITULO VI

Bacteriophago de d'Herelle e as infecções urinarias colibacillares

Na exposição que vou fazer não enumerarei com minucia todos os pormenores technicos. Apenas referirei os mais importantes e indispensaveis. Por isso, e como methodo de exposição, estudarei successivamente:

- 1) Isolamento dos germes das urinas.
- 2) Diagnostico bacteriologico differencial. Identificação.
- 3) Isolamento do bacteriophago.
- 4) Exaltação do poder do bacteriophago sobre o germe isolado.
- 5) Applicação therapeutica e resultados colhidos.

I. — Isolamento do colibacillo das urinas

Em B., de 7 de annos de idade, do sexo feminino, após ter desinfectado a entrada do meato urinario, pratiquei o catheterismo com uma sonda fina, rigorosamente aseptica. A urina colhida foi centrifugada em tubo esteril. Terminado o exame directo pelo methodo de Gram-Nicolle, disseminei o sedimento urinario na superficie de tres tubos de gelose

simples, pelo processo classico, sem carregar de novo a alça de platina. Depois de 12 horas de incubação na estufa a 37°, observei nos meios culturaes faixas brancas e opacas no centro e quasi transparentes na periphèria, apresentando bordos franjados.

São, em resumo, estes os dados que colhi do estudo pormenorizado das culturas:

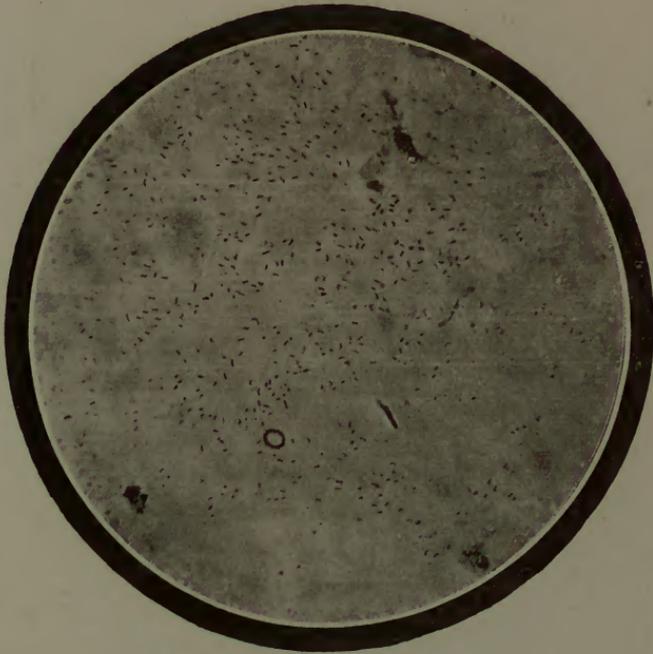
- 1) Bastonetes de 1 a 3 micra, com extremidades arredondadas, ao lado de fórmulas coccobacillares.
- 2) Elementos bacterianos moveis, com 4 a 6 cílios peritrichos.
- 3) Germes Gram negativos.



Exame em fundo negro
Augmento de 840 D.
Microphotographia original

- 4) Caldo simples — turvação abundante; em seguida deposito flocoso no fundo do tubo, com clareação do caldo.

- 5) Placas de gelose — colonias brancas e opacas no centro e irisadas, com bordos pouco franjados.
- 6) Gelatina — ausencia de liquefação. Cultura branca, abundante, brilhante, lisa, de bordos irregulares e dentados.
- 7) Batata — colonias acinzentadas, depois pardas.
- 8) Leite — coagulação em 34 horas.
- 9) Gelose e gelatina em picada — desprendimento de gazes.
- 10) Não escurece a gelose — chumbo (ausencia de hydrogenio sulfurado).
- 11) Envermelhece e coagula o leite tournesolado(38 horas).

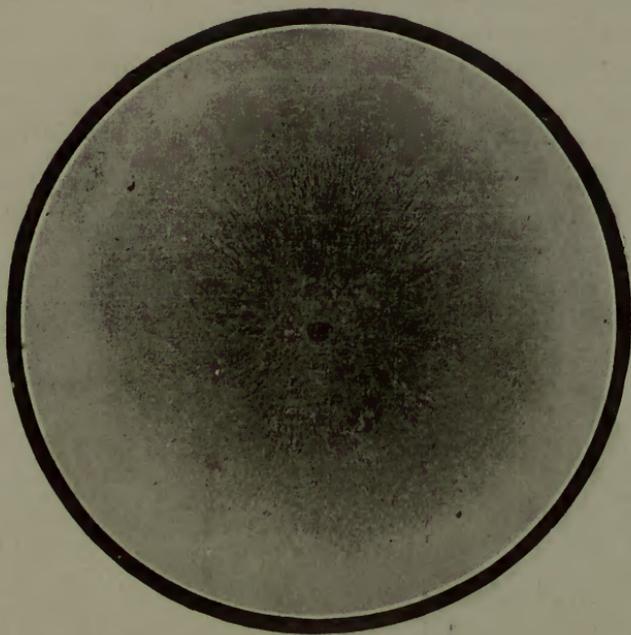


Sedimento urinario de B.
Augmento de 590 D.
Microphotographia original

- 12) Prova dos assucares — Indicador phenol-sulfone-phtaleina.
 - a) acidez e desprendimento de gazes nos meios com

- mannita, lactose, maltose, glycose, dextrina, levulose, galactose, arabinose, salicina, dulcita;
- b) ausencia de acidez e não desprendimento de gases nos meios com saccharose.

PLACA DE PETRI COM GELOSE SIMPLIS



Colonia superficial de colibacillo de B.
Augmento de 56 D.
Microphotographia original

- 13) Prova da glicerina — produção de acidez sem gases em meios glicerinados.
- 14) Reduz os nitratos ao estado de nitritos. Empreguei um meio constituído de:

Peptona Witte	5,0
Chloreto de sodio.....	2,5
Azotato de potassio.....	0,50
Agua	500,0

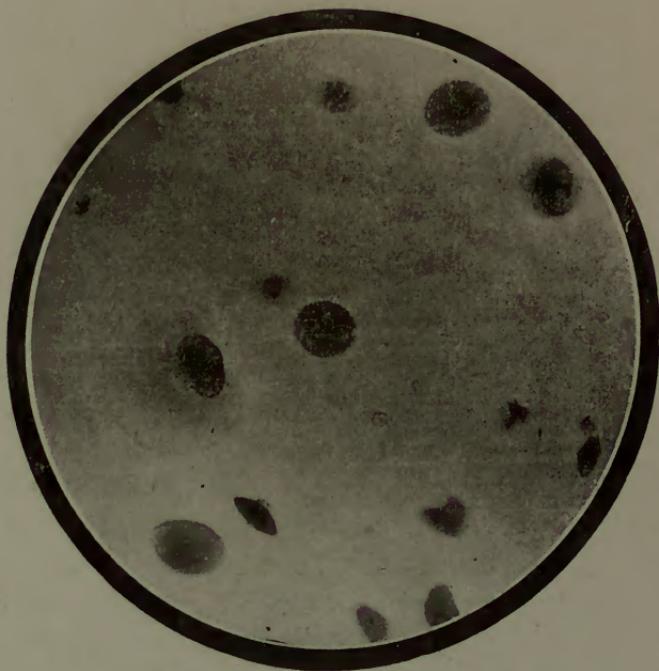
Esterilisação a 115°, durante 15'. Pesquisei os nitritos em 10 cm.³ de cultura no 8.º dia de incubação na

BIBLIOTECA DA FAC. DE MEDICINA

estufa a 37°, pela addicção de ½ cc. de mucilagem de amido com 0,50 por 100 de iodeto de potassio (recentemente dissolvido), seguida da mistura de algumas gottas de acido sulfuroso ¼. Reacção positiva franca: côr azul escura, que passou ao vermelho. Os testemunhos ficaram incolôres.

- 15) Reacção do indol — pesquisa positiva com technica següinte: a 10 cm.³ de caldo de peptona Witte cultivado durante 48 horas, addicionei 2 cm.³ do reactivo de Ehrlich (paradimethylamidobenzaldehydo 2,0 alcool a 95° 190 cm.³, acido chlorhydrico 40 cm.³), depois 2 cm.³ de soluto saturado de persulfato de potassio.

PLACA DE PETRI COM GELOSE SIMPLIS



Colonias profundas de colibacillo de B.
Augmento de 56 D.
Microphotographia original

Evitei misturar os reactivos o menos possivel com o fim de observar na zona de separação dos liquidos

uma bella coloração avermelhada que demonstrou a presença do indol.

PLACA DE PETRI COM GELOSE SIMPLES



Colônias profundas de colibacillo de B.
Augmento de 56 D.
Microphotographia original

- 16) Fluorescencia e coloração amarella canario na agua de carne com vermelho neutro.
- 17) Colonia esbranquiçada na cenoura, bem visivel no 8.º dia.
- 18) Vegetação pouco apparente no nabo.
- 19) Pesquisa do poder hemolytico — gottas de sangue humano foram adicionadas a tres tubos de caldo (3 gottas por tubo). Depois do sangue se ter depositado no fundo do tubo, fiz a sementeira do germe isolado. Não houve hemolyse no fim de 4 dias de incubação na estufa a 37º.
- 20) Reacção de Voges-Proskauer — negativa. A' cultura

de 3 dias em caldo glycosado a 2 por 100 num tubo de fermentação, misturei partes iguaes de soluto forte de potassa caustica (2 cc. do soluto de KOH a 10 %).

Pela exposição ao ar, não se formou a côr rosa característica da reacção positiva — isto é, o acetyl-methyl-carbinol, em presença do ar e da potassa, não se oxydou em diacetil, para dar com algum componente da peptonã a coloração rosea.

Utilizei, ainda, para a verificação da reacção de Voges-Proskauer, o methodo de Bunker, Tucker e Green que, com o fim de facilitar a acção do oxygenio, emprega vidros de relógio “Syracusa” (8 cm. de profundidade e 5 cm. de diametro) com 1 cm.³ de caldo phosphatado peptonã, glycose e PO^4K^2H ãã 5,0 mais 100 cc. dagua).

Incubada a 37° a cultura durante 48 horas, adicionei ½ cc. de soluto aquoso de hydrato de sodio a 45 %. Em 1 ½ hora não appareceu a coloração característica.

- 21) Sôro sanguineo — faixa espessa, brilhante, humida, de côr acinzentada.
- 22) Gelose glycosada em picada — abundante formação de gazes.
- 23) Caldo arsenical — o germe isolado desenvolveu-se neste meio.
- 24) Agua peptonada — turvação, fina pellicula na superficie, odor fecaloide.
- 25) Em caldo coberto de camada de oleo de vaselina — obtive crescimento em anaerobiose do germe em estudo.
- 26) Alcachofra — é enverdecida.
- 27) Gelatina em placas:
 - a) Tamanho natural: colonias opacas, humidas; a luz reflectida, bordos irisados e leve matiz azulado;
 - b) Augmento a 80 D. — colonias amarelladas, mais tarde leve aspecto gorduroso e nitidamente amarellas.

- 28) Reacção do vermelho methyla — Preparei o soluto indicador desta reacção dissolvendo 0,1 de vermelho methyla em 300 cc. de alcool, com addicção de q. s. de agua distillada para fazer 500 cc. A 5 em.³ da cultura em caldo glycosado juntei 5 gottas do soluto indicador. Formou-se então leve coloração vermelha.

II. — Diagnostico bacteriologico differencial. Identificação

A fórma em bastonete, o facto de decompôr numerosos hydratos de carbono com acidez e desprendimento de gazes, bem como a não producção de acetyl-methyl-carbinol faz incluir a bacteria isolada no genero *ESCHERICHIA CASTELLANI* e *CHALMERS*.

A ausencia de acidez e gazes nos meios saccharosados, a presença de acidez e gazes nos meios culturaes com salicina e dulcita, a mobilidade, a reducção dos nitratos e a coagulação do leite permittem diagnosticar *ESCHERICHIA COLI* ou *COLIBACILLO*.

Consoante a modificação do quadro da “*SOCIETY OF AMERICAN BACTERIOLOGISTS*”, tem pois a seguinte formula:

2 1 1 1 2 3 2 2 2 1 1 3 1 0 2 2 (vide quadro)

Desnecessario é pôr em relevo que as classificações propostas para os germes “coliformes” são criticavejs. Algumas são baseadas exclusivamente na acção da bacteria sobre as substancias azotadas (hydrogenio sulfurado, indol): outras justificam-se grandemente nos caracteres de imobilidade.

Baseando-se nas fermentações dos assucares em meio liquido, Mac Conkey admite, assim, quatro raças de colibacillo:

- 1) Fermentação da dulcita e saccharose — *Bacillus coli communior*.

- 2) Fermentação da dulcita e ausencia de fermentação da saccharose — *Bacillus coli communis*.
- 3) Fermentação da saccharose e ausencia da fermentação da dulcita — *Bacillus aerogenes*.
- 4) Ausencia de fermentação da dulcita e saccharose — *Bacillus acidi lactici*.

Distaso distingue, por sua vez, seis raças de colibacillos, que reduzem o vermelho neutro, coagulam o leite, formam indol e decompõem a mannita, maltose e lactose. Os typos mais frequentes são:

- 1) Immoveel — *Bacillus coli vulgaris*.
- 2) Moveel, decomposição da dulcita e ausencia de fermentação da saccharose — *Bacillus coli communis*.
- 3) Moveel, fermentação da saccharose e ausencia de decomposição da dulcita — *Bacillus coli inversus*.
- 4) Moveel, redução da saccharose e dulcita — *Bacillus coli communior*.

Pela classificação de Kligher, baseada na acção sobre a saccharose e a salicina, distinguem-se:

Germes que atacam a saccharose e a salicina — *Bacillus aerogenes*.

Germes que atacam a saccharose e não a salicina — *Bacillus coli communior*.

Germes que atacam a salicina e não a saccharose — *Bacillus coli communis*.

Germes que não atacam a saccharose e a salicina — *Bacillus acidi lactici*.

Convem ainda citar entre as classificações mais seguidas a de Castellani e Chalmers, que incluem como vimos os colibacillos no genero *ESCHERICHIA*, da tribu *EBERTHEAE*.

O genero *ESCHERICHIA* comporta duas divisões:

- 1) Divisão anindologica, com um typo unico, *Bacillus coli mutabilis de Massini*.

- 2) Divisão indologena, que comprehende 17 typos distinguiveis pela acção sobre os hydratos de carbono e glycosides, assim como pela presença ou ausencia da mobilidade.

Limitando-me a citar sómente as classificações mais seguidas, lembro que Bergey e Dechan (1908) e Jackson (1911), basearam primeiro as suas classificações na fermentação da saccharose e dulcita e secundamente na decomposição da adonita e inulina, na reacção de Voges-Proskauer, motilidade, formação de indol e liquefação da gelatina.

Os principaes typos dessa classificação são os seguintes:

- I. Saccharose—; Dulcita—: *Bacillus acido lactici*.
- II. Saccharose—; Dulcita+: *Bacillus coli communis*.
- III. Saccharose+; Dulcita—: *Bacillus coscoroba* (*Bacillus aerogenes* (V.-P.+), e *Bacillus cloacae* (V.-P.+ , gelatina+).
- IV. Saccharose+; Dulcita+: *Bacillus communior* (*Bacillus neapolitanus* (não movel).

Emfim, a mais simples e pratica das classificações colibacillares nos parece ser a de Besson, cuja base accenta nas fermentações dos assucares e, secundariamente, nas produções de indol e hydrogenio sulfurado. Admitte, pois, tres raças:

a) Raça A	Não decompõe a saccharose e a dulcita em gelose inclinada	comprende tres typos	A ¹ (colibacillo d'Escherich) producção de indol e hydrogenio sulfurado.
			A ² producção de hydrogenio sulfurado; ausencia de indol.
			A ³ ausencia de indol e hydrogenio sulfurado.

b) Raça B	apresenta dois typos	B ¹ produção de indol e hydrogenio sulfurado.
{ decompõe a sacarose, porém não a dulcifica em gelose inclinada		B ² produção de hydrogenio sulfurado, ausencia de indol.
c) Raça C	Besson cita só um typo que provocou a formação de hydrogenio sulfurado e indol.	
{ decompõe a sacarose e a dulcifica em gelose inclinada		

III. — Isolamento do bacteriophago

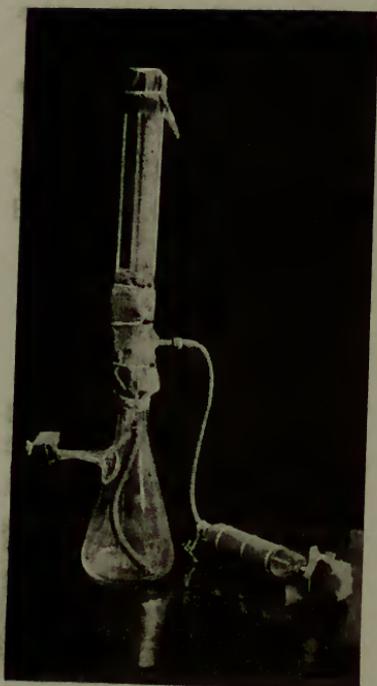
Vejamos agora como isolei o bacteriophago. Em primeiro lugar, fiz semeadura das fézes de B em 3 balões com 200 cc. de caldo simples. Depois de 48 horas de incubação



Objetos necessarios para a construeção do aparelho de filtração

desse material na estufa a 37°, filtrei-o em vela Chamberland L³, utilizando um dispositivo pratico constituído por:

- 1) Vela Chamberland L³ em envoltorio de ferro.
- 2) Frasco de Kitasato.



Apparelho de filtração prompto para a esterilização

- 3) Funil de vidro.
- 4) Bomba pneumática.
- 5) Pêra de borracha.
- 6) Tela de borracha.
- 7) Algodão.
- 8) Pinças de Mohr.
- 9) Agulha de platina.
- 10) Tubos de borracha.
- 11) Rolha de borracha com dois orifícios, atravessada por dois tubos de vidro, sendo um delles recurvado.
- 12) Vidro de lampeão.
- 13) Supporte de ferro com pinças de apprehensão.
- 14) Papel de filtro e terra de infusorios.

Armado o aparelho, procedi a sua esterilização no autoclave a 120°, durante 20'.

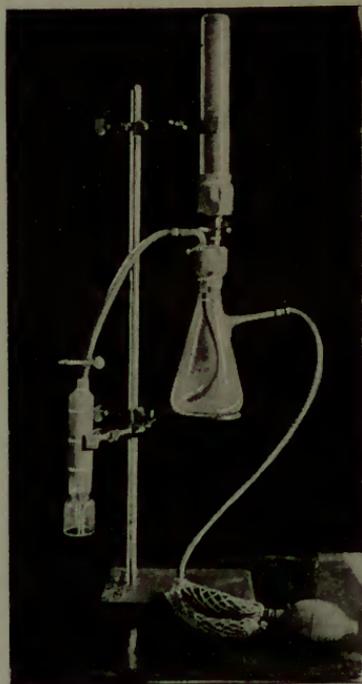
Realisei, em seguida, a filtração da cultura em papel com terra de infusorios.

Depois fiz a aspiração, com o auxilio da machina pneumática, no tubo lateral do frasco de Kitasato. Passado todo o liquido atravez da vela Chamberland L², comprimi o tubo de borracha, com auxilio de uma pinça de Mohr, ligando no tubo lateral do frasco de Kitasato, uma pêra de borracha, destinada a fazer a compressão do filtrado. Com o auxilio desse dispositivo, distribui asepticamente o liquido em empôlas esterilizadas e em tubos de ensaio, igualmente estereis.

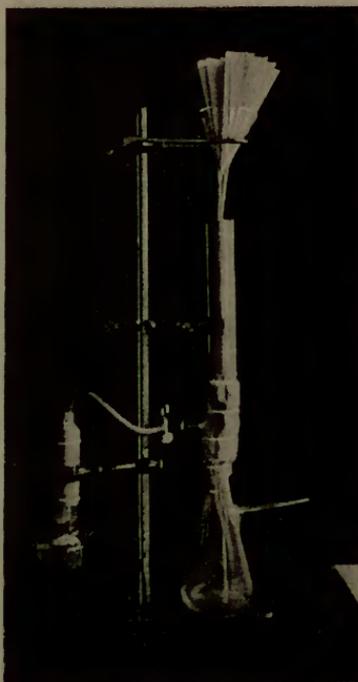
Verificação da presença de bacteriophago no filtrado das fézes sobre o germe isolado da urina de B. — Para rea-

lisar esta observação tomei, 7 tubos de caldo simples (20 ce. para cada tubo), nos quaes addicionei:

- 1.º tubo: + 2 gottas de cultura recente do germe de B. em caldo simples + 1,0 do filtrado das fezes.
- 2.º tubo + 2 gottas de cultura recente do germe de B. em caldo simples + 0,90 do filtrado das fezes.



Apparelho de filtração armado para distribuir o bacteriophago



Apparelho preparado para filtrar o bacteriophago

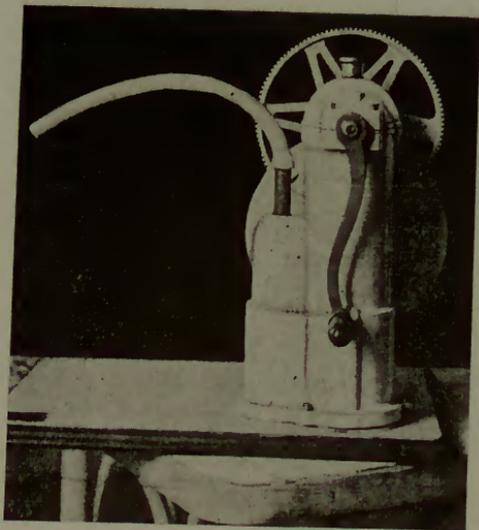
- 3.º tubo: + 2 gottas de cultura recente do germe de B. em caldo simples + 0,80 do filtrado das fezes.
- 4.º tubo: + 2 gottas de cultura recente do germe de B. em caldo simples + 0,70 do filtrado das fezes.
- 5.º tubo: + 2 gottas de cultura recente do germe de B. em caldo simples + 0,60 do filtrado das fezes.

6.º tubo: + 2 gottas de cultura recente do germe de B. em caldo simples + 0,50 do filtrado das fézes.

7.º tubo: + 2 gottas de cultura recente do germe de B. em caldo simples (sem filtrado).

Incubação na estufa a 22°. Em 20 horas nôtei turvação uniforme em todos os tubos. Material retirado de todos os tubos, semeado em placas de gelose simples deram colonias normaes, não influenciadas pelo bacteriophago.

Pela nova filtração do conteúdo do tubo n.º 1 e 2, obtive um liquido que serviu igualmente para experiencia analoga á presente. Uma terceira prova com esse liquido novamente



Machina para fazer o vasio no aparelho de filtração

filtrado resultou tambem negativa quanto a presença do principio lysante para o germe isolado da urina de B.

Resolvi, por isso, procurar o bacteriophago em urina de pyelo-nephriticos, para o que semiei em 200 cc. de caldo simples 1 cc. de urina de uma doentinha, com infecção urinaria colibacillar, sem manifestações geraes ha mais de anno. Após a incubação dessa cultura na estufa a 37°, durante 2 dias, filtrei-a usando o dispositivo já descripto.

Executei então a seguinte experimentação:

- 1.º tubo: caldo simples (20 cc.) + 2 gottas da cultura + 0,50 do filtrado da cultura da urina.
- 2.º tubo: caldo simples (20 cc.) + 2 gottas da cultura + 0,60 do filtrado da cultura da urina.
- 3.º tubo: caldo simples (20 cc.) + 2 gottas da cultura + 0,70 do filtrado da cultura da urina.
- 4.º tubo: caldo simples (20 cc.) + 2 gottas da cultura + 0,80 do filtrado da cultura da urina.
- 5.º tubo: caldo simples (20 cc.) + 2 gottas da cultura + 0,90 do filtrado da cultura da urina.
- 6.º tubo: caldo simples (20 cc.) + 2 gottas da cultura + 1,0 do filtrado da cultura da urina.
- 7.º tubo: caldo simples (20 cc.) + 2 gottas da cultura.
- 8.º tubo: caldo simples (20 cc.) + 1,0 de filtrado da cultura da urina.

Sómente o tubo 7.º apresentou turvação uniforme ao cabo de 42 horas, ficando os outros quasi limpídos. Semeaduras em tubos de gelose simples com o caldo do tubo 1.º, 2.º, 3.º, 4.º, 5.º, 6.º, deram colonias nitidamente influenciadas pelo principio de d'Herelle. O tubo 8.º ficou esteril (testemunha da bôa esterilização do filtrado urinario, isto é, da ausencia de bacterias vivas).

IV. — Exaltação do poder do bacteriophago sobre o germe isolado de B.

Pratiquei, com o fim de conseguir um principio lytico altamente activo, as passagens em série, utilizando culturas recentes de colibacillo de B., em caldo simples.

Tomei 2 balões com 200 cc. de caldo cômum.

No 1.º balão addicionei 50 gottas de filtrado da cultura do tubo n.º 1 + 3 alças de cultura recente de colibacillo em gelose ordinaria (12 horas).

No 2.º balão: 3 alças da mesma cultura.

Após 24 horas de incubação na estufa a 22° o caldo do balão n.º 1 ficou inteiramente limpo, ao passo que o líquido do 2.º balão apresentou turvação bem visível.

Com technica igual fizemos 10 passagens do principio lytico em caldo com colibacillos recentes, conseguindo verificar, deste modo, o augmento do poder lytico dos filtrados em série.

Para apreciar melhor os efeitos do bacteriophago isolado, dividi em dois frascos de Erlemmeyer certa porção de urina de B., recentemente colhida, com turvação muito accentuada. Num dos frascos addicionei 1 cc. do filtrado com bacteriophago. Depois de 4 horas essa mistura de filtrado e porção de urina, tornou-se limpa, enquanto a outra metade de urina mantinha a turvação anteriormente apresentada.

Repetimos diversas vezes esta experiencia sempre com identicos resultados.

Devo aqui mencionar tambem as experiencias feitas por mim com o fim de verificar a acção da glicerina a 30 % sobre o bacteriophago. Para isso levei a estufa a 22° dois balões um com 15 gottas de glicerina pura esteril e 20 gottas da cultura do colibacillo em caldo e outro addicionado de 20 gottas da mesma cultura e 65 gottas do bacteriophago da nona passagem com glicerina a 30 %. Após 26 horas estas misturas estavam inteiramente turvas e pela semeadura em gelose simples deu colonias normaes. Donde conclui que a glicerina a 30 % tem acção nociva sobre o bacteriophago anti-colibacillar estudado.

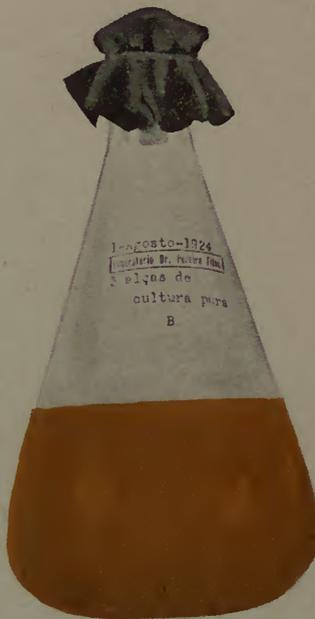
Entrementes, aqueci esse principio lytico a 56°, durante 30', praticando a seguinte prova:

- 1.º tubo: com 20 cc. de caldo simples + 2 gottas da cultura + 0,50 de bacteriophago da 6.ª passagem.
- 2.º tubo: com 20 cc. de caldo simples + 2 gottas da cultura + 1,0 de bacteriophago da 6.ª passagem.
- 3.º tubo: com 20 cc. de caldo simples + 2 gottas da cul-

PHENOMENO DE D'HERELLE



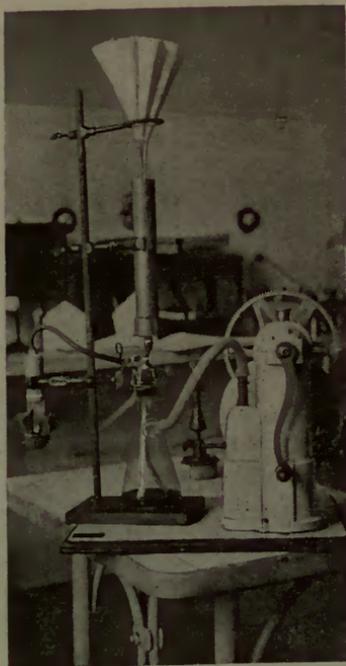
Cultura lysada



Cultura não lysada

- tura + 0,50 de bacteriophago da 6.^a passagem aquecido.
- 4.^o tubo: com 20 cc. de caldo simples + 2 gottas da cultura + 1,0 de bacteriophago da 6.^a passagem aquecido.
- 5.^o tubo: com 20 cc. de caldo simples + 2 gottas da cultura.
- 6.^o tubo: com 20 cc. de caldo simples + 1,0 de bacteriophago da 6.^a passagem.
- 7.^o tubo: com 20 cc. de caldo simples + 1,0 de bacteriophago da 6.^a passagem aquecido.

Decorridas 21 horas, com excepção do caldo do tubo 5.^o, todos os outros apresentavam-se inteiramente limpidos. Conclui, pois, que o bacteriophago não é alterado por esse aquecimento moderado, sufficiente, todavia, para matar grande numero de bacterias não esporuladas. Dignas de registro são tambem as inoculações praticadas em quatro cobaios, com o fim de demonstrar a inocuidade absoluta do producto lytico na dose de 10 e 15 cc.

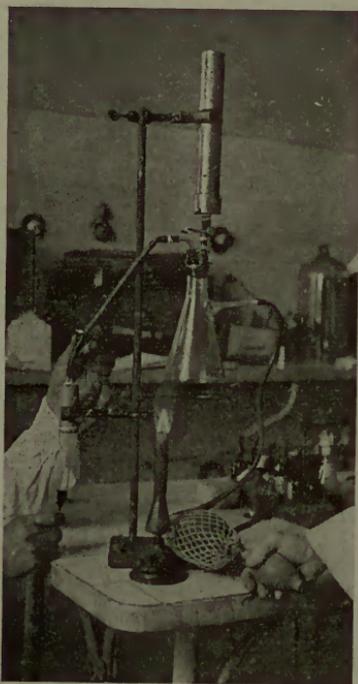


Filtração do bacteriophago

V. — **Aplicação therapeutica e resultados colhidos**

B., soffre desde os primeiros mezes de perturbações enteriticas. Por vezes, micturação frequente, acompanhada de dôres, excitabilidade nervosa, emmagrecimento, pallidez,

temperatura alta com grandes oscillações. Coqueluche, embaraços digestivos frequentes. Apparelho respiratorio normal. Reacção de Wassermann negativa.



Distribuição aséptica do bacteriophago em empôlas

O exame de urina accusou, durante os excessos febris, vestigios de albumina. No sedimento urinario havia grande quantidade de piocytos, algumas cellulas epitheliaes, diversas cellulas renaes, ausencia de cylindros e numerosos bacillos, moveis, Gram negativos, alguns crystaes de acido urico.

Foi submettida a medicação classica: urotropina, helmitol, salol, benzoato de sodio, bicarbonato de sodio e mesmo citrato de potassio até forte alcalinização da urina sem se obter a cura clinica e bacteriologica. O hipol e a amfotropina

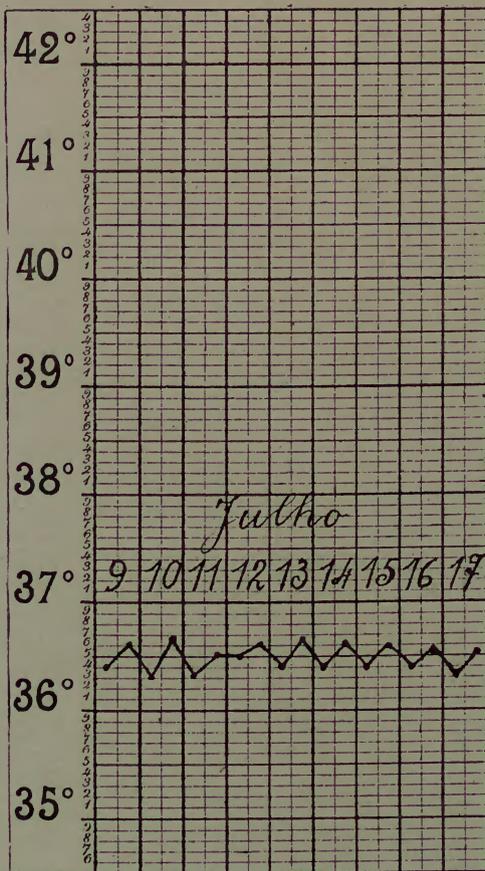
(derivados da urotropina) foram tambem administrados com igual resultado. Vaccinas autogenas, em doses fracas e crescentes, não foram bem toleradas. Medicação tonica emulsão de Kepler (internamente) e ovolecithina Billon (em injeções sub-cutaneas).

TRATAMENTO PELO BACTERIOPHAGO. — No dia 9 de Julho, ás 10 horas, os Profs. Octavio de Souza e Guerra Blessmann praticaram em B.:

a) uma injeção sub-cutaneá de bacteriophago(1 cc.);

b) uma injeção vesical do mesmo producto (10 cc.).

O exame da urina colhida pelo catheterismo, antes da



Quadro thermico de B., durante o tratamento pelo bacteriophago

administração do bacteriophago, deu o seguinte resultado: numerosos piocytos agglomerados, diversas cellulas renaes, numerosos bacillos Gram negativos e algumas cellulas epitheliaes; alguns granulos de urato de sodio. Não havia outros elementos anormaes. Densidade a $+15^{\circ}$: 1018,1. Na urina emittida ás 13 horas (primeira micção depois da injeção vesical do principio lytico da 7.^a passagem) o exame microscopico accusou a agglutinação dos germes que haviam perdido a sua mobilidade natural.

A's 17 horas, B. ingeriu 10 cc. de bacteriophago.

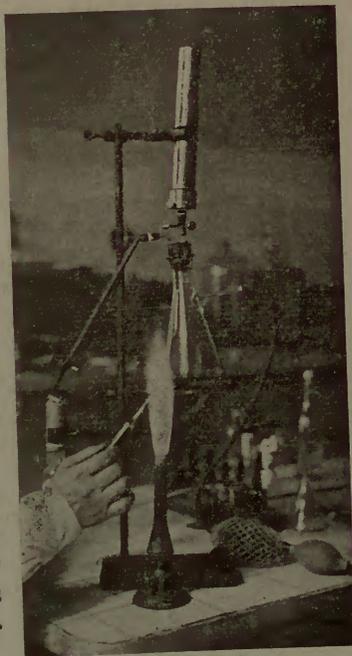
A's 19 horas, ligeiros suores, não havendo modificações thermicas, como se pôde notar no quadro junto. Estado geral excellente. Appetite.

No ponto da inoculação sub-cutanea (face externa da coxa direita), notou-se rubor e dôr pela pressão moderada. Micções frequentes.

Dia 10. — Pela manhã, os Profs. Octavio de Souza e Guerra Blessmann praticaram em B. as 2.^{as} injeções vesical e sub-cutanea do principio lytico da 8.^a passagem (respectivamente 10 cc. e 2 cc. de bacteriophago).

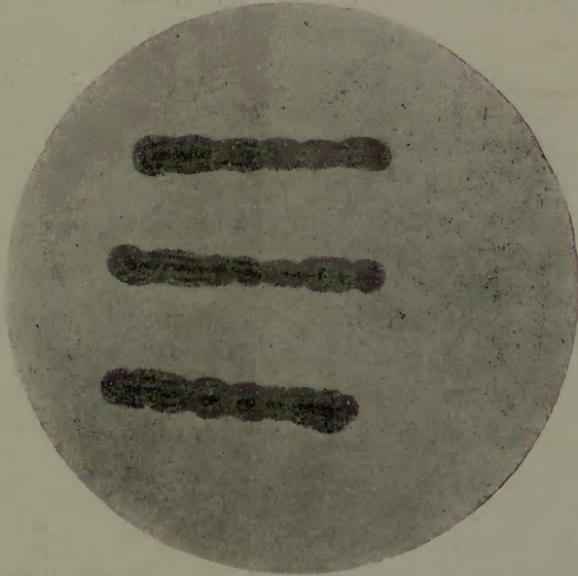
A's 17 horas, administrou-se a B., por via oral, 10 cc. de bacteriophago.

Micções menos frequentes, urinas mais claras e germes mais agglutinados, piocytos consideravelmente diminuidos, raras cellulas renaes. Não se notou a menor perturbação geral.



Fechamento das empôlas
com bacteriophago

Dia 11. — Nova administração em B., pelos Profs. Octavio de Souza e Guerra Blessmann, do bacteriophago da 9.^a



Colonias normaes de colibacillo de B., em gelose simples

passagem pela via sub-cutanea (3 cc.) e vesical (10 cc.). A' tarde, B. ingeriu 10 cc. do mesmo principio lytico. Cinco micções durante o dia. Urina levemente turva, com deposito insignificante, poucos piocytos, e sómente diversos bacillos immoveis. Não se encontraram cellulas renaes.

Dia 12. — Bacteriophago da 10.^a passagem foi injectado, na dóse de 10 cc. por via vesical em B. (Profs. Octavio de Souza e Guerra Blessmann). Urina consideravelmente limpida, com deposito quasi nullo, raros piocytos, isolados, poucos bacillos immoveis, Gram negativos, ausencia de cellulas renaes e cylindros.

Estado geral excellente. Augmento do appetite.

Reacção local no ponto da injeção sub-cutanea. Quatro micções por dia.

Dia 13. — Pelos illustrados Professores de Clinica Medica e Cirurgica da nossa Faculdade foi feita a ultima in-

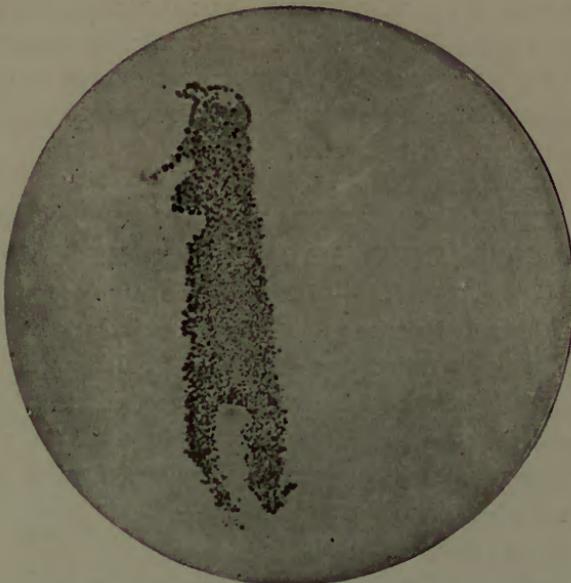
jecção de bacteriophago da 11.^a passagem em B., pela via vesical (10 cc.).

A's 17 horas, B. ingeriu 10 cc. do mesmo bacteriophago.

Accentuaram-se extraordinariamente as melhoras clinicas de B. Durante a tarde urinou uma unica vez. Não teve micções durante o somno, como era habitual antes da administração do bacteriophago.

Com uma série de frascos de Erlemmeyer, contendo a urina de diversas micções dos dois ultimos dias, podia-se verificar claramente que a urina ia ficando cada vez mais limpida.

O exame microscopico accusou alguns leucocytos, poucos bacillos, Gram negativos, immoveis, algumas cellulas epitheliaes, raros granulos de urato de sodio. Ausencia de



Colonias de colibacillo de B., influenciadas pelo bacteriophago

cylindros e cellulas renaes. Appetite augmentado.

Dia 14. — Urina limpida, com leve deposito floccoso, re-

acção acida, ausencia de piocytos, rarissimos bacillos gram negativos.

Dia 16. — Urina com aspecto limpido, sem piocytos e esteril. Raros leucocytos. Estado geral magnifico.

Em conclusão:

5 injeções de bacteriophago por via intra-vesical (10 cc.)

3 injeções de bacteriophago por via subcutanea (1, 2, 3 cc.)

5 injeções de bacteriophago por via oral (10 cc.)

deram em B. a cura clinica e bacteriologica de uma infecção urinaria colibacillar, rebelde a medicação classica, sem reacções geraes.

B. augmentou sensivelmente de peso, mantendo-se actualmente em estado de saude perfeita, com urinas claras e esteis e sem as rechidas frequentes que tanto difficultam o seu desenvolvimento organico. Não tem dieta, nem fez uso de antisepticos urinaes.

ALGUMAS CONSIDERAÇÕES SOBRE O TRATAMENTO ESPECIFICO DAS INFECÇÕES COLIBACILLARES URINARIAS. — Ha diversos annos tenho observado em algumas culturas de colibacillos isolados das urinas o aspecto caracteristico das chamadas "colonias mixtas" de d'Herelle. Eram procedentes de casos de pyelites chronicas, sem grandes manifestações clinicas. Nestes doentes verifiquei que as vaccinas autogenicas preparadas em doses crescentes, não eram bem toleradas — havia como que uma sensibilização do organismo.

Noutras occasiões em que as colonias bacterianas eram normaes, não apresentando, por consequente, zonas claras de bacteriophago, as vaccinas produziram resultados surprehendedentes, sem que os doentes apresentassem manifestações geraes desagradaveis.

A meu vêr, esses casos de intolerancia pela vaccina colibacillar pôdem ser explicados pela hypersensibilização do organismo pelas inoculações repetidas e espaçadas do bacteriophago contido na cultura.

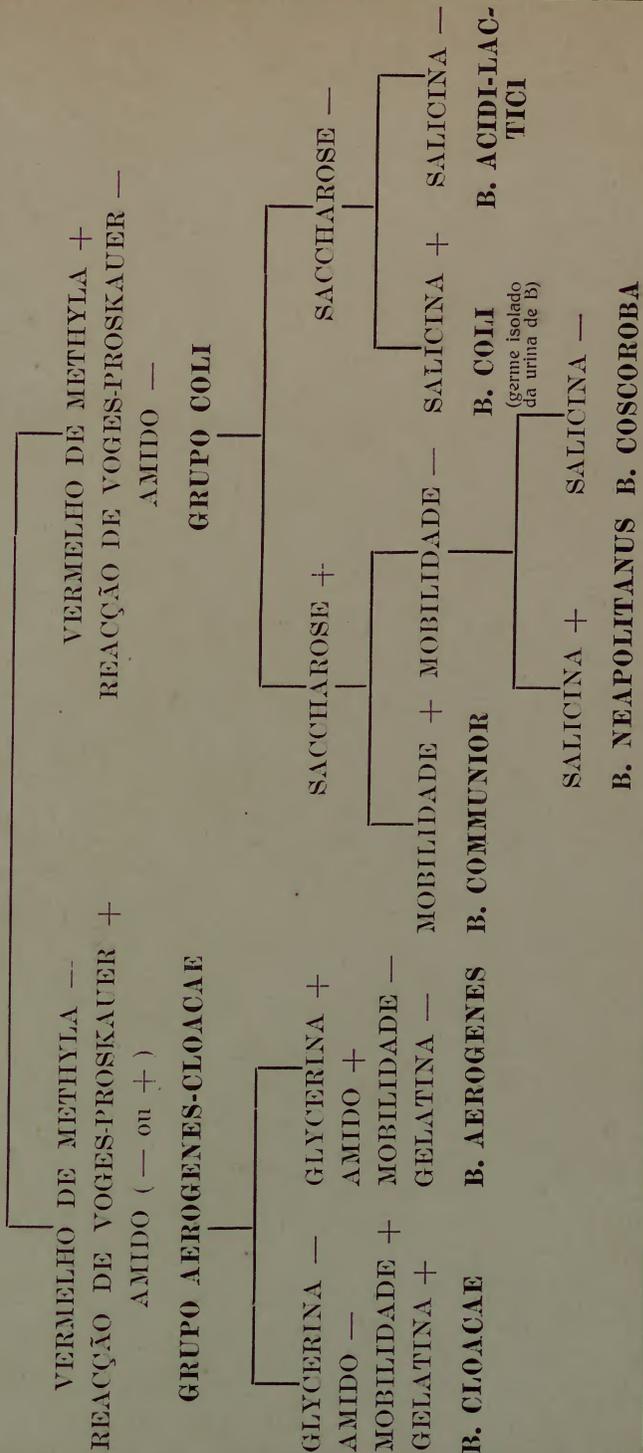
Dahi o preceito pratico, quando se quizer utilizar a vaccinação de Wright, de expuigar completamente das culturas de colibacillo o respectivo bacteriophago, o que se consegue fazendo uma série de passagens da bacteria em gelose simples, colhendo o material a semeiar dos pontos não influenciados pelo principio lytico.

Modificação do quadro adoptado pela "Society of American Bacteriologists"

- 100.000.000 — cocco
- 200.000.000 — bacillo
- 300.000.000 — cocco-bacillo
- 10.000.000 — movel
- 20.000.000 — immovel
- 1.000.000 — gram negativo
- 2.000.000 — gram positivo
- 100.000 — coagula o leite
- 200.000 — não coagula o leite
- 10.000 — capsulado
- 20.000 — não capsulado
- 1.000 — turvação uniforme do caldo
- 2.000 — ausencia de turvação uniforme do caldo
- 3.000 — turvação uniforme e pellicula
- 4.000 — flócos
- 100 — endosporos
- 200 — ausencia de endosporos
- 10 — aerobio estricto
- 20 — anaerobio facultativo
- 30 — anaerobio estricto
- 1 — liquefação da gelatina
- 2 — ausencia de liquefação da gelatina
- 0,1 — acidez e gazes em meio glycosado
- 0,2 — acidez sem gazes em meio glycosado
- 0,3 — ausencia de acidez em meio glycosado
- 0,4 — não vegeta em meio glycosado
- ,01 — acidez e gazes em meio lactosado
- ,02 — acidez sem gazes em meio lactosado
- ,03 — ausencia de acidez em meio lactosado
- ,04 — não vegeta em meio lactosado
- ,001 — acidez e gazes em meio saccharosado
- ,002 — acidez sem gazes em meio saccharosado
- ,003 — ausencia de acidez em meio saccharosado
- ,004 — não vegeta em meio saccharosado
- ,0001 — redução de nitratos com desprendimento de gazes
- ,0002 — ausencia de redução de nitratos
- ,0003 — redução de nitratos sem desprendimento de gazes
- ,00001 — fluorescente
- ,00002 — violeta
- ,00003 — azul
- ,00004 — verde
- ,00005 — amarello
- ,00006 — alaranjado
- ,00007 — vermelho
- ,00008 — pardo
- ,00009 — roseo
- ,00000 — não chromogenico
- ,000001 — forte acção diastastica sobre a batata
- ,000002 — fraca acção diastastica sobre a batata
- ,000003 — ausencia de acção diastastica sobre a batata
- ,0000001 — acidez e gazes em meio glycerinado
- ,0000002 — acidez sem gazes em meio glycerinado
- ,0000003 — ausencia de acidez em meio glycerinado
- ,0000004 — não vegeta em meio glycerinado

CHAVE DE MAX LEVINE

GLYCOSE +
LACTOSE +



CAPITULO VII

Diagnostico etiologico do syndrome dysenteriforme em Porto Alegre, com especial referencia aos doentes recolhidos ao Hospicio São Pedro.

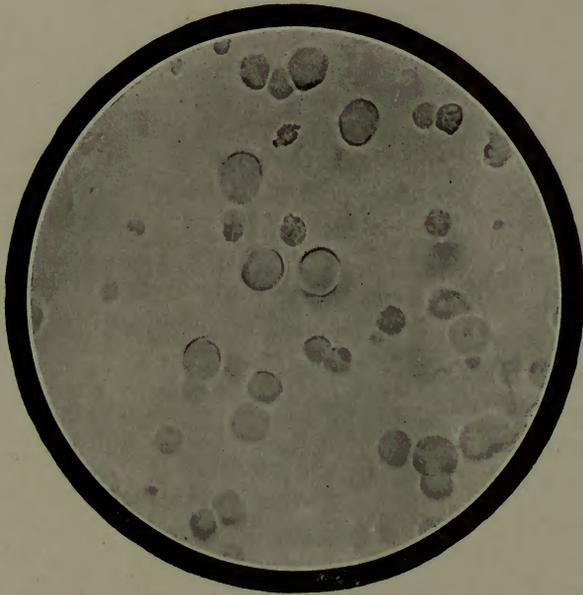
Decorridos são cerca de tres annos que venho examinando enfermos recolhidos ao Hospicio São Pedro, mercê da fidalga annuência do pranteado e illustre Prof. Dioclecio Pereira e dos emeritos clinicos Profs. José Carlos Ferreira e Octacilio Rosa.

Perqueri a principio os estados dysenteriformes capazes de confusão com os syndromes das dysenterias. Sabida que foi a ausencia de ingestão de carnes avariadas, conservas ou outros productos toxicos pelos observados, procurei afastar ainda, pela observação clinica, as fórmãs de entero-colite muco-membranosa e os casos de estreitamento do recto, que, por vezes, são acompanhados de fézes muco-sangrentas. Pelo que diz respeito ao parasitismo intestinal, merece tambem menção o diagnostico de diversos casos de dysenteria amebica, bem como a existencia nas fézes de varios doentes de *Trichomonas intestinalis*, *Lambliã intestinalis*, *Tetramitus Mesnili* e *Balantidium coli*. Foi por igual verificada a presença de ovos e embryões de helmintos.

Muito embora tivesse feito exames parasitologicos demorados e repetidos, em grande numero de espécimes de materias fecaes, não encontrei protozoarios, possiveis agen-

tes da symptomatologia observada. Certos signaes clinicos, contudo, permittiram esquadrihar a hypothese de uma dysenteria bacillar ou parabacillar. Sobravam, por outro lado, os casos da clinica privada do corpo medico local, com

PLACA DE PETRI COM GELOSE SIMPLES



**Colonias de bacillos Shiga-Kruse - Augmento de 56 D.
Microphotographia original**

pesquisas coprológicas negativas em relação á entamebas, apresentando, todavia, as fézes as características microscópicas da dysenteria bacillar. Restava, pois, dar base solida a essa bem orientada suspeita clinica. Era o trabalho do laboratorio bacteriologico. Graças, pois, ao methodo experimental, que minudentemente passo a referir consegui diagnosticar de modo irrefutavel, a dysenteria bacillar no nosso Estado.

Além disso, cumpre, por ultimo, notar que as colites pelos espirillos, bacillos do grupo coli-typhico-paratyphi-



Semeadura do material suspeito em meio de δ ndo
(muco ou fézes diluidas)

cos, assim como as tuberculosas foram objectos de pesquisas repetidas. Demais, o exame clinico e os signaes de laboratorio afastaram a existencia de colites uremicas, gottosas e mercuriaes. E' innegavel, entretanto, que em alguns doentes o agente pathogenico não poude ser determinado. Taes casos foram rotulados como de colites de natureza incerta ou cryptogenica, provavelmente produzidas pelas bacterias saprophytas do intestino, accidentalmente virulentas, por algum germe ainda desconhecido ou pela produção, no colon, de substancias nocivas á mucosa intestinal.

PLACA DE PETRI COM GELOSE SIMPLES



Colonia de bacillo Flexner - Augmento de 56 D.
Microphotographia original

Com diminutas cambiantes, a technica adoptada foi sempre a seguinte:

Colheita do material

Recolhi as mucosidades dysentericas em placas de Petri estereis. Em alguns doentes, utilizei a technica de Korthof,

que aconselha, com o auxilio da rectoscopia, retirar porções de tecido sangrento pela curetagem das ulcerações rectaes. E' o processo recommendavel para os casos de mais de 8 dias.

Exame microscopico

A simples analyse desse material, entre lamina e lamella, permittiu verificar nos casos positivos:

- 1) numerosos leucocytes, uns polynucleares e outros grandes mononucleares — (leucocythorrhéa bem apreciavel);
- 2) detrictos de cellulas do epithelio intestinal descamado;
- 3) presença de muco;
- 4) globulos vermelhos;
- 5) bacillos immoveis, raros e contidos, por vezes, no interior de leucocytes;
- 6) ausencia de outros seres capazes de originar o syndrome dysenteriforme;
- 7) pelo *methodo de Gram-Nicolle*, conclui que os bacillos observados eram Gram negativos.

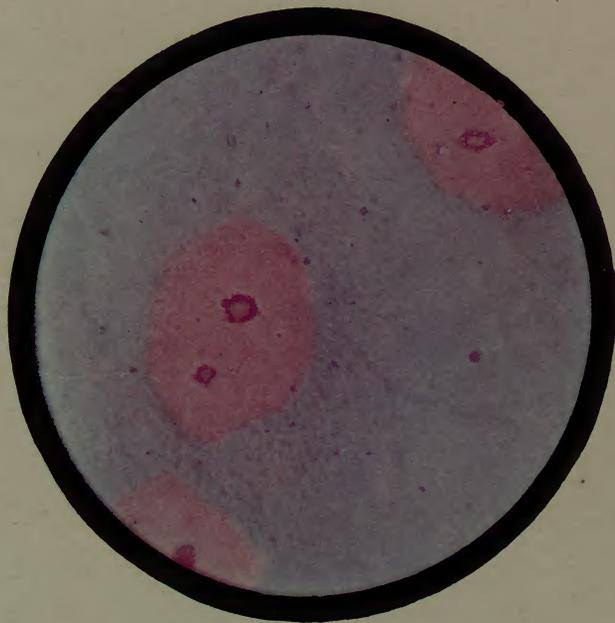
Isolamento dos bacillos

Consoante o período da molestia, variavel foi a technica empregada:

- A) *Mucosidade pura do inicio da infecção* — Com o auxilio de uma pipeta de Pasteur esteril, dobrada em cotovello, passei successivamente uma pequena porção da mucosidade suspeita sobre tres placas de gelose lactosada tournesolada e tambem sobre outras tres com meio de Endo.

E' conveniente lembrar que segui as indicações de Le Dantec que notou nas mucosidades dysentericas collocadas sobre uma lamina de vi-

GELOSE LACTOSADA TOURNESOLADA



Colonias vermelhas - colibacillo.
Colonias incolores ou levemente azuladas - bacilos da especie dysenterica ou do grupo typhico e paratyphico.

dro, tres zonas: uma zona central de côr cinzenta e duas marginaes transparentes como a albumina de ovo. A parte central é muito rica em bacillos,

PLACA DE PETRI COM GELOSE SIMPLES



Colonias de bacillos Hiss - Augmento de 56 D.
Microphotographia original

ao passo que as marginaes são muito pobres. Foi exclusivamente a primeira dellas que utilizei para as sementeiras.

- B) *Mucosidades com materias fecaes* — Lavei a mucosidade em 10 cm.³ de agua physiologica esteril, contida em uma pequena placa de Petri; depois pratiquei o isolamento do germe como em A.
- C) *Materias fecaes diarrheicas ou moldadas* — Emulsionei pequena quantidade de fézes em 5 cm.³ de agua physiologica esterilisada, disseminando, em seguida, com a espatula de Drigalski uma gotta da emulsão em tres placas de gelose lactosada

tournesolada e outra gotta em igual numero de placas com meio de Endo.

Accentuo ainda que tive o cuidado de semear esse material logo depois da emissão, para evitar o crescimento dos colibacillos, o que difficultaria, sobremodo, a separação dos bacillos dysentericos.

Pesquisa dos caracteres das colonias dysentericas

Procurei de preferencia as colonias azuladas em gelose lactosada tournesolada, com o aspecto de gottas de orvalho, ou as colonias incolores ou levemente roseas no meio de Endo.

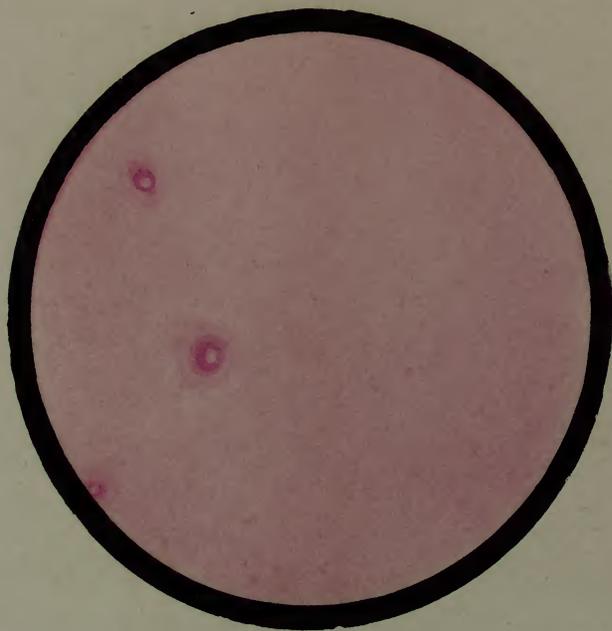
Identificação bacteriologica

Retirei separadamente a metade de diversas colonias que apresentavam os caracteres acima descriptos, com o auxilio de um fio de platina esteril, para fazer:

- 1) *Exame microscopico* dos germes dessas colonias, entre lamina e lamella e em gotta pendente, visando estudar a fórma e as oscillações bacterianas.
- 2) *Exame directo* dos esfregados dessas bacterias, após coloração pelo methodo de Gram. Os processos de Peppler, Yokota, Nicolle e Morax, para coloração de cilios, deram resultados negativos.
- 3) *Processo de Leinart ou agglutinação rapida* — Sobre uma lamina dilui particulas de colonias bacterianas em gottas de sôro anti-Shiga-Kruse ou anti-Flexner (1/100).

A mistura germe de Shiga-Kruse anti-sôro especifico deu uma agglutinação intensa, visivel a olho nú (1 a 5'). Foi simplesmente uma prova de orientação, que não dispensou os outros exames biologicos necessarios para a identificação do germe da especie dysenterica. Em 15 a 16

MEIO DE ENDO



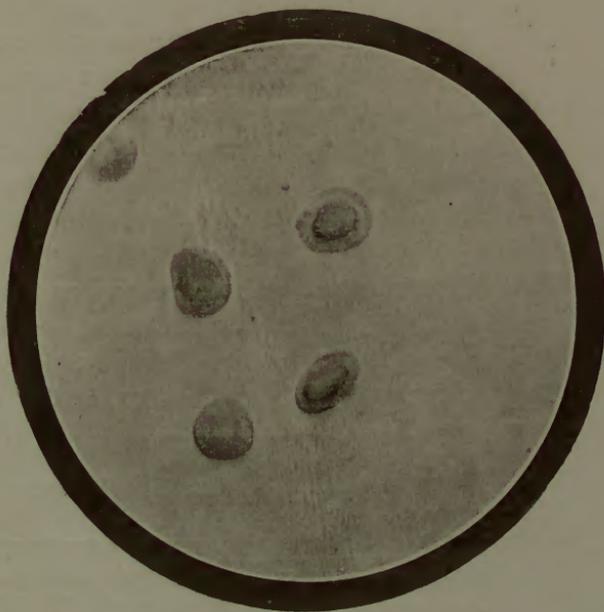
Colonias vermelhas - colibacillo.

Colonias incolores - bacillos da especie dysenterica ou do grupo typhico-paratyphico.

horas, depois da sementeira das fézes, pôde-se ter esta excellente prova orientadora.

- 4) Sementeira em caldo simples da outra metade

PLACA DE PETRI COM GELOSE SIMPLES



Colonias de bacillos Strong - Augmento de 56 D.
Microphotographia original

das colonias examinadas com os caracteres morphologicos e tintoriaes da espécie dysenterica (bacillos de 3 a 5 micra, sem cilios, com movimentos de oscillação).

- 5) Seis horas depois disseminei os germes dessas culturas em tres tubos de gelose inclinada ou em gelose liquida a 40°, fazendo-se então a sementeira em massa. Este segundo proceder, praticado com tres tubos de gelose simples e tres placas de Petri, foi especialmente utilizado quando o exame da cultura em caldo revelou a presença de contaminações microbianas.

- 6) Depois semiei: agua peptonada, caldo simples, leite, sôro de leite tournesolado, caldo phenicado a 0,75^o/₁₀₀, caldo arsenicado a 1^o/₁₀₀, caldo lactosado carbonatado, sôro coagulado, batata, gelose inclinada, gelose em placas, gelatina inclinada, gelatina em placas, gelatina em picada, gelose com vermelho neutro, gelose com tartrato de ferro a 3 %, gelose com acetato de chumbo, gelose com nitro-prussiato de sodio, meio de Petruschky, meios vaccinados, meio de Savage, meios manitados, maltosados, saccharosados com phenol-sulfone-phtaleina.
- 7) Estudei, para elucidar a diagnose dos primeiros casos observados, os caracteres culturaes dos germes da especie dysenterica sobre os meios de cultura communs e differenciaes, utilizados diariamente nos laboratorios.

Eis, pois, o que é o classico observar:

Meios culturaes	Bacillo dysenterico de Shiga-Kruse	Bacillos paradysentericos (Bacillos de FLEXNER, HISS e STRONG)
Caldo simples	Em 24 horas — turvação uniforme com ondas. Em 48 horas — deposito no fundo do tubo e apparecimento de pequena orla nos bordos dos tubos. Ausencia de odôr.	Culturas mais abundosas que as do bacillo de Shiga. Turvação do meio e deposito no fundo dos tubos. Orla nitida, adherente aos bordos dos tubos. Ausencia de odôr.
Agua peptonada	Cultura pouco abundante.	Crescem abundantemente.



Isolamento dos germes em placas de gelose simples

THESE INAUGURAL
OSCAR B. PEREIRA

Meios culturaes	Bacillo dysenterico de Shiga-Kruse	Bacillos paradysentericos (Bacillos de PLEXNER, HISS e STRONG)
Leite	Desenvolvimento copioso. Ausencia de coagulação.	Ausencia de coagulação.
Sôro de leite tournesolado	Em 24 horas — côr rosea. Em 48 horas — a côr volta ao azul.	Côr rosea que vira á amethysta em alguns dias.
Caldo phenicado a 0,75 por ‰	Vegetação.	Vegetação.
Caldo arseniado a 1 ‰	Vegetação.	Vegetação.
Caldo lactosado carbonatado	Ausencia de fermentação.	Ausencia de fermentação.
Sôro coagulado	Cultura de côr branca amarellada.	Cultura mais luxuriante, apresentando os mesmos caracteres.
Batata	Cultura pouco visivel, brilhante; depois enducto espesso acinzentado.	Enducto levemente azulado, mais espesso do que nas culturas do bacillo de Shiga-Kruse.
Gelose inclinada	Estria humida, semitransparente, branco-opalina. Odôr intenso de esperma.	Cultura um pouco mais desenvolvida.
Gelose em placas	Colonias humidas, brilhantes, não irisadas. Odôr intenso de esperma.	Mesmos caracteres. Aspecto ebhertiforme nas colonias do germe de Strong.

Meios culturais	Bacillo dysenterico de Shiga-Kruse	Bacillos paradysentericos (Bacillos de FLENNER, HISS e STRONG)
Gelatina inclinada	Estria opalina, delgada, pellicula de bordos irregulares.	Culturas mais apparentes, com caracteres analogos ao bacillo Shiga-Kruse.
Gelatina em placas	Colonias translucidas, delgadas.	Colonias redondas acinzentadas um pouco elevadas em botão. Ausencia de liquefação. As colonias do bacillo de Strong apresentam aspecto eberthiforme.
Gelatina em picada	Colonias cinzentas ao longo da picada de semeadura. Ausencia de liquefação.	Colonias mais desenvolvidas. Ausencia de liquefação.
Gelose com vermelho neutro	Não ha modificação do meio.	Não ha alteração do vermelho neutro; por vezes, leve fluorescencia.
Gelose com tartrato de ferro a 3%	Nenhuma mudança de coloração.	Não modificam o meio cultural.
Gelose com acetato de chumbo	Ausencia de ennegrecimento.	Não ennegrecem o meio.
Gelose com nitro-prussiato de sodio	Em 24 horas, côr azul.	Em 24 horas, côr azul.
Meio de Petruscky	Envermelhece fracamente; a côr amethysta reaparece após 48 horas.	Forte envermelhecimento.



Resemeaduras das colonias suspeitas

Meios culturais	Bacillo dysenterico de Shiga-Kruse	Bacillos paradysentericos (Bacillos de FLEXNER, HISS e STRONG)
Meios vaccinados	<p>O germe de Shiga-Kruse e os bacillos paradysentericos não vegetam nas culturas de bacillo de Shiga-Kruse em gelose, de 5 a 6 dias. O colibacilloahi cresce facilmente ao passo que o bacillo de Eberth apenas se desenvolve.</p> <p>O bacillo de Shiga-Kruse não cresce nas culturas de Flexner, bacillo typhico e colibacillo.</p>	<p>Não vegetam nos meios vaccinados por elles mesmos, nem pelos colibacillos e bacillo typhico.</p> <p>Os meios de cultura que serviram para o crescimento do bacillo Flexner não podem ser semeados com proveito pelo bacillo de Shiga-Kruse. O colibacillo vegeta ali luxuriantemente, ao passo que o bacillo de Eberth-Gaffky cresce fracamente.</p>
Leite, caldo, gelose com hematoxylina	Coloração violeta, 20-36 a 48 horas depois da sementeira.	
Bilis	<p>Ação bactericida sobre o germe de Shiga-Kruse.</p> <p>Cultura somente com sementeiras abundantes.</p>	Poder bactericida menos pronunciado para os germes pseudo-dysentericos A, D e H. Ao contrario, o bacillo Y vegeta bem na bilis.
Meio de Jacobson (gelose 10 cc. % 1 gotta de ether-ethylcinamico)	Não se desenvolve.	O bacillo Flexner se desenvolve. O germe de Hiss não cresce.

O bacillo Shiga-Kruse não reduz os nitratos.

- 8) Logo a seguir observei demoradamente os meios culturaes com hydratos de carbono e outras substancias chemicas, de accôrdo com o quadro junto.

ESTUDO DAS REACÇÕES BIO-CHIMICAS DA ESPECIE DYSENTERICA

SUBSTANCIAS CONTIDAS NOS MEIOS CULTURAES	ESPECIE DYSENTERICA			
	BACILLO SHIGA-KRUSE	BACILLO FLEXNER	BACILLO HISS	BACILLO STRONG
LACTOSE	■	■	■	■
SACCHAROSE	■	■	■	■
DULCITA	■	■	■	■
MANNITA	■	■	■	■
GLYCOSE	■	■	■	■
MALTOSE	■	■	■	■
DEXTRINA	■	■	■	■
RAFINOSA	■	■	■	■
ARABINOSE	■	■	■	■
ADONITA	□	■	■	■
INULINA	■	■	■	■
SORBITA	■	■	■	■
GALACTOSE	■	■	■	■
LEVULOSE	■	■	■	■
INOSITA	□	□	□	□
SALICINA	■	■	■	■
AMIGDALINA	□	■	■	■
ISODULCITA	□	■	■	■
ERITRITA	■	■	■	■
GLYCERINA	□	■	■	■

ALCALINIDADE - AUSENCIA DE DECOMPOSIÇÃO
 ACIDEZ
 DECOMPOSIÇÃO
 ALCALINIDADE OU LEVE ACIDEZ

Sêro-precipitação ou reacção de Kraus

Grupa todos os germes da especie dysenterica: é, pois, um signal de familia. Dopter demonstrou assim que o sêro anti-Shiga-Kruse contem precipitinas para os bacillos dysenterico e paradysentericos. Uma gotta de sêro anti-Shiga-Kruse + 10 gottas de filtrado de cultura de bacillo dysenterico occasionam immediatamente um precipitado. O mesmo filtrado, addicionado de sêro anti-Flexner, fórma um precipitado menos abundante. Ao contrario, esta reacção não se produz, misturando-se um filtrado de cultura dysenterica ou paradysenterica com sêro normal ou preparado contra outro germe. Por outro lado, o sêro anti-Eberth-Gaffky não precipita em contacto com filtrados de bacterias da especie dysenterica.

Essa sêro-precipitação pôde ser executada conforme indica o quadro synoptico da pagina seguinte.

N.º dos tubos	1	2	3	4	5	6	7	8
Filtrado de caldo de cultura dysenterica ou paradyserterica	5 cc.	5 cc.	5 cc.	5 cc.	—	5 cc.	5 cc.	5 cc.
Sôro a examinar....	0,5	0,1	0,05	—	0,5	0,5 de sôro normal	0,5 de sôro anti-Shiga-Kruse	0,5 de sôro anti-sôro Flexner
Sôro physiologico a 8,5 ^o / ₁₀₀	0,5	0,9	0,95	1 cc.	0,5	0,5	0,5	0,5

Leitura dos resultados no fim de 3, 12 e 24 horas:

- 1) formação de precipitado — reacção positiva.
- 2) limpidez da mistura e ausencia de precipitação — reacção negativa.

Excellentes resultados foram colhidos tambem pela pratica da sôro-precipitação conforme a technica a seguir:

- 1) Filtrei em velas Chamberland L² caldos de cultura de bacillos dysenterico e paradysentericos, mantidos na estufa a 37°, durante um mez.
- 2) Em tubos de hemolyse, adicionei o filtrado Shiga-Kruse (2 cc.) á gelose fundida, a 40-41° (2 cc.). Deixei que essa mistura se solidificasse em posição inclinada.
- 3) Com igual technica, preparei séries de tubos com:
 - a) filtrado Flexner + gelose;
 - b) filtrado Hiss + gelose;
 - c) filtrado Strong + gelose.
- 4) Depois, em plano inclinado, dispuz esses tubos nas seguintes condições:

1.^a série de tubos

(gelose + filtrado Shiga-Kruse)

Tubo n.º 1	Deixei cahir em cima da mistura 2 cm. ³ de sôro sanguineo do doente a examinar, com limpidez completa.
Tubo n.º 2	+ 2 cm. ³ de sôro experimental anti-Shiga-Kruse.

2.^a série de tubos

(gelose + filtrado Flexner)

Tubo n.º 3	+ 2 cm. ³ de sôro a examinar.
Tubo n.º 4	+ 2 cm. ³ de sôro experimental anti-Flexner.

3.^a série de tubos

(gelose + filtrado Hiss)

Tubo n.º 5	+ 2 cm. ³ de sôro a examinar.
Tubo n.º 6	+ 2 cm. ³ de sôro experimental anti-Hiss.

4.^a série de tubos

(gelose + filtrado Strong)

Tubo n.º 7	+ 2 cm. ³ de sôro a examinar.
Tubo n.º 8	+ 2 cm. ³ de sôro experimental anti-Strong.

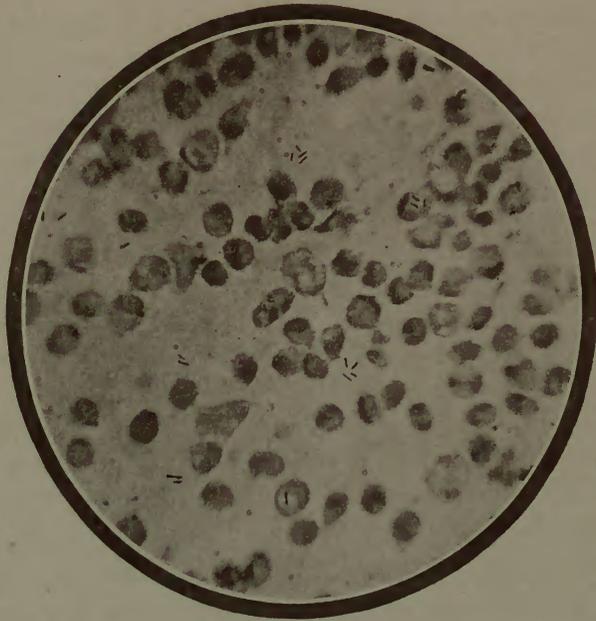
- 5) Levei essa série de tubos á estufa a 37°, durante 12 horas.
- 6) Comecei a anotar os resultados 10-15' depois da addição dos sôros, fazendo, comtudo, a leitura final após 12 horas.

As reacções positivas eram reveladas pela presença, sobre a superfície da gelose, de um enducto esbranquiçado, perfeitamente visível pela observação por transparencia diante de um fôco luminoso.

E', pois, um processo pratico, apresentando as excellencias do precipito-diagnostico na febre typhoide, proposto por Costa, Boyer e Jaur.

Sôro-agglutinação

Effectuada pelos methodos macro e microscopico, a sôro-agglutinação é um dos meios biologicos mais aconselháveis para a diagnose das dysenterias bacillares ou parabacillares.



Fêzes do doente n.º 4481 (Hospício São Pedro)
Aumento de 596 D.
Microphotographia original

Deve-se, pois, pratical-a em face das culturas de Shiga-Krusc, Flexner, Hiss e Strong, ao iniciar-se a segunda semana da infecção.

E' utilisavel:

- 1) nos casos benignos e nos periodos iniciaes das epidemias;
- 2) quando o isolamento dos germes não fôr conseguido;
- 3) aos doentes que apresentam complicações tardias e tambem nos casos chronicos.

Pratica recommendavel é usar germes recentemente isolados, cujo poder agglutinante tenha sido cuidadosamente estudado, bem como saturar os sôros a examinar pelas culturas de bacillos typhicos e paratyphicos, para eliminar as agglutininas de grupo. Na verdade, o sôro dos typhicos curados ou mesmo no curso das infecções agglutinam o bacillo de Flexner de 1/25 a 1/50. Da mesma maneira o bacillo de Shiga-Kruse pôde ser agglutinado a 1/25. Convem, outrosim, pesquisar o titulo maximo de agglutinação de um sôro (Ravaut). Tambem Besson e Lavergue observaram culturas de bacillos Flexner se tornarem inagglutinaveis pelo envelhecimento.

Sómente os grupos microbianos bem formados, com poucos germes livres, permitem tirar conclusões diagnosticas. Evita-se assim os erros inherentes á agglutinação espontanea dos bacillos dysentericos. Distinguem-se ainda dois aspectos de agglutinação: agglutinação com flócos volumosos e agglutinação com flócos finos, visiveis á lente, que indicam o limite do poder agglutinante do sôro (1/200 para bacillos de Shiga-Kruse).

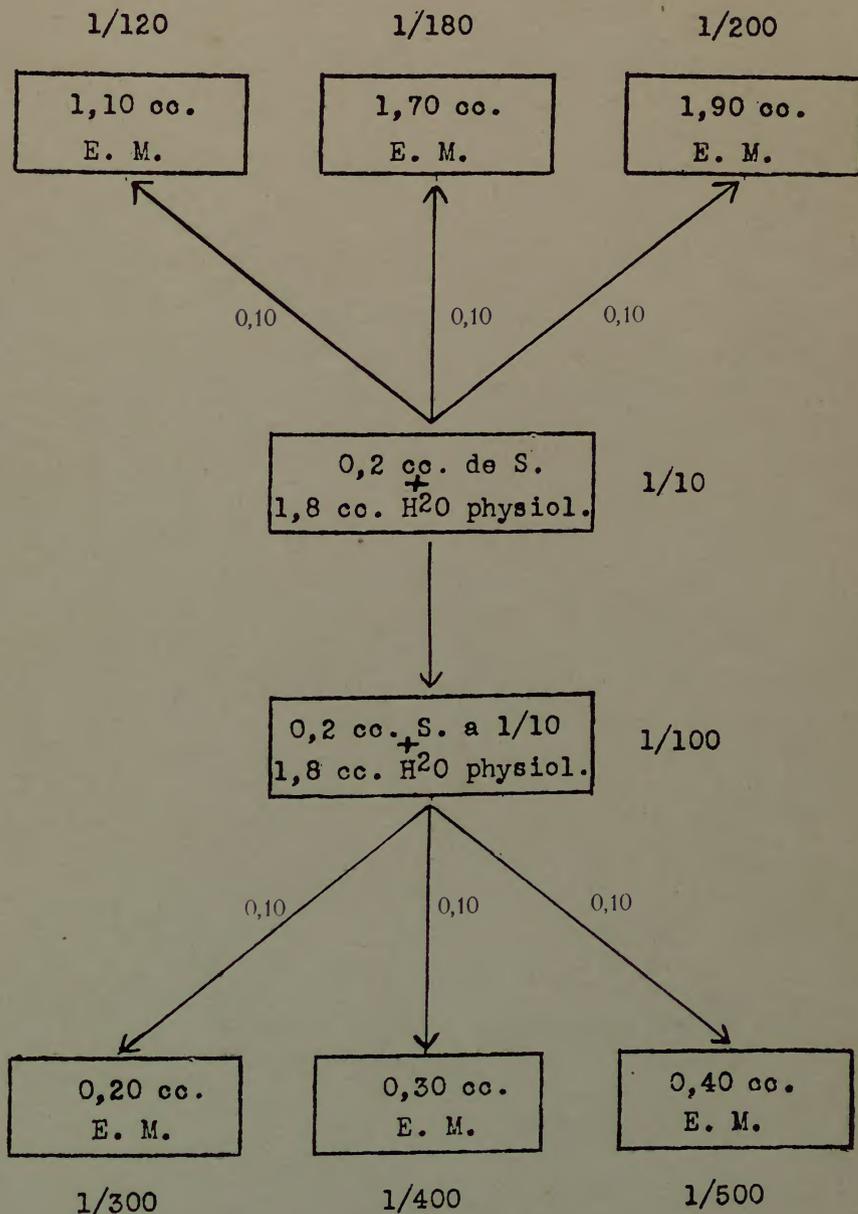
Pesquisa-se, além disso, as agglutininas de 2 em 2 dias, com o fim de fazer um traçado graphico, que fornece indicações utilissimas para o clinico.

Em resumo, o bacillo de Shiga-Kruse não é agglutinavel pelo sôro sanguineo dos individuos infectados pelos bacillos Flexner e Hiss, que, ao contrario, se deixam agglutinar pelos sôros dos verdadeiros dysentericos (Shiga-Kruse).

Pela prova de Castellani ou saturação das agglutininas, verifica-se que o bacillo de Shiga-Kruse retira do sôro dos dysentericos não só as agglutininas especificas como as coagglutininas para os paradysentericos Flexner e Hiss. Importa tambem lembrar que a agglutinina especifica do sôro de Shiga-Kruse não é saturada pelos bacillos de Flexner e Hiss, que actuam sómente sobre as agglutininas de grupo.

TECNICA DA SÔRO-AGGLUTINAÇÃO MICROSCOPICA

(Pesquisa das agglutininas paradysentericas)



- TESTEMUNHAS: 1) emulsão microbiana
2) emulsão microbiana + sôro agglutinante experimental (1/200)

Eis, por fim, o que é habito observar:

Sôros agglutinantes	Bacillo de Shiga-Kruse	Bacillos paradysentericos		
		Flexner	Hiss	Strong
Sôro anti-Shiga-Kruse.....	+	—	—	—
Sôro anti-Flexner.	—	+	+	—
Sôro anti-Hiss	—	+	+	—
Sôro anti-Strong..	—	—	—	+

A estampa annexa, mostra claramente a technica da agglutinação microscopica para o diagnostico das infecções pelo germe de Shiga-Kruse.

Processo analogo pôde ser usado para a diagnose sôro-agglutinante das paradysenterias, variando, sómente, o titulo de diluição aos sôros, conforme o respectivo eschema.

Julgo, entretanto, preferivel a agglutinação macroscopica de accôrdo com o quadro da pag. 112.

A reacção globulinica pela technica de Diacono deu, no sôro sanguineo do doente M. C., resultado positivo em diluição mais alta:

sôro-agglutinação — resultado: positivo 1/240

prova de Diacono — resultado: positivo 1/1280

Sôro-aglutinação (Processo macroscopico)

Numero dos tubos		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	12
ADICÇÃO DA EMULSÃO MICROBIANA	Agua physiologica 8,5 ^o / ₁₀₀	2 cc. 7	1 cc.	1 cc. 2	1 cc.	1 cc.						
	Sôro a examinar.....	0,3	1 cc. da diluição do sôro 1/10	0,8 da diluição do sôro 1/10	1 cc. da diluição do tubo 2	1 cc. da diluição do tubo 3	1 cc. da diluição do tubo 4	1 cc. da diluição do tubo 5	1 cc. da diluição do tubo 6	1 cc. da diluição do tubo 7	1 cc. da diluição do tubo 8	1 cc. da diluição do tubo 9
LEITURA DOS RESULTADOS		abando- nar 0/20 dil. 1/10									abandonar 1 cc. destas diluições de sôro	
	Emulsão microbiana.....	1 cc.	1 cc.	1 cc.	1 cc.	1 cc.	1 cc.	1 cc.	1 cc.	1 cc.	1 cc.	1 cc.
	Diluição	1/20	1/40	1/60	1/80	1/120	1/160	1/240	1/320	1/480	1/640	1/960
												T. E. M.

Deixar na temperatura do laboratorio durante 24 horas

- 1) liquido superior claro e deposito de bacillos no fundo do tubo — aglutinação total (única positiva).
- 2) parte superior do liquido claro e parte inferior turva — aglutinação parcial.
- 3) turvação uniforme da mistura — aglutinação negativa.



Séro-agglutinação microscópica

ESCOLA DE MEDICINA DE NE
THESE INICIAL
OSCAR DE PEREIRA

Prova da fixação do complemento

Ha no sôro dos dysentericos, bem como no dos animaes immunizados, sensibilizinas para os bacillos Shiga-Kruse e paradysentericos. Para Dopter, essa acção é indistincta e identica, não sendo, portanto, possivel differenciar esses germes entre si pelo methodo de Bordet-Gengou. E' então uma reacção de grupo. Tal observação não é confirmada por Grylewicz. Duhot e Dumade concluem igualmente que, nos sôros anti-dysentericos ha sensibilizadoras de grupo e tambem sensibilizinas especificas. Essas ultimas, porém, em presença do antigeno correspondente (B. Shiga-Kruse ou B.^s paradysentericos) fixam maior quantidade de complemento. Muitas verificações experimentaes, per mim feitas, confirmaram plenamente a exactidão desses ultimos factos.

As minhas provas assim encontraram realização:

1. ^a PARTE					2. ^a PARTE		3. ^a PARTE
N.º dos tubos	Sôro a examinar aquecido a 55 - 56º - 30'	Sôro physiologico a 8,5 0/100	Complemento a 1/10	Antigeno: emulsão microbiana	Hemolysina coelho anti-carneiro 0,0033 por cm. ³	Globulos vermelhos de carneiro 5 ½	Leitura dos resultados
1	0,2	1,3	0,3	0,2	1 cc.	1 cc.	Leitura de 15 em 15 minutos Hemolyse Hemolyse Hemolyse Ausencia hemolyse Ausencia hemolyse
2	0,2	1,2	0,4	0,2	1 cc.	1 cc.	
3	0,2	1,1	0,5	0,2	1 cc.	1 cc.	
4	0,2	1 cc.	0,6	0,2	1 cc.	1 cc.	
5	0,2	0,9	0,7	0,2	1 cc.	1 cc.	
6	0,2	0,8	0,8	0,2	1 cc.	1 cc.	
7	0,2	0,7	0,9	0,2	1 cc.	1 cc.	
8	0,2	0,6	1 cc.	0,2	1 cc.	1 cc.	
9	0,2	0,8	1 cc.	—	1 cc.	1 cc.	
10	—	1,7	0,3	—	1 cc.	1 cc.	
11	—	1 cc.	1 cc.	0,2	1 cc.	1 cc.	
12	—	2 cc.	—	—	1 cc.	1 cc.	
13	—	3 cc.	—	—	—	1 cc.	

Thermostato a 37º, durante 1 hora

Thermostato a 37º, durante 2 hs.

D. M. S. — amboceptor —: 0,001; complemento 0,03.

D. max. n. abc.: 0,4 E. M. — preparada com germes de 24 horas, diluidos em agua physiologica e aquecida a 58° durante 1 hora.

O apparecimento da sensibilizadora, em geral do 5.º ao 7.º dia, é mais precoce que o das agglutininas, do qual independe. E' mais observavel no periodo de estadio, persistindo, porém, em regra, durante a convalescença.

Aecção pathogenica experimental

Verifiquei, em coelhos o poder infectante dos bacillos da especie dysenterica pelas inoculações sub-cutaneas de 4 cc. de cultura em caldo, de 24 horas.

O coelho inoculado com bacillo Shiga-Kruse ficou com o pello irisado, apresentando diarrheia mucosa e no 3.º dia paralysis no treno posterior. Morreu em hypothermia do 6.º para o 7.º dia.

Pela necropsia desse animal, observei espessamento do grosso intestino, hyperemia da mucosa e pequenos pontos ulcerados.

Os outros animaes inoculados com cultura identica de bacillos Flexner, Hiss e Strong accusaram unicamente dôr no sitio da injeccão e, ao caminhar, notei, de modo preciso, que a parte correspondente a séde das inoculações, não se movia com desembaraço. Alimentavam-se, no entanto, habitualmente, com a mesma vivacidade.

A photographia abaixo reproduz uma das experiencias realizadas.

Interpretação dos resultados

Examinemos agora o valor das provas bacteriologicas mais importantes para o diagnostico da dysenteria bacillar.

E' facil a qualquer concluir desde logo que essa diagnose

não repousa num dado unico, mas é calcada em estudo de conjuncto, unico capaz de afastar as conclusões erroneas.

COELHOS INOCULADOS SUB-CUTANEAMENTE COM BACILLOS DA ESPECIE DYSENTERICA



N.º 1—inoculado com bacillo Shiga-Kruse.

N.º 2—inoculado com bacillo Flexner.

N.º 3—inoculado com bacillo Hiss.

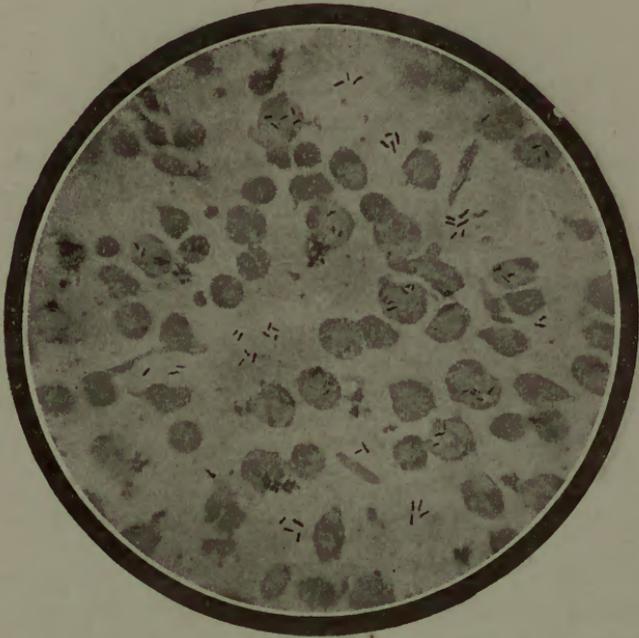
N.º 4—inoculado com bacillo Strong.

Culturas em caldo, de 24 horas (2 ec.)

Coproculturas negativas, por exemplo, no periodo inicial da infecção, impõe novas pesquisas culturaes. No fim da primeira semana da molestia, difficil é, habitualmente, o isolamento dos germes dysentericos.

Por outro lado, a acção dos bacillos da especie dysenterica sobre os hydratos de carbono representam hoje, unicamente, um caracter secundario, variavel em determinadas circumstancias. Foi que demonstraram os excellentes trabalhos de Martin e Williams, bem como os de Courmont e Rochaix. De resto, é de observação diaria as variações desse poder fermentativo dos assucares pelos bacillos dysentericos e paradysentericos, muito tempo conservados em meio artificial.

Com espécimes vindos do Instituto Oswaldo Cruz do Rio de Janeiro, observei após dois annos de repicagens em meios artificiaes, fermentações anomalas dos assueares, como sejam a decomposição da maltose pelos bacillos de Shiga-Kruse, Hiss e Strong. Além disso não obtive a fermentação da saccharose pelo bacillo de Strong, assim como a da mannita pelo germe de Flexner.



Fézes do doente J. S. (Clínica do Prof. Octavio e Dr. Jobim)
Aumento 590 D.
Microphotographia original

Não é infrequente observar tambem a agglutinação retardada de alguns bacillos, que sómente são agglutinaveis depois de 5 ou 6 repicagens em meios artificiaes. E' claro ainda que o tempo de leitura das agglutinações tem importancia. De facto, uma agglutinação em 45' não póde ser comparavel a que é obtida em duas horas, isto respeitadas as outras condições experimentaes.

É util, portanto, empregar uma technica uniforme, mencionando, nos boletins, todas essas informações que serão devidamente interpretadas.

Outro facto orientador a referir é que, nos casos de dysenteria Shiga-Kruse, as placas de Endo ou de gelose lactosada-tournesolada não apresentam, por vezes, sequer uma colonia de colibacillo.

Convem frizar ainda que, para o diagnostico da dysenteria parabacillar Flexner, basiei-me na verificação de numerosas colonias microbianas desse typo, rigorosamente identificados pelos processos que foram mencionados.

Grande é o embaraço, entretanto, para resolver o diagnostico das dysenterias amibo-bacillares. Noel Fiessinger e Edgard Leroy viram, em sua pratica, taes associações.

Tive, pois, sempre em mente esses casos que não aproveitariam com o tratamento exclusivo pelo bacteriophago anti-dysenterico.

Em summa, o diagnostico da dysenteria bacillar consiste:

- 1) *Na primeira semana* — coproculturas repetidas e identificação de germes.
- 2) *Depois de 8 dias* — Sôro-diagnostico:
 - a) Sôro -precipitação
 - b) Fixação de complemento } reacções da especie dysenterica
- c) Sôro-agglutinação macro e microscopica — Prova de Castellani
- d) Coprocultura com material colhido pela technica de Korthof.

Dando remate á essas precauções indispensaveis á diagnose microbiana, cumpre referir tambem que não foram esquecidas as noções indispensaveis para a systematica da especie dysenterica. Assim as relações dos chamados “pseu-

do-dysentericos” de Kruse com os typos usuaes foram estudados de accôrdo com os ensinamentos de Brunet e Le-groux:

- 1.º grupo $\left\{ \begin{array}{l} \text{bacillo de Lentz (Sarrebouurg)} \\ \text{bacillo de Jürgens} \\ \text{bacillo da dysenteria dos alie-} \\ \text{nados} \end{array} \right\}$ correspondente
ao typo A de
Kruse
- 2.º grupo — bacillo de Flexner — typo B de Kruse
- 3.º grupo — bac. proximos do typo A e B de Kruse $\left. \vphantom{\begin{array}{l} \text{bac. proximos} \\ \text{do typo A e B} \\ \text{de Kruse} \end{array}} \right\}$ typo C
de Kruse
- 4.º grupo — bacillo de Hiss — typo D de Kruse
- 5.º grupo — bacillo de Strong — typos E, F, G, H de Kruse.

Parece-me importante lembrar ainda a classificaçãõ de Murray, na qual estãõ comprehendidos alguns bacillos atypicos:

- 1.ª classe — Typo Shiga.
- 2.ª classe — Typo de Schmitz que parece identificavel ao B. ambiguus de Andrews.
- 3.ª classe — Germes fermentadores da mannita, não dividi-
veis em sub-grupos pelas provas de agglu-
tinaçãõ e methodo de Castellani. Pertencem
a esta classe: Flexner, Y, d’Herelle, para-
Flexner de Lancelin e Rideau, os grupos 2, 3
e 4 de Shiga, as raças G e L de Ohno e, em
grande parte os grupos A, B, C e D de Kruse.
- 4.ª classe — Grupo E de Kruse que coagula o leite de
8-14 dias e acidifica os meios lactosados e
maltosados. Está comprehendido nesta classe
o B. dispar de Andrews.

Relativamente a esses germes atypicos, sabe-se que uns
sãõ muito proximos dos bacillos dysentericos classicos,
outros avisinham-se mais do colibacillo. Assim, por exem-
plo, o bacillo de Remlinger e Dumas, que não obstante pro-
duzir indol, parece ser um Shiga-Kruse inagglutinavel. Da

mesma maneira o typo Morgan de Armand-Delille, Paiseau e Lemaire não se afastam muito do germe de Shiga-Kruse.

Quanto ao bacillo de Schmitz, deve ser collocado entre o bacillo de Shiga-Kruse e o de Flexner. Produz em abundancia o indol nos meios peptonados e decompõe a mannita, não sendo, no entretanto, agglutinado pelo sôro anti-Flexner, nem o sôro anti-Schmitz agglutina o bacillo de Flexner. Nota-se nas culturas em gelatina odôr de esperma. Em injeccão intra-venosa não é pathogenico para o coelho. Em relação aos bacillos de Morgan, sabe-se que são ciliados, produzem indol, fermentam alguns hydratôs de carbono com desprendimento de gazes. Com effeito, o primeiro typo decompõe a levulose, a glycose e a maltose, ao passo que o segundo typo, além desses assucares, ataca tambem a mannita; no terceiro typo apresenta fermentações identicas ao segundo, com exclusão unicamente da maltose. Entre esses germes, cumpre mencionar os bacillos de Castellani que atacam os hydratos de carbono, até mesmo a saccharose, não decomposta pelos tres typos de Morgan.

Como bacillo atypico pathogenico para o coelho, menciono o germe de d'Herelle, que fermenta a maltose e a mannita e não produz indol. Não é agglutinavel pelos sôros anti-Shiga-Kruse e anti-Flexner.

Abstenho-me de citar muitos outros bacillos atypicos que na maioria, no affirmar de J. Dumas, são apenas satellites do germe pathogenico, intervindo, unicamente, como agente de associações secundarias. De accôrdo, pois, com esse bacteriologo, os bacillos da flôra intestinal pôdem ser reunidos em 4 grupos:

- 1.º grupo: germes que mudam a côr da gelose vermelho neutro, deixando indemne a gelose-acetato de chumbo.
- 2.º grupo: germes que ennegrecem a gelose-acetato de chumbo. Nenhuma alteração da gelose vermelho neutro.
- 3.º grupo: germes que ennegrecem rapidamente a gelose-

acetato de chumbo e levam a gelose vermelho neutro a coloração amarelo canario, com fluorescência.

4.º grupo: mesmos caracteres, apresentando, todavia, acção differente sobre os hydratos de carbono.



Doente M. C.

(Clinica do Prof. Pereira Filho)

Os meios lactosados não são alterados. Alguns espécimes não têm acção sobre a maltose e a saccharose, porém atacam bastas vezes a glycose e a mannita, sem producção de gazes. Outros ha, ainda, que acidificam os meios glycosados e maltosados, com producção de gazes, deixando, contudo, intacta a mannita. Uma terceira variedade, por fim, acidifica e provoca a producção de gazes nos meios mannitados, maltosados, saccharosados e glycosados.

Por outra parte, comquanto seja excepcional a verificacão do bacillo de Shiga-Kruse no sangue dos dysentericos, foi ali evidenciado por Causaude em um individuo, 12 horas antes da morte. Facto notavel é que a coprocultura revelou unicamente a presenca de colibacillos. Tam-

bem Kostrzewski affirma ter obtido hemoculturas positivas em 7 casos dos 86 examinados (8,14 % na epidemia de 1921). No dizer desse pesquisador a percentagem dos resultados positivos nas epidemias anteriores foi de 28,7 %. Vê-se, pois, um caminho para futuras investigações.

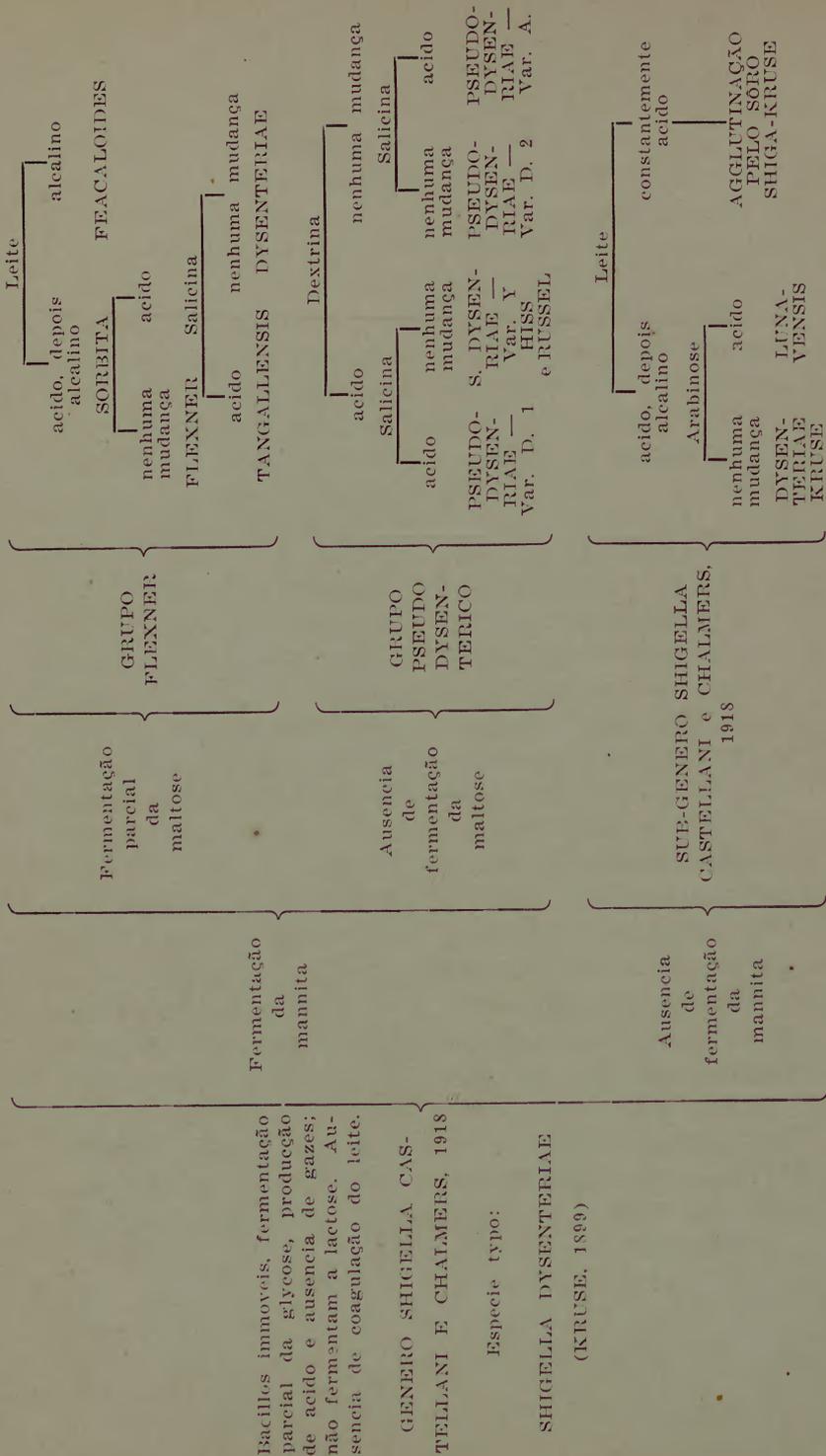
Para terminar estas notulas relativas as interpretações diagnosticas da dysenteria bacillar, convem salientar como praticas e guias seguros a classificação de Castellani e Chalmers, assim como o quadro que organizei de accôrdo com ensinamentos colhidos em diversos autores. Foi este ultimo que adoptei para as minhas ultimas pesquisas.

Passados assim em revista todos os dados de laboratorio que se dispõem para o diagnostico bacteriologico das dysenterias bacillares no vivo, vejamos como obtive o bacteriophago anti-dysenterico, que denominei *Bacteriophagyl*.

Após diversas tentativas de isolamento desse principio lytico das fêzes de convalescentes de dysenteria bacillar, consegui retirar, por fim, das materias fecaes do doente J. F. B., n.º 5.684, um bacteriophago nitidamente activo para o germe de Shiga-Kruse. A technica seguida foi a que descrevi no capitulo anterior, a proposito do isolamento do principio lysante anti-coli.

Depois de oito passagens desse bacteriophago em culturas de bacillo Shiga-Kruse, fiz 5 passagens em caldos com germe de Flexner, obtendo deste modo um principio altamente lysante. Foi este producto que empreguei para o tratamento do syndrome dysenteriforme, quer no Hospicio São Pedro, quer na clinica privada, graças á bondosa indicação de professores da nossa Faculdade. Os resultados obtidos com esse medicamento pódem ser verificados nas observações seguintes.

Classificação de Castellani e Chalmers





Semeaduras nos meios assucarados

Diagnostico differencial da especie dysenterica

(Bacillos immoveis (sem cilios), Gram negativos, que não coagulam o leite, precipitação do caldo de cultura filtrado pelo soro anti-Shiga e anti-Flexner — reacção de Kraus)

- | | |
|---|--|
| <p>1) PESQUISA DO INDOL — negativa</p> <p>2) PROVA DA FERMENTAÇÃO DA MANNITA — negativa</p> <p>3) ACCÃO SOBRE O MEIO DE SAVAGE — nulla</p> <p>4) ACCÃO PATHOGENICA PARA OS ANIMAES — positiva</p> <p style="text-align: center;">{ pelo soro anti-Shiga-Kruse — positiva, 1/70 para cima (segundo Dopter 1/30 no minimo; segundo Burnet e Legroux 1/50); segundo Vecchi e Sarti — 1/100-1/300 }</p> <p>5) SORO-AGGLUTINAÇÃO</p> | <p>1) PESQUISA DO INDOL — positiva</p> <p>2) PROVA DA FERMENTAÇÃO DA MANNITA — positiva</p> <p>3) ACCÃO SOBRE O MEIO DE SAVAGE — cõr fluorescente</p> <p>4) ACCÃO PATHOGENICA PARA OS ANIMAES — negativa</p> <p style="text-align: center;">{ pelo soro anti-Flexner — positiva, acima de 1/250 (segundo Dopter 1/100 no minimo (Flexner e Hiss); segundo Burnet e Legroux 1/150 (Flexner e Hiss)) }</p> <p>5) SORO-AGGLUTINAÇÃO</p> <p style="text-align: center;">{ pelo soro anti-Shiga-Kruse — negativa ou coagglutinação</p> |
|---|--|

GRUPO SHIGA-KRUSE

Soro-agglutinação typica pelo soro anti-Shiga Kruse

TYPO SHIGA-KRUSE

TYPO SHIGA-KRUSE

Soro agglutinação pelo soro anti-Shiga-Kruse — negativa

TYPO SHIGA-KRUSE

não agglutinavel

GRUPO FLEXNER - HISS

(bacillos paradysertericos, avirulentos, atoxicos para o coelho)

Maltose - Saccharose - Prova de Castellani		
TYPO FLEXNER	+	—
TYPO Y de HISS	—	—
TYPO STRONG	—	+
TYPO SAIGON	+	—

Distincção entre as aggl. especificas e as aggl. de grupo não espec. coaggl.

Agglutinação pelo soro homogeneo (anti-Strong), que não aggl. os outros germes paradyts, e aus. ferm. mananita).

I — DYSENTERIAS BACILLARES NO HOSPICIO SÃO PEDRO

OBSERVAÇÃO N.º 1

(HOSPICIO SÃO PEDRO)

N.º do registro: 6.114.

Nome: J. A. M.

Idade: 28 annos.

Data do meu primeiro exame: 3 de Junho de 1924.

SYMPTOMATOLOGIA CLINICA: — Ao iniciarmos a observação havia inapetencia, saburra lingual, com evacuações diarrheicas em numero de 17. Os tenesmos anal e vesical atormentavam de modo constante o doente, que diminuia de forças e experimentava necessidade de permanecer na cama. Urina escassa, albuminosa, com traços carregados de indoxylo urinario e escaçol. Temperatura 38º,2 pela manhã e 39º,3 á tarde. De quando em quando estava em estado nauseoso.

ANALYSE DO PRODUCTO DAS DEJECCÕES:

- 1) exame macroscopico — Liquido seroso, com grumos de muco e estriado de sangue. Odór espermatico.
- 2) exame microscopico — Abundancia de cellulas epiteliaes, piocytos, globulos vermelhos; regular numero de bacillos, immoveis e alguns detricos vegetaes.

DIAGNOSTICO BACTERIOLOGICO DIFFERENCIAL

1) exames culturaes (3 de Junho de 1924)

M. Endo Ex-directo (fórma e mobilidade)	Methodo de Gram	PROVA DOS ASSUCARES					Indol	Leite
		Lactose	Glycose	Maltose	Mannita	Saccha- rose		
Bacillos inmo- veis	Gram negati- vos	Não fermenta	Acidez	Não fermenta	Não fermenta	Não fermenta	—	1.º acidez, depois alcalinidade

Sôro-agglutinação do germe isolado: 1/960 com sôro agglutinante Shiga-Kruse 1/5.000 (I. O. Cruz do Rio de Janeiro).

2) reacções sorológicas (5 de Junho de 1924)

SÔRO AGGLUTINAÇÃO				SÔRO PRECIPITAÇÃO			
B. Shiga	B. Flexner	B. Hiss	B. Strong	B. Shiga	B. Flexner	B. Hiss	B. Strong
Negativo 1/60	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo

TRATAMENTO E RESULTADOS OBTIDOS — Administrado o bacteriophago durante 4 dias, por via oral, na d6se de 2 cm.³, deu-se a cura do paciente. De facto, as primeiras melhoras clinicas j6 eram evidentes no dia seguinte ao da primeira ingest6o do medicamento especifico: o numero das evacuaç6es ficou reduzido a 6 e as f6zes continham menos s6ngue e muco. Nos dias seguintes, essas modificaç6es se accentuaram, tornando-se as materias fecaes moldadas no dia 5 de Junho. Em 6 de Junho, o paciente teve alta curado sob o ponto de vista clinico e bacteriologico.

NUMERO DAS EVACUAÇÕES

N.º das evacuações		3	4	5	6
20					
15		•			
10					
5			•		
0				•	•

PROVA DA CURA BACTERIOLOGICA — PESQUISA DO BACILLO DYSENTERICO DE SHIGA-KRUSE — Todas as coproculturas realizadas com esse fim deram resultados negativos.

OBSERVAÇÃO N.º 2

(HOSPICIO SÃO PEDRO)

N.º do registro: 4.481.

Nome: J. K.

Idade: 30 annos.

Data do meu primeiro exame: 30 de Junho de 1924.

SYMPTOMATOLOGIA CLINICA: apresentava dôres abdominaes violentas localizadas no hypochondrio direito; alguns vomitos; temperatura a 39º,5; pulso 120; pallidez accentuada das mucosas; enfraquecimento geral. Queixava-se tambem de dôres articulares, sendo o numero das dejecções de 20 em 24 horas.

ANALYSE DO PRODUCTO DAS DEJECCÕES:

- 1) exame macroscopico: a consistencia era muito fluida, grande quantidade de muco transparente, grumoso, com estrias de sangue, de odôr muito fétido.
- 2) exame microscopico: grande quantidade de fibras de muco, algumas cellulas do epithelio descamado, numerosas hemacias, numerosissimos leucocyts; não encontrei ovos de parasitos nem protozoarios intestinaes.

DIAGNOSTICO BACTERIOLOGICO DIFFERENCIAL

1) exames culturaes (30 de Junho de 1924)

M. Endo Ex-directo (fôrma e mobilidade)	Methodo de Gram	PROVAS DOS ASSUCARES					Indol	Leite
		Lactose	Glycose	Maltose	Mannita	Saccha- rose		
Bacillos immo- veis	Gram negati- vos	Não de- compõe	Acidez	Não de- compõe	Não de- compõe	Não de- compõe	—	1.º acidez, depois alcalinidade

Sôro-agglutinação do germe isolado: 1/320 com sôro agglutinante Shiga-Kruse 1/5.000 (I. O. Cruz do Rio de Janeiro).

2) reacções sorologicas (8 de Julho de 1924)

SÔRO AGGLUTINAÇÃO				SÔRO PRECIPITAÇÃO			
B. Shiga	B. Flexner	B. Hiss	B. Strong	B. Shiga	B. Flexner	B. Hiss	B. Strong
Positivo 1/10	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo nitido	Positivo fraco	Vestigios	Vestigios

TRATAMENTO E RESULTADOS OBTIDOS: na tarde de 3 de Julho dei ao doente a 1.^a dόse de Bacteriophagyl. No dia 4 de Julho, o estado geral estava completamente modificado, temperatura a 37°, pulso a 78, consideravel diminuição do numero das evacuações (4 por dia). Houve tambem uma grande modificação no aspecto das dejeções, já apresentava bόlos fecaes, uma consistencia molle, pequenissima quantidade de mucos. Administrei-lhe a 2.^a dόse de Bacteriophagyl. Em 5 de Julho, a evacuação apresentava um aspecto mais solido, sem mucos, cόr parda, menos fétida. Só evacuou 2 vezes nas 24 horas. Prosegui o tratamento pelo Bacteriophagyl até o dia 12 de Julho.

NUMERO DAS EVACUAÇÕES

N.º das evacuções	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
20	•									
15										
10										
5										
0		•	•	•	•	•	•	•	•	•

PROVA DA CURA BACTERIOLOGICA — PESQUISA DO BACILLO DYSENTERICO DE SHIGA-KRUSE — Todos os exames praticados com esse fim deram resultados negativos.

OBSERVAÇÃO N.º 3

(HOSPICIO SÃO PEDRO)

N.º do registro: 5.578.

Nome: C. B. P.

Idade: 15 annos.

Data do meu primeiro exame: 2 de Julho de 1924.

SYMPTOMATOLOGIA CLINICA — Dôres abdominaes intermittentes, generalizadas a toda a região abdominal. Tenesmo. Urina pouco abundante. No dia da baixa a enfermaria, teve 21 evacuações. Pelle secca; emmagrecimento pronunciadissimo. Pulso irregular, 118 pulsações por minuto. Orbitas escavadas.

ANALYSE DO PRODUCTO DAS DEJECCÕES:

- 1) exame macroscopico: muco estriado de sangue; ausencia de materias fecaes; odôr muito fétido.
- 2) exame microscopico: muitos leucocytos e regular quantidade de globulos vermelhos; raros bacillos; regular quantidade de cellulas epitheliaes; ausencia completa de ovos de parasitos e de protozoarios.

DIAGNOSTICO BACTERIOLOGICO DIFFERENCIAL

1) exames culturaes (2 de Julho de 1924)

M. Endo Ex. directo (fôrma e mobilidade)	Methodo de Gram	PROVA DOS ASSUCARES					Indol	Leite
		Lactose	Glycose	Maltose	Mannita	Saccha- rose		
Bacillos immo- veis	Gram negati- vos	Não de- compõe	Alcidez	Não de- compõe	Não de- compõe	Não de- compõe	—	1º acidez depois alcalinidade

Sôro-agglutinação do germe isolado: 1/120 com sôro agglutinante Shiga-Kruse 1/5.000 (I. O. Cruz do Rio de Janeiro).

2) reacções sorologicas (6 de Julho de 1924)

SÔRO AGGLUTINAÇÃO				SÔRO PRECIPITAÇÃO			
B. Shiga	B. Flexner	B. Hiss	B. Strong	B. Shiga	B. Flexner	B. Hiss	B. Strong
Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo fraco	Flócos mínimos	Flócos mínimos	Flócos mínimos

TRATAMENTO E RESULTADOS OBTIDOS — Após 3 administrações de Bacteriophagyl, por via oral, houve reaparecimento das materias fecaes nas dejeccões, que se espaçaram: no dia 6 de Julho o paciente evacou duas vezes. Em 7 de Julho de 1924, teve alta curado, sob o ponto de vista clinico e bacteriologico.

NUMERO DAS EVACUAÇÕES

N.º das evacuações	2	3	4	5	6	7
20	•					
15						
10						
5		•				
0			•	•	•	•

PROVA DA CURA BACTERIOLOGICA — PESQUISA DO BACILLO DYSENTERICO DE SHIGA-KRUSE — Todas as coproculturas praticadas deram resultados negativos.

OBSERVAÇÃO N.º 4

(HOSPICIO SÃO PEDRO)

N.º do registro: 6.771.

Nome: C. L.

Idade: 50 annos.

Data do meu primeiro exame: 3 de Julho de 1924.

SYMPTOMATOLOGIA CLINICA: dôres — Dôres abdominaes e repetidas evacuações eram os principaes symptomas do paciente. Apresentava vomitos, pequena elevação de temperatura 36º,9, pulso 78. O numero das evacuações era de 24 em 3 de Julho.

ANALYSE DO PRODUCTO DAS DEJECCÕES:

- 1) exame macroscopico: liquido seroso, com estrias de sangue e grande quantidade de mucus transparente, odôr espermatico.
- 2) exame microscopico: innumeradas fibras de muco, diversas cellulas epitheliaes descamadas, numerosos globulos vermelhos, diversos leucocyts, raros bacillos, immoveis; não achei ovos de parasitos, nem protozoarios intestinaes.

DIAGNOSTICO BACTERIOLOGICO DIFFERENCIAL

1) exames culturaes (3 de Julho de 1924)

M. Endo Ex. directo (fôrma e mobilidade)	Methodo de Gram	PROVA DOS ASSUCARES					Indol	Leite
		Lactose	Glycose	Maltose	Mannita	Saccha- rose		
Bacillos immo- veis	Gram negati- vos	Não fermenta	Acidez	Não fermenta	Não fermenta	Não fermenta	—	1º acidez, depois alcalinidade

Sôro-agglutinação do germe isolado: 1/960 com sôro agglutinante Shiga-Kruse 1/5.000 (I. O. Cruz do Rio de Janeiro).

2) reacções sorológicas (6 de Julho de 1924)

SÔRO AGGLUTINAÇÃO				SÔRO PRECIPITAÇÃO			
B. Shiga	B. Flexner	B. Hiss	B. Strong	B. Shiga	B. Flexner	B. Hiss	B. Strong
Negativo 1/60	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo

TRATAMENTO E RESULTADOS OBTIDOS. -- Administrêi ao paciente no dia 3 de Julho a 1.^a dóse de Bacteriophagyl. Dois dias após o paciente começou a apresentar sensíveis melhoras, temperatura a 36°,5, pulso 74, consideravel diminuição do numero das evacuações, o que se pôde ver no quadro abaixo. Em 12 de Julho, as fêzes do doente apresentaram-se com aspecto normal.

NUMERO DAS EVACUAÇÕES

N.º das evacuações	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
20	•	•								
15										
10			•							
5				•		•				
0						•	•	•	•	•

PROVA DA CURA BACTERIOLOGICA — PESQUISA DO BACILLO DYSENTERICO DE SHIGA-KRUSE —
Negativa em 14 de Julho de 1924.

OBSERVAÇÃO N.º 5

(HOSPICIO SÃO PEDRO)

N.º do registro: 6.473.

Nome: F. R.

Idade: 38 annos.

Data do meu primeiro exame: 17 de Julho de 1924.

SYMPTOMATOLOGIA CLINICA — Evacuações frequentes, em média, de 20 em 20 minutos, acompanhadas de colicas. Vomitos biliosos que se repetiam com frequencia. Estado geral grave, com emmagrecimento progressivo. Temperatura 39,1. Pulso irregular, filiforme, 118 por minuto. Urinas com traços carregados de albumina, sem outros elementos anormaes. Volume de urina muito reduzido (480 cc. em 24 horas). No sedimento urinario, não encontrei cylindros.

ANALYSE DO PRODUCTO DAS DEJECCÕES:

- 1) exame macroscopico: evacuações muco-sanguinolentas, com retalhos de mucosa. Não havia materias fecaes.
- 2) exame microscopico: numerosissimos polynucleares, poucos lymphocytos, numerosos globulos vermelhos, grande numero de cellulas epitheliaes aglomeradas.

DIAGNOSTICO BACTERIOLOGICO DIFFERENCIAL

1) exames culturaes (17 de Julho de 1924)

M. Endo Ex. directo (fórma e mob ilidade)	Methodo de Gram	PROVA DOS ASSUCARES					Indol	Leite
		Lactose	Glycose	Maltose	Mannita	Saccha- rose		
Bacillos immo- veis	Gram negati- vos	Não de- compõe	Acidez	Não de- compõe	Não de- compõe	Não de- compõe	—	1º acidez depois alcalinidade

Sôro-agglutinação do germe isolado: 1/960 com sôro agglutinante Shiga-Kruse 1/5.000 (I. O. Cruz do Rio de Janeiro).

2) reacções sorológicas (27 de Julho de 1924)

SÔRO AGGLUTINAÇÃO				SÔRO PRECIPITAÇÃO			
B. Shiga	B. Flexner	B. Hiss	B. Strong	B. Shiga	B. Flexner	B. Hiss	B. Strong
Positivo 1/120	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo nitido	Flócos minimos	Flócos minimos	Flócos minimos

TRATAMENTO E RESULTADOS OBTIDOS — Em 1 de Julho iniciei a medicação especifica. Assim, pela manhã desse dia, o doente ingeriu 2 cm.³ de Bacteriophagyl. Após 24 horas repeti esse mesmo tratamento, accusando então o paciente as primeiras melhoras (evacuações reduzidas a 12 durante o dia, diminuição das dôres abdominaes, desaparecimento dos vomitos).

Medicado, deste modo, durante 4 dias, as evacuações adquiriram o aspecto fecaloide, ficando o paciente inteiramente curado pela administração de 10 dôses do bacteriophago anti-dysenterico.

Foi o que a observação clinica e as provas de laboratorio demonstraram.

NUMERO DAS EVACUAÇÕES

N.º das evacuações	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26
20	•	•								
15			•							
10				•						
5					•					
0						•	•	•	•	•

PROVA DA CURA BACTERIOLOGICA — PESQUISA DO BACILLO DYSENTERICO DE SHIGA-KRUSE — As coproculturas realisadas com esse fim deram resultados negativos.

OBSERVAÇÃO N.º 6

(HOSPICIO SÃO PEDRO)

N.º do registro: 6.346.

Nome: E. T.

Idade: 27 annos.

Data do meu primeiro exame: 22 de Julho de 1924.

SYMPTOMATOLOGIA CLINICA: accusa dôres abdominaes localisadas principalmente ao longo do colon transverso, temperatura axillar 38º.5, pulso a 104, diminuição da coloração das mucosas, denotando já um enfraquecimento geral. Apresentava tambem uma sensação de queimadura no anus, principalmente após as dejecções. O numero das dejecções foi de 10 a 14 de dois dias para cá.

ANALYSE DO PRODUCTO DAS DEJECCÇÕES:

- 1) exame macroscopico: consistencia muito fluida, apresentando raros bôlos fecaes, regular quantidade de muco transparente, grumoso, com algumas estrias de sangue, de odôr muito fétido.
- 2) exame microscopico: algumas cellulas do epithelio intestinal descamado, diversas hemacias, regular quantidade de fibras de muco, numero consideravel de leucocyts, muitos bacillos, immoveis, contidos alguns no interior dos leucocyts, ausencia completa de ovos de parasitos e protozoarios intestinaes.

DIAGNOSTICO BACTERIOLOGICO DIFFERENCIAL

1) exames culturaes (22 de Julho de 1924)

M. Endo Ex-directo (fôrma e mobilidade)	Methodo de Gram	PROVAS DOS ASSUCARES					Indol	Leite
		Lactose	Glycose	Maltose	Mannita	Saccha- rose		
Bacilos immo- veis	Gram negati- vos	Não de- compõe	Acidez	Não de- compõe	Não de- compõe	Não de- compõe	—	1.º acidez, depois alcalinidade

Sôro-agglutinação do germe isolado: 1/240 com sôro agglutinante Shiga-Kruse 1/5.000 (I. O. Cruz do Rio de Janeiro).

2) reacções sorologicas (30 de Julho de 1924)

SÔRO AGGLUTINAÇÃO				SÔRO PRECIPITAÇÃO			
B. Shiga	B. Flexner	B. Hiss	B. Strong	B. Shiga	B. Flexner	B. Hiss	B. Strong
Positivo franco 1/80	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo franco	Flocos pequenos	Flocos pequenos	Flocos pequenos

TRATAMENTO E RESULTADOS OBTIDOS: em 24 de Julho administrei ao paciente a 1.^a d6se de Bacteriophagyl. No dia 25 de Julho, o paciente accusava sensiveis melhoras no seu estado geral, diminuic6o das d6res abdominaes, espaçamento do numero das dejecc6es (5 por dia). As evacuaç6es apresentavam uma pequena quantidade de muco e unicamente traços de sangue. Em 26 de Julho, as d6res abdominaes haviam desaparecido por completo. S6mente havia evacuado 2 vezes nas 24 horas. O aspecto das f6zes modificara-se por completo, j6 tom6ra f6rma, a c6r era parda e deram resultados negativos as pesquisas de sangue e de muco. Mediquei o doente pelo Bacteriophagyl at6 o dia 2 de Agosto.

NUMERO DAS EVACUAÇ6ES

N.º das evacuac6es	24	25	26	27	28	29	30	31	1	2
20										
15	•									
10										
5		•								
0			•	•	•	•	•	•	•	•

PROVA DA CURA BACTERIOLOGICA — PESQUISA DO BACILLO DYSENTERICO DE SHIGA-KRUSE — Os resultados de todos os exames para revelarem a presença do bacillo dysenterico foram negativos.

OBSERVAÇÃO N.º 7

(HOSPICIO SÃO PEDRO)

N.º do registro: 6.061.

Nome: J. V. S. C.

Idade: 30 annos.

Data do meu primeiro exame: 22 de Julho de 1924.

SYMPTOMATOLOGIA CLINICA. — Dôres intensas no hypochondrio direito; alguns vomitos, temperatura a 38º,2, pulso 112, enfraquecimento geral. O numero das dejecções era de 27 no dia 22 de Julho de 1924.

ANALYSE DO PRODUCTO DAS DEJECÇÕES:

- 1) exame macroscopico: fézes de consistencia fluida, odôr muito fétido, grande quantidade de sangue não reduzido e de muco transparente.
- 2) exame microscopico: regular quantidade de fibras de muco, algumas cellulas do epithelio descamado, diversos globulos vermelhos, numerosos bacillos contidos alguns no interior dos leucocytes; não encontrei protozoaries intestinaes, nem ovos de parasitos.

DIAGNOSTICO BACTERIOLOGICO DIFFERENCIAL

- 1) exames culturaes (22 de Julho de 1924)

M. Endo Ex. directo (fôrma e mobilidade)	Methodo de Gram	PROVA DOS ASSUCARES					Indol	Leite
		Lactose	Glycose	Maltose	Mannita	Saccha- rose		
Bacillos immo- veis	Gram negati- vos	Não fermenta	Acidez	Não fermenta	Não fermenta	Não fermenta	—	1º acidez, depois alcalinidade

Sôro-agglutinação do germe isolado: 1/320 com sôro agglutinante Shiga-Kruse 1/5.000 (I. O. Cruz do Rio de Janeiro).

2) reacções sorológicas (30 de Julho de 1924)

SÔRO AGGLUTINAÇÃO				SÔRO PRECIPITAÇÃO			
B. Shiga	B. Flexner	B. Hiss	B. Strong	B. Shiga	B. Flexner	B. Hiss	B. Strong
Positivo	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo	Leve-mente positivo	Leve-mente positivo	Leve-mente positivo

TRATAMENTO E RESULTADOS OBTIDOS. — Foi administrado ao paciente durante 10 dias o bacteriophago por via oral. Após 36 horas da 1.^a administração, o paciente começou a sentir melhoras em seu estado geral. O numero das evacuações foi progressivamente diminuindo, conforme se pôde verificar no quadro abaixo.

NUMERO DAS EVACUAÇÕES

N.º das evacuações	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31
20	•									
15		•								
10										
5			•							
0				•	•	•	•	•	•	•

PROVA DA CURA BACTERIOLOGICA — PESQUISA DO BACILLO DYSENTERICO DE SHIGA-KRUSE — Todos os exames praticados com esse fim deram resultados negativos.

OBSERVAÇÃO N.º 8

(HOSPICIO SÃO PEDRO)

N.º do registro: 6.284.

Nome: A. B.

Idade: 38 annos.

Data do meu primeiro exame: 31 de Julho de 1924.

SYMPTOMATOLOGIA CLINICA:—Portador de fortes dôres abdominaes, localizadas no hypochondrio esquerdo, tenesmo persistente após ás evacuações, retracção do ventre, temperatura de 38,5, pulso 106, evidente era ainda o enfraquecimento do doente que apresentava pallidez accentuada das mucosas e o numero de 18 evacuações no dia que o observei pela primeira vez.

ANALYSE DO PRODUCTO DAS DEJECCÕES:

- 1) exame macroscopico: a consistencia era muito fluida, quantidade de muc. algumas estrias de sangue não reduzido, odôr muito fétido, lembrando o odôr do esperma.
- 2) exame microscopico: numerosissimos leucocytos, regular quantidade de bacillos, alguns dentre elles situados no interior dos leucocytos, diversas cellulas do epithelio descamadas, poucas hemacias, ausencia de ovos de parasitos e de protozoarios.

DIAGNOSTICO BACTERIOLOGICO DIFFERENCIAL

1) exames culturaes (31 de Julho de 1924)

M. Endo Ex. directo (fôrma e mobilidade)	Methodo de Gram	PROVAS DOS ASSUCARES					Indol	Leite
		Lactose	Glycose	Maltose	Mannita	Saccha- rose		
Bacillos inmo- veis	Gram negati- vos	Não de- compõe	Acidez	Acidez	Acidez	Ausencia de acidez	+	1º acidez, depois alcalinidade

Sôro-agglutinação do germe isolado: 1/120 com sôro agglutinante Flexner 1/1000 (I. O. Cruz do Rio de Janeiro).

2) reacções sorológicas (9 de Agosto de 1924)

SÔRO AGGLUTINAÇÃO				SÔRO PRECIPITAÇÃO			
B. Shiga	B. Flexner	B. Hiss	B. Strong	B. Shiga	B. Flexner	B. Hiss	B. Strong
Negativo	Positivo 1/320	Positivo fraco 1/120	Negativo	Flócos mínimos	Positivo intenso	Leve- mente positivo	Flócos mínimos

TRATAMENTO E RESULTADOS OBTIDOS: em 31 de Julho, administrei ao paciente, em um copo d'agua, a 1.^a dóse do Bacteriophagyl. No dia 1.^o de Agosto, melhoras accentuadas foram observadas no estado geral do paciente, diminuição das dôres abdominaes, ausencia de tenesmo, espaçamento do número das evacuações (6 por dia). As dejecções apresentavam pequena quantidade de muco e sómente vestígios de sangue revelados pela reacção de Weber. Applicada a 2.^a dóse em 2 de Agosto, ausencia completa de dôres abdominaes. Nas 24 horas havia evacuado sómente 2 vezes. O aspecto das fézes modificou-se por completo: já tomou fórma, a côr era parda e deram resultados negativos as pesquisas de sangue e de muco. Continuou o tratamento pelo Bacteriophagyl até o dia 9 de Agosto.

NUMERO DAS EVACUAÇÕES

N.º das evacuações	31	1	2	3	4	5	6	7	8	9
20										
15	•									
10										
5		•								
0			•	•	•	•	•	•	•	•

PROVA DA CURA BACTERIOLOGICA — PESQUISA DO BACILLO PARA-DYSENTERICO FLEXNER — Os exames praticados nos dias 10 e 14 de Agosto, com o fim de revelarem a presença deste bacillo, deram resultados negativos.

OBSERVAÇÃO N.º 9

(HOSPICIO SÃO PEDRO)

N.º do registro: 5.387.

Nome: E. J. S.

Idade: 42 annos.

Data do meu primeiro exame: 12 de Agosto de 1924.

SYMPTOMATOLOGIA CLINICA: entrou para a enfermaria devido a frequencia das dejecções (20 no dia 12). Sensação de queimadura ao nivel do anus, o que fazia o doente soffrer em demasia. Suer viscoso no rosto, com temperatura de 37°,8. Vomitos alimentares, pouco abundantes.

ANALYSE DO PRODUCTO DAS DEJECÇÕES:

- 1) **exame macroscopico:** liquido de côr rosea, com flocos de muco, sem fézes. Material pouco abundante.
- 2) **exame microscopico:** muitos globulos vermelhos, diversos polynucleares, alguns lymphocytos, regular quantidade de bacillos immoveis.

DIAGNOSTICO BACTERIOLOGICO DIFFERENCIAL

1) exames culturaes (12 de Agosto de 1924)

M. Endo Ex-directo (Fôrma e mobilidade)	Methodo de Gram	PROVAS DOS ASSUCARES					Indol	Leite
		Lactose	Glycose	Maltose	Mannita	Saccha- rose		
Bacillos immo- veis	Gram nega- tivos	Não de- compõe	Acidez	Não de- compõe	Não de- compõe	Não de- compõe	—	1.º acidez, depo is alcalidade

Sôro-agglutinação do germe isolado: 1/640 com sôro agglutinante Shiga-Kruse 1/5.000 (I. O. Cruz do Rio de Janeiro).

2) reacções sorologicas (18 de Agosto de 1924)

SÔRO AGGLUTINAÇÃO				SÔRO PRECIPITAÇÃO			
B. Shiga	B. Flexner	B. Hiss	B. Strong	B. Shiga	B. Flexner	B. Hiss	B. Strong
Positivo nitido 1/80	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo nitido	Flócos minimos	Flócos minimos	Flócos minimos

TRATAMENTO E RESULTADOS OBTIDOS. — Em 4 de Setembro institui a medicação lytica, que não tardou a produzir, no doente, melhoras objectivas e subjectivas evidentes. Na verdade, o numero das evacuações ficaram reduzidas a 2, no segundo dia de tratamento. Apareceram depois pequenos flocos de fézes nas evacuações, que ficaram moldadas no 4.º dia. Não encontrei, pela reacção de Weber, sangue reduzido nas fézes do observado.

NUMERO DAS EVACUAÇÕES

N.º das evacuações	12	13	14	15	16	17	18
20	•						
15							
10		•					
5							
0			•	•	•	•	•

PROVA DA CURA BACTERIOLOGICA — PESQUISA DO BACILLO DYSENTERICO DE SHIGA-KRUSE — Todos os exames realizados com esse fim deram resultados negativos.

OBSERVAÇÃO N.º 10

(HOSPICIO SÃO PEDRO)

N.º do registro: 6.856.

Nome: A. M.

Idade: 22 annos.

Data do meu primeiro exame: 15 de Agosto de 1924.

SYMPTOMATOLOGIA CLINICA — Dôres abdominaes continuas, acompanhadas de tenesmo anal, com 46 evacuações ao baixar á enfermaria, sem temperatura alta (37°), com pulso a 89 por minuto. Urinas com vestigios de albumina e traços leves de indoxylo urinario e escatol.

ANALYSE DO PRODUCTO DAS DEJECCÕES:

- 1) exame macroscopico — Liquido sero-mucoso, com regular quantidade de sangue.
- 2) exame microscopico — Leucocytos degenerados e globulos vermelhos em abundancia. Raros bacillos, immo-veis extra-cellulares. Detrietos do epithelio intestinal. Alguns exemplares de *Ancylostomum duodenale*.

DIAGNOSTICO BACTERIOLOGICO DIFFERENCIAL

1) exames culturaes (15 de Agosto de 1924)

M. Endo Ex-di. ecto (tórma e mobilidade)	Methodo de Gram	PROVA DOS ASSUCARES					Indol	Leite
		Lactose	Glycose	Maltose	Mannita	Saccha- rose		
Bacillos immo- veis	Gram nega- tivos	Não fermenta	Acidez	Não fermenta	Não fermenta	Não fermenta	---	1º acidez, depois depois 2º acidez

Sôro-agglutinação do germe isolado: 1/240 com sôro agglutinante Shiga-Kruse 1/5.000 (I. O. Cruz do Rio de Janeiro.

2) reacções sorológicas (18 de Agosto de 1924)

SÔRO AGGLUTINAÇÃO				SÔRO PRECIPITAÇÃO			
B. Shiga	B. Flexner	B. Hiss	B. Strong	B. Shiga	B. Flexner	B. Hiss	B. Strong
Negativo 1/40	Negativo 1/60	Negativo 1/60	Negativo 1/60	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo

TRATAMENTO E RESULTADOS OBTIDOS — Em 5 dias com o bacteriophago anti-dysenterico consegui a cura do doente, sem que se observasse reacção geral desagradavel. Em 34 horas as evacuações adquiriam os caracteres das fézes anteriores, desaparecendo por completo o sangue.

NUMERO DAS EVACUAÇÕES

N.º das evacuações	15	16	17	18	19	20
20	•	•				
15						•
10			•			
5						
•				•	•	•

PROVA DA CURA BACTERIOLOGICA — PESQUISA DO BACILLO DYSENTERICO DE SHIGA-KRUSE — Resultado da coprocultura do dia 20 de Agosto de 1924: negativa quanto ao bacillo de Shiga-Kruse

OBSERVAÇÃO N.º 11

N.º do registro: 6.839.

Nome: C. P.

Idade: 48 annos.

Data do meu primeiro exame: 27 de Agosto de 1924.

SYMPTOMATOLOGIA CLINICA : dejecções abundantes (em numero de 11 no dia 27), acompanhadas de fortes colicas ao nivel do colon transverso, temperatura de 39º.6, pulso 112, levemente icterico. Nas urinas havia traços nitidos de albumina, não se observando, todavia, cylindros ou cellulas do epithelio renal, bem como outros elementos anormaes.

ANALYSE DO PRODUCTO DAS DEJECÇÕES:

- 1) exame macroscopico — Liquido anarellado, com grumos de muco e sangue, sem materias fecaes. Odôr caracteristico de sperma.
- 2) exame microscopico — Muitos globulos vermelhos e numerosos leucocytos; muitas cellulas do epithelio intestinal. Não havia ovos e embryões de parasitos do intestino.

DIAGNOSTICO BACTERIOLOGICO DIFFERENCIAL

1) exames culturaes (27 de Agosto de 1924)

M. Endo Ex-directo (fôrma e mobilidade)	Methodo de Gram	PROVA DOS ASSUCARES					Indol	Leite
		Lactose	Glycose	Maltose	Mannita	Saccha- rose		
Bacillos immo- veis	Gram negati- vos	Não fermenta	Acidez	Não fermenta	Não fermenta	Não fermenta	—	1º acidez, depois alcalinidade

Sôro-agglutinante do germe isolado: 1/640 com sôro agglutinante Shiga-Kruse 1/5.000 (I. O. Cruz do Rio de Janeiro).

2) reacções sorológicas (31 de Agosto de 1924)

SÔRO AGGLUTINAÇÃO				SÔRO AGGLUTINAÇÃO			
B. Shiga	B. Flexner	B. Hiss	B. Strong	B. Shiga	B. Flexner	B. Hiss	B. Strong
Positivo	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo nitido	Vestigios	Vestigios	Vestigios

TRATAMENTO E RESULTADOS OBTIDOS. — Como nos outros casos o tratamento pelo Bacteriophagyl deu excellentes resultados: no dia 30 de Agosto, o numero de evacuações ficou reduzido a 4, apparecendo raros detrictos fecaes com sangue e muco diminuido. Depois de 3 dias de tratamento as fézes, moldadas, apresentavam os caracteres normaes. As urinas tornaram-se mais abundantes e não tinham albumina ou outro elemento anormal no dia 4, data em que o doente teve alta curado (no sentido clinico e bacteriologico).

NUMERO DAS EVACUAÇÕES

N.º das evacuações	27	28	29	30	31	1	2	3	4
20									
15									
10	•								
5		•	•						
0				•	•	•	•	•	•

PROVA DA CURA BACTERIOLOGICA — PESQUISA DO BACILLO DYSENTERICO DE SHIGA-KRUSE — Praticámos 2 coproculturas nos dias 4 e 6 de Setembro que deram resultados negativos.

OBSERVAÇÃO N.º 12

(HOSPICIO SÃO PEDRO)

N.º do registro: 6.835.

Nome: M. A. O.

Idade: 14 annos.

Data do meu primeiro exame: 3 de Setembro de 1924.

SYMPTOMATOLOGIA CLINICA — Colicas, tenesmo e anorexia completa. Intolerancia intestinal total, com 28 evacuações no dia 3 de Setembro. A reacção febril era de 39º.2.

ANALYSE DO PRODUCTO DAS DEJECÇÕES:

- 1) exame macroscopico: fézes liquidas, com coagulos sanguineos e flócos de muco e pús.
- 2) exame microscopico: numerosos globulos vermelhos e leucocyts, muco em abundancia, diversas cellulas epitheliaes.

DIAGNOSTICO BACTERIOLOGICO DIFFERENCIAL

- 1) exames culturaes (3 de Setembro de 1924)

M. Endo Ex-directo (fórma e mobilldade)	Methodo de Gram	PROVA DOS ASSUCARES					Indol	Leite
		Lactose	Glycose	Maltose	Mannita	Saccha- rose		
Bacillos immo- veis	Gram negati- vos	Não de- compõe	Acidez	Não de- compõe	Não de- compõe	Não de- compõe	—	1.º acidez, depois alcalimidade

Sôro-agglutinação do germe isolado: 1/640 com sôro agglutinante Shiga-Kruse 1/5.000 (I. O. Cruz do Rio de Janeiro).

2) reacções sorologicas (13 de Setembro de 1924)

SÔRO AGGLUTINAÇÃO				SÔRO AGGLUTINAÇÃO			
B. Shiga	B. Flexner	B. Hiss	B. Strong	B. Shiga	B. Flexner	B. Hiss	B. Strong
Positivo nitido 1/160	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo nitido	Leves flócos	Leves flócos	Muito leves flócos

TRATAMENTO E RESULTADOS OBTIDOS — Pela primeira vez, na manhã de 3 de Setembro, dei ao paciente, 2 cm.³ de Bacteriophagyl, por via digestiva. Nas primeiras 26 horas não observei melhoras apreciáveis no estado geral do observado. Entretanto, após a terceira administração do medicamento específico, notei que as evacuações se haviam modificado: o sangue era menos visível e a quantidade de muco sensivelmente diminuída. A cura deste doente foi verificada, em 18 de Setembro, com provas experimentaes.

NUMERO DAS EVACUAÇÕES

N.º das evacuações	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
20	•									
15		•								
10										
5			•							
0				•	•	•	•	•	•	•

PROVA DA CURA BACTERIOLOGICA — PESQUISA DO BACILLO DYSENTERICO DE SHIGA-KRUSE — As coproculturas praticadas, afim de revelarem a presença deste bacillo, deram resultados negativos.

OBSERVAÇÃO N.º 13

(HOSPICIO SÃO PEDRO)

N.º do registro: 6.735.

Nome: F. S. S.

Idade: 62 annos.

Data do meu primeiro exame: 4 de Setembro de 1924.

SYMPTOMATOLOGIA CLINICA. — Inapetencia absoluta, lingua pastosa e secca, dôres agudas no sitio do intestino grosso, temperatura de 38º,9, pulso pequeno (117 por minuto). Urina turva, amarello-avermelhada, com traços de albumina e cylindros hyalinos, densidade 1030,1 a + 15º. Dejecções em numero de 19 (4 de Setembro de 1924).

ANALYSE DO PRODUCTO DAS DEJECCÕES:

- 1) exame macroscopico — Liquido que lembra a agua de lavagem de carne, com fragmentos amarellos, sem materias fecaes.
- 2) exame microscopico — Erythrocytos em abundancia e alterados, leucocytos numerosos e grupos de microorganismos em bastonete, immoveis, detriectos diversos. Alguns ovos de *Trichocephalus trichiurus*.

DIAGNOSTICO BACTERIOLOGICO DIFFERENCIAL

1) exames culturaes (4 de Setembro de 1924)

M. Endo Ex. directo (fôrma e mobilidade)	Methodo de Gram	PROVA DOS ASSUCARES					Indol	Leite
		Lactose	Glycose	Maltose	Mannita	Saccha- rose		
Bacillos inmo- veis	Gram negati- vos	Não fermenta	Acidez	Não fermenta	Não fermenta	Não fermenta	—	1º acidez, depois alcalinidade

Sôro-agglutinação do germe isolado: 1/480 com sôro agglutinante Shiga-Kruse 1/5.000 (L. O. Cruz do Rio de Janeiro).

2) reacções sorologicas (11 de Setembro de 1924)



SÔRO AGGLUTINAÇÃO				SÔRO PRECIPITAÇÃO			
B. Shiga	B. Flexner	B. Hiss	B. Strong	B. Shiga	B. Flexner	B. Hiss	B. Strong
Positivo 1/240	Negativo 1/160	Negativo 1/160	Negativo 1/160	Positivo forte	Muito leve- mente positivo	Vestigios	Vestigios

TRATAMENTO E RESULTADOS OBTIDOS. — Exclusivamente com o uso do bacteriophago anti-dysenterico, por via oral, na dose de 2 cm.³, a symptomatologia clinica alarmante do observado transformou-se por completo em 26 horas: a temperatura baixou a 37°2, o pulso ficou mais cheio (92 pulsações por minuto), as dejecções reduziram-se a 9, o producto das evacuações tornou-se menos fluido, com muito pouco sangue e muc. Nos 2 dias seguintes, essas melhoras accentuaram-se visivelmente. Em 13 de Setembro o doente estava completamente curado.

NUMERO DAS EVACUAÇÕES

N.º das evacuações	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
20										
15	•									
10										
5		•								
0			•		•	•	•	•	•	•

PROVA DA CURA BACTERIOLOGICA — PESQUISA DO BACILLO DYSENTERICO DE SHIGA-KRUSE — Não foi possivel, pela cultura, verificar a presença de bacillo Shiga-Kruse nas fézes do paciente.

OBSERVAÇÃO N.º 14

(HOSPICIO SÃO PEDRO)

N.º do registro: 6.696.

Nome: A. A. M.

Idade: 18 annos.

Data do meu primeiro exame: 8 de Setembro de 1924.

SYMPTOMATOLOGIA CLINICA. — Asthenia intensa, olhos escavados e facies grippado. Dezoito evacuações em 24 horas. Sensação de peso no anus. Temperatura de 38°,2.

ANALYSE DO PRODUCTO DAS DEJECCÇÕES:

- 1) exame macroscopico: producto das evacuações minimo, sem materias fecaes, com muito muco e sangue.
- 2) exame microscopico: numerosos leucocytes, regular quantidade de globulos vermelhos, diversas cellulas epitheliaes, ausencia de oves de parasitos e protozoarios intestinaes.

DIAGNOSTICO BACTERIOLOGICO DIFFERENCIAL

1) exames culturaes (8 de Setembro de 1924)

M. Endo Ex-directo (fôrma e mobilidade)	Methodo de Gram	PROVA DOS ASSUCARES					Indol	Leite
		Lactose	Glycose	Maltose	Mannita	Saccha- rose		
Bacillos immo- veis	Gram negati- vos	Não de- compõe	Acidez	Não de- compõe	Não de- compõe	Não de- compõe	—	1º acidez, depois alcalinidade

Sôro-aglutinação do germe isolado: 1/160 com sôro aglutinante Shiga-Kruse 1/5.000 (I. O. Cruz do Rio de Janeiro).

2) reacções sorológicas (16 de Setembro de 1924)

SÔRO AGGLUTINAÇÃO				SÔRO PRECIPITAÇÃO			
B. Shiga	B. Flexner	B. Hiss	B. Strong	B. Shiga	B. Flexner	B. Hiss	B. Strong
Positivo 1/180	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo nitido	Flócos minimos	Flócos minimos	Flócos minimos

TRATAMENTO E RESULTADOS OBTIDOS. — Ingerido pelo doente, o Bacteriophagyl, no dia 8 de Setembro, as evacuações modificaram-se em 34 horas, quer em relação ao aspecto quer quanto ao numero dellas. No dia 22 de Setembro, pelo proseguimento da medicação especifica, o doente ficou inteiramente curado, apresentando fêzes moldadas e normaes.

NUMERO DAS EVACUAÇÕES

N.º das evacuações	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
20										
15	•	•								
10			•							
5										
0				•	•	•	•	•	•	•

PROVA DA CURA BACTERIOLOGICA — PESQUISA DO BACILLO DYSENTERICO DE SHIGA-KRUSE — Ausencia de bacillos dysentericos em coproculturas duas vezes repetidas.

OBSERVAÇÃO N.º 15

(HOSPICIO SÃO PEDRO)

N.º do registro: 6.741.

Nome: G. A.

Idade: 27 annos.

Data do meu primeiro exame: 19 de Setembro de 1924.

SYMPTOMATOLOGIA CLINICA — Estado geral do paciente bom, com temperatrua de 38º.4. Evacuações em numero de 14 em 24 horas. Leves dôres na articulação do joelho direito. Tenesmo anal penivel.

ANALYSE DO PRODUCTO DAS DEJECCÕES:

- 1) exame macroscopico: dejecções que não continham fézes, muco-sangrentas, lembrando um catharro pneumonico.
- 2) exame microscopico: muito leucocytos, diversos globulos vermelhos, diversas cellulas epitheliaes; varios bacillos intra e extra-cellulares: não consegui encontrar, em exames repetidos, ovos de parasitos e protozoarios.

DIAGNOSTICO BACTERIOLOGICO DIFFERENCIAL

1) exames culturaes (20 de Setembro de 1924)

M. Endo Ex. directo (fôrma e mobilidade)	Methodo de Gram	PROVA DOS ASSUCARES					Indol	Leite
		Lactose	Glycose	Maltose	Mannita	Saccha- rose		
Bacillos in mo- veis	Gram negati- vos	Não de- compõe	Acidez	Acidez	Acidez	Ausencia de acidez	+	1º acidez, depois alcalinidade

Sôro-agglutinação do germe isolado: 1/160 com sôro agglutinante Flexner 1/1.000 (I. O. Cruz do Rio de Janeiro).

2) reacções sorológicas (20 de Setembro de 1924)

SÔRO AGGLUTINAÇÃO				SÔRO PRECIPITAÇÃO			
B. Shiga	B. Flexner	B. Hiss	B. Strong	B. Shiga	B. Flexner	B. Hiss	B. Strong
Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo

TRATAMENTO E RESULTADOS OBTIDOS: em 1.º de Setembro foi administrado internamente, pela primeira vez, o bacteriophago anti-dysentérico, que, ao cabo de 26 horas, produziu melhoras nitidas do paciente. O numero de evacuações diminuiu, havendo tambem diminuição do sangue e das dôres abdominaes. Pela continuação do tratamento pelo Bacteriophagyl, as fêzes ficaram normaes no dia 28 de Setembro.

NUMERO DAS EVACUAÇÕES

N.º das evacuações	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28
20										
15										
10	•	•								
5			•							
0				•	•	•	•	•	•	•

PROVA DA CURA BACTERIOLOGICA — PESQUISA DO BACILLO PARA-DYSENTERICO FLEXNER — No meio de Endo, não consegui isolar os bacillos paradysentericos de Flexner em 28 e 30 de Setembro.

OBSERVAÇÃO N.º 16

(HOSPÍCIO SÃO PEDRO)

N.º do registro: (Enfermeiro).

Nome: O.

Idade: 35 annos.

Data do meu primeiro exame: 2 de Outubro de 1924.

SYMPTOMATOLOGIA CLINICA — Necessidade incessante de defecar, seguida de forte tenesmo. Pela pressão sobre o grosso intestino e sobretudo ao nível do colon, o doente accusava dôres violentas. As evacuações no dia 2 de Outubro foram numerosas: 54 durante as 24 horas. Temperatura de 39,4, pulso 106 por minuto. Symptomas geraes inquietantes: facies grippado, urinas albuminosas e diminuidas de volume, com alguns cylindros granulosos.

ANALYSE DO PRODUCTO DAS DEJECCÕES:

- 1) exame macroscopico — Liquido seroso, com detritos membraniformes de côr pallida e fôrte odôr infecto.
- 2) exame microscopico — Numerosos globulos vermelhos, muitos leucocytes, raros bacillos, Gram negativos intra e extra-cellulares, detritos epitheliaes em abundancia. Encontrei raros ovos de *Ascaris lombricoides*.

DIAGNOSTICO BACTERIOLOGICO DIFFERENCIAL

1) exames culturaes (2 de Outubro de 1924)

M. Endo Ex-directo (fôrma e mobilidade)	Methodo de Gram	PROVA DOS ASSUCARES					Indol	Leite
		Lactose	Glycose	Maltose	Mannita	Saccha- rose		
Bacillos immo- veis	Gram negati- vos	Não fermenta	Acidez	Não fermenta	Não fermenta	Não fermenta	—	1.º acidez, depois alcalinidade

Sôro-agglutinação do germe isolado: 1/640 com sôro agglutinante Shiga-Kruse 1/5.000 (I. O. Cruz do Rio de Janeiro).

2) reacções sorológicas (8 de Outubro de 1924)

SÔRO AGGLUTINAÇÃO				SÔRO PRECIPITAÇÃO			
B. Shiga	B. Flexner	B. Hiss	B. Strong	B. Shiga	B. Flexner	B. Hiss	B. Strong
Positivo fraco	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo	Levemente positivo	Flócos mínimos	Flócos mínimos

TRATAMENTO E RESULTADOS OBTIDOS — Colhi também, neste caso, os bons resultados da medicação específica: após 46 horas já eram evidentes as melhoras clinicas do doente, que não tinha evacuações tão seguidas, nem se queixava do tenesmo que tanto o affligia anteriormente. Após 3 dias, notei o reaparecimento nas evacuações de pequenos bolos fecaes, denunciadores do proseguimento das melhoras do doente. A temperatura baixou a normal (36°,6). O estado geral do paciente modificou-se por completo, obtendo-se por fim a cura em 9 dias.

NUMERO DAS EVACUAÇÕES

N.º das evacuações	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
20	•									
15		•								
10										
5			•							
0				•	•	•	•	•	•	•

PROVA DA CURA BACTERIOLOGICA — PESQUISA DO BACILLO DYSENTERICO DE SHIGA-KRUSE — Não identifiquei bacillos dysentericos em coproculturas realizadas em 12 e 14 de Outubro de 1924.

OBSERVAÇÃO N.º 17

(HOSPICIO SÃO PEDRO)

N.º do registro: 6.773.

Nome: V. B.

Idade: 36 annos.

Data do meu primeiro exame: 6 de Outubro de 1924.

SYMPTOMATOLOGIA CLINICA. — Queixava-se de dôres violentas do abdomen; no inicio da molestia, vomitos, temperatura axillar 37º,3, pulso 96, pallidez accentuada das mucosas. Apresentava tambem dôres nas articulações dos membros inferiores. O numero das dejecções foi de 28 em 6 de Outubro.

ANALYSE DO PRODUCTO DAS DEJECÇÕES:

- 1) exame macroscopico: a consistencia era muito fluida, com estrias de sangue e regular quantidade de muco transparente, odôr muito fétido.
- 2) exame microscopico: muitas fibras de muco, diversas cellulas do epithelio descamado, regular quantidade de hemacias, numerosos leucocyts e poucos bacillos, immoveis, contidos alguns no interior dos leucocyts; não encontrei ovos de parasitos, nem protozoarios intestinaes.

DIAGNOSTICO BACTERIOLOGICO DIFFERENCIAL

1) exames culturaes (6 de Outubro de 1924)

M. Endo Ex. directo (fôrma e mobilidade)	Methodo de Gram	PROVA DOS ASSUCARES					Indol	Leite
		Lactose	Glycose	Maltose	Mannita	Saccha- rose		
Bacillos immo- veis	Gram negati- vos	Não fermenta	Acidez	Não fermenta	Não fermenta	Não fermenta		1º acidez, depois atcalinidade

Sôro-agglutinação do germe isolado: 1/320 com sôro agglutinante Shiga-Kruse 1/5.000 (I. O. Cruz do Rio de Janeiro).

2) reacções sorologicas (11 de Outubro de 1924)

SÔRO AGGLUTINAÇÃO				SÔRO PRECIPITAÇÃO			
B. Shiga	B. Flexner	B. B. Hiss	B. Strong	B. Shiga	B. Flexner	B. Hiss	B. Strong
Positivo 1/80	Negativo 1/80	Negativo 1/80	Negativo 1/80	Positivo fraco	Leve- mente positivo	Vestigios	Vestigios

TRATAMENTO E RESULTADOS OBTIDOS. — Administrei ao nosso paciente no dia 7 de Outubro a 1.^a dôse de Bacteriophagyl. No dia 9 de Outubro já apresentava algumas melhoras, temperatura a 36°.9, pulso a 76, consideravel diminuição do numero das evacuações (6 por dia). Continuei a administração do medicamento especifico, por via oral, até o dia 20 de Outubro.

NUMERO DAS EVACUAÇÕES

N.º das evacuações	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
20	•									
15		•	•							
10										
5				•						
0					•	•	•	•	•	•

PROVA DA CURA BACTERIOLOGICA — PESQUISA DO BACILLO DYSENTERICO DE SHIGA-KRUSE — Foram negativas as coproculturas realizadas com esse fim.

OBSERVAÇÃO N.º 18

(HOSPICIO SÃO PEDRO)

N.º do registro: 6.848.

Nome: G. O. E.

Idade: 40 annos.

Data do meu primeiro exame: 21 de Outubro de 1924.

SYMPTOMATOLOGIA CLINICA. — Diarrheia banal, com 6 evacuações em 24 horas, acompanhada de colieas. Temperatura 36º,9. Apparelhos respiratorio e circulatorio normaes.

ANALYSE DO PRODUCTO DAS DEJECCÕES:

- 1) exame macroscopico: fézes molles, com sangue e muco, odor pronunciado.
- 2) exame microscopico: regular quantidade de leucocytos, poucos globulos vermelhos, diversas cellulas epitheliaes, poucos elementos bacillares. Não encontrei ovos e embryões de parasitos, nem exemplares de protozoarios. Havia detriectos alimentares de natureza vegetal e algumas fibras musculares com estriação evidente.

DIAGNOSTICO BACTERIOLOGICO DIFFERENCIAL

1) exames culturaes (21 de Outubro de 1924)

M. Endo Ex-di.ecto (tórma e mobilidade)	Methodo de Gram	PROVA DOS ASSUCARES					Indol	Leite
		Lactose	Glycose	Maltose	Mannita	Saccha- rose		
Bacillos immo- veis	Gram nega- tivos	Não fermenta	Acidez	Não fermenta	Não fermenta	Não fermenta	—	1º acidez, depois alcalinidade

Séro-agglutinação do germe isolado: 1/480 com séro agglutinante Shiga-Kruse 1/5.000 (I. O. Cruz do Rio de Janeiro).

2) reacções sorologicas (24 de Outubro de 1924)

SÔRO AGGLUTINAÇÃO				SÔRO PRECIPITAÇÃO			
B. Shiga	B. Flexner	B. Hiss	B. Strong	B. Shiga	B. Flexner	B. Hiss	B. Strong
Negativo 1/60	Negativo 1/80	Negativo 1/80	Negativo 1/80	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo

TRATAMENTO E RESULTADOS OBTIDOS. — Em 21 de Outubro administrei, por via oral, 2 cm.³ de Bacteriophagl. No dia immediato, notei alterações evidentes no aspecto das materias fecaes, que me pareceram mais solidas. Tambem o numero de evacuações ficou reduzido a duas vezes. Pelo proseguimento desse tratamento durante 4 dias, consegui o restabelecimento do observado.

NUMERO DAS EVACUAÇÕES

N.º das evacuações	21	22	23	24	25	26
20						
15						
10						
5	•					
0		•	•	•	•	•

PROVA DA CURA BACTERIOLOGICA — PESQUISA DO BACILLO DYSENTERICO DE SHIGA-KRUSE — Não foi possivel, pelos methodos habituaes, verificar a presença de bacillos dysentericos, muito embora tivesse ou feito 2 coproculturas.

Fica com a publicação destas observações respondida a seguinte pergunta feita pelo illustrado Prof. Octacilio Rosa, em relatório apresentado ao pranteado Prof. Dioclecio Pereira: “Serão de origem bacteriana?” (as colites existentes no Hospício São Pedro). “Só com o laboratorio devidamente aparelhado será possível responder”.

Isto demonstra a preocupação do corpo clinico do Hospício São Pedro em interpretar com segurança o syndrome dysenterico dos doentes recolhidos aquella benemerita instituição.

II — DYSENTERIAS BACILLARES NA CLÍNICA PRIVADA

Aos Profs. Octavio de Souza, Octacilio Rosa e Pereira Filho, deve-se a introdução do bacteriophago anti-dysenterico na clinica particular do nosso meio.

As observações seguintes, que têm o rigorismo de provas experimentaes, mostram com nitidez o valor dessa medicação nas colites de Shiga-Kruse e Flexner.

OBSERVAÇÃO N.º 19

(Clinica dos Drs. Octavio de Souza e Djalma Jobim)

Trata-se de uma criança (J. S.), do sexo masculino, com 7 annos de idade, branco, natural deste Estado, que accusa em seu passado morbido furunculoses (aos 7 mezes), colite (aos 9 annos) e gripe epidemica e sarampão.

Filho de paes fortes, de 3 para 4 de Outubro, á noite, sentiu os primeiros symptomas de perturbação digestiva, pelo que lhe foi administrado um purgativo. Nesta occasião a temperatura attingiu 40º,1.

No dia 5, ás 8 horas, apresentou evacuações liquidas, mucosangrentas. Começou logo a fazer lavagens com agua oxygenada diluida, bem como a ingestão de poções com sulfato de sodio, greda preparada e elixir paregorico. Fizeram-se tambem injeções de emetina, sem que houvesse melhoras clinicas apreciaveis.

Exames coproscopicos, duas vezes repetidos, não permittiram verificar a presença de entamebas ou de quaesquer

outros parasitos intestinaes, possiveis agentes determinantes da colite de J. S.

No dia 7, o numero de evacuações foi de 43, com o aspecto microscopico das dysenterias bacillares.

Em 8, as dejeções foram ainda muito frequentes (45 nas 24 horas).

No dia seguinte, administrou-se o bacteriophago anti-dysenterico, na dose de 2 cm.³ de 12 em 12 horas. O doente evacuou 34 vezes, ficando a temperatura em 37°.6. O aspecto muco-sanguinolento das dejeções era o mesmo.

Em 10, entretanto, as evacuações diminuiram (22), para cahir a 15 no dia 11, apresentando o doentinho excellent estado geral. No dia seguinte, até ao meio dia, não defecou senão 3 vezes, havendo, todavia, sangue e muco entre os detrictos fecaes. Devido à ingestão de certa porção de leite, na tarde desse mesmo dia, o numero de dejeções subiu a 8. Suspendeu-se por isso essa alimentação.

No dia 13, as materias fecaes não tinham sangue e foram emittidas em 4 dejeções.

Finalmente, em 14, evacuou duas vezes, e em 15 e 16, sómente uma vez, materias fecaes bem moldadas, sem sangue e muco. Urinas normaes.

ANALYSE DO PRODUCTO DAS DEJECCÕES:

- 1) exame macroscopico: evacuações muco-sanguinolentas, com retalhos de mucosa. Não havia materias fecaes.
- 2) exame microscopico: numerosissimos polynucleares, poucos lymphocytos, numerosos globulos vermelhos, grande numero de cellulas epitheliaes.

DIAGNOSTICO BACTERIOLOGICO DIFFERENCIAL

Exames culturaes (em 9 de Outubro de 1924)

M. Endo Ex-directo (fórma e mobilidade)	Methodo de Gram	PROVA DOS ASSUCARES					Indol	Leite
		Lactose	Glycose	Maltose	Mannita	Saccha- rose		
Bacillos immo- veis	Gram negati- vos	Não fermenta	Acidez	Não fermenta	Não fermenta	Não fermenta		1.º acidez, depois alcalinidade

Sôro-agglutinação do germe isolado: 1/480 com sôro agglutinante Shiga-Kruse 1/5.000 (I. O. Cruz do Rio de Janeiro).

NUMERO DAS EVACUAÇÕES

N.º das evacuações	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
40					•	•								
30				•			•							
20		•	•					•						
10	•								•	•				
0											•	•	•	•

OBSERVAÇÃO N.º 20

(*Clinica do Prof. Octavio de Souza*)

F. S., branca, com 74 annos de idade, apresentou no dia 12 de Outubro, diarrheia acompanhada de dôres abdominaes. Dia a dia as perturbações para o apparelho digestivo foram-se accentuando, até que em 17 de Outubro o numero de evacuações chegou a 14.

Como é aconselhavel em taes casos, o Prof. Octavio, sem esperar a confirmação do laboratorio, receitou empôlas de bacteriophago anti-dysenterico.

Feita a sementeira das fézes em meio de Endo, o exame cultural resultou positivo para o germe de Flexner (numerosas colonias de bacillos paradysentericos de Flexner).

Os resultados da medicaçào especifica não tardaram a apparecer: evacuou sómente duas vezes, ficando o estado geral da paciente consideravelmente melhorado. Para consolidaçào da cura clinica, ingeriu ainda Bacteriophagyl até o dia 21 de Outubro, data em que teve alta curada da paradysenteria. Continuou, entretanto, a ser medicada em relaçào a asthenia geral.

OBSERVAÇÃO N.º 21

(*Clinica do Prof. Pereira Filho*)

L. F., branca, com 42 annos de idade, residente na estrada da Gloria. Soffre ha dois mezes de diarrheia, com tenesmo anal bastante incommodo. Temperatura de 36°,8. Nada apresenta de anormal para o apparelho respiratorio. Emmagrecimento bastante pronunciado. Accusa dôres, pela pressão, ao nivel do colon transverso. As materias fecaes eram liquidas, com muco e sangue em abundancia. Examinada ao microscopico, encontrei, além de ovos de *Ascaris lombricoides* e de *Trichocephalus trichiurus*, numerosos leucocyts e globulos vermelhos, bem como regular quantidade de cellulas do epithelio intestinal e detricτος alimentares vegetaes. A coprocultura feita com material recente, deu muitas colonias de germes que foram identificados como bacillos paradysentericos Flexner. Em 20 de Outubro o medico assistente instituiu a medificação especifica. Após 42 horas o numero de evacuações, que habitualmente era 12-14 em 24 horas, desceu a 5. Tambem não havia tanto sangue e muco nos dejectos. No fim de 9 dias, as fézes ficaram solidas, sem muco e sangue, estando, pois, curada sob o ponto de vista clinico.

OBSERVAÇÃO N.º 22

(*Clinica do Prof. Pereira Filho*)

M. C., com 9 annos de idade, mixto, morador na Avenida Italiana, adoeceu em 8 de Julho de 1924.

SYMPTOMATOLOGIA CLINICA — Evacuações diarrheicas acompanhadas de colicas no trajecto do grosso intestino. A palpação é mais dolorosa no segmento esquerdo do colon. Temperatura de 37°,9. Lingua secca. De 8-9 evacuações por dia. Emmagrecimento pronunciado (vide photographia). Apparelho respiratorio normal.

ANALYSE DO PRODUCTO DAS DEJECCÕES:

- 1) exame macroscopico: fézes liquidas, com muco e sangue.
- 2) exame microscopico: muitos leucocyts degenerados, re-

gular quantidade de globulos vermelhos, detrictos vegetaes, regular quantidade de cellulas do epithelio intestinal.

O exame cultural das fézes resultou positivo para o germe de Flexner: havia, nas placas de gelose lactosada tournesolada, numerosas colonias do bacillo paradysenterico Flexner.

O sôro-agglutinação com o germe isolado: 1/160 com sôro agglutinante Flexner 1/1.000 (I. O. Cruz do Rio de Janeiro).

TRATAMENTO. — Iniciei, em 14 de Julho, o tratamento especifico pelo Bacteriophagyl. Attendendo ao estado geral do paciente, fiz simultaneamente injeccões de ovo-lecithina Billon. Em 46 horas, já eram evidentes as melhoras no aspecto das fézes, que ficaram menos liquidas, com estrias de sangue e muco pouco apparente.

Continuamos essa medicação durante 4 dias, obtendo-se então a cura clinica da paradysenteria clinica.

OBSERVAÇÃO N.º 23

(Do Prof. Octacilio Rosa)

C. K., com 32 annos de idade, branco, casado, agrimensor, consultou-me no mez de Agosto, por estar soffrendo de colite. Contou-me que por occasião da grippe pandemica nesta cidade foi pela primeira vez atacado de colite “que quasi o matou”.

Ventre ligeiramente meteorizado e doloroso ao nivel dos colons, lingua saburrosa, temperatura de 37°5 pela manhã e 39° á tarde. Doze a quatorze dejejccões diarias de aspecto dysenteriforme. No mesmo dia de consulta foi enviada uma pouca de fézes ao Laboratorio do Dr. Pereira Filho para exame bacteriologico, pois suspeitei da origem bacillar do seu mal.

Foi este o resultado: isolamento pela coprocultura de numerosas colonias de bacillos paradysentericos Flexner.

Receitei-lhe bacteriophago anti-dysenterico exclusivamente. Logo á 2.^a dôse sentiu-se melhor. A temperatura foi a normal e o numero de dejejccões diminuiu (6 por dia). As dores abrandaram e depois da administração de meia duzia de empôlas julgou-se em condições de viajar para a sua residencia em municipio distante, tendo apenas duas dejejccões diarias de aspecto normal. Não tive noticias posteriores.

CAPITULO VIII

REFLEXÕES TERMINAES

I) Para concluir este trabalho experimental, julgo conveniente fazer ligeiras considerações sobre um dos pontos mais discutidos do phenomeno de d'Herelle. Assim, entre as hypotheses que visam explicar a bacteriophagia, não julgo completamente demonstrado o affirmar de d'Herelle e de outros pesquisadores quanto a natureza de ultra-virus do bacteriophago, consoante os dados que synthetisei na introdução desta these, bem como no capitulo IV.

Com Costa Cruz, acredito que o bacteriophago seja um colloide. Sendo assim, não se dará, no momento da convalescença de algumas molestias infectuosas, a desagregação de colloides microbianos ? Não serão essas substancias que, em contacto com os colloides do germe recente, determinarão a lyse microbiana transmissivel em série ? São estas perguntas que tenho em mente, lembrando-me de alguns phenomenos que se passam entre substancias colloidaes. Na verdade, misturando-se dois colloides dissolvidos (grãos finos e separados), póde haver dissolução ou precipitação, dependendo das proporções nas quaes são elles misturados (de accôrdo com a lei optima da proporção). E' tambem sabido que si um colloide está agglomerado (grãos mais volumosos), um outro colloide dissolvido póde augmentar a precipitação ou destruil-a. Consequintemente, não é inadmissivel pensar que, durante as convalescências de determinadas infecções, haja disseminação no organismo do principio mi-

crobiano coloidal que influirá, por sua vez, sobre os agentes microbianos, causadores da molestia.

Outra pergunta tambem, ao terminar as nossas experiencias, me occorre. Por que o phenomeno de d'Herelle não é observado na mistura bacteriophago mais germes mortos? Não ha lyse e sim simplesmente adhesão do principio lytico aos microbios correspondentes. Tento explicar, pois, esse facto dizendo que, pela morte do germe, as substancias contidas no corpo microbiano, perdem o estado coloidal, donde a ausencia da lyse, por deixar de existir a mistura de dois colloides.

De resto, affirmam os classicos que os seres vivos, animaes ou plantas, são em grande parte formados de colloides ou melhor os tecidos realmente vivos são quasi exclusivamente colloidaes. Nelles são, pois, raros os crystalloides.

Sem pretender explicar de todo o complexo phenomeno de d'Herelle pela theoria coloidal, concluo unicamente que grande numero das propriedades do bacteriophago pôdem ser explicadas pelas leis que regem os solutos colloidaes.

II) Após da hypothese que chego de esboçar, passo as conclusões das minhas provas experimentaes:

- 1) E' frequente a observação das chamadas "culturas mixtas" em gelose simples semeada com urinas de pyelo-nephriticos chronicos.
- 2) O dispositivo que adoptei para o isolamento do bacteriophago é pratico e offerece tôdas as garantias de asepsia. Póde ser construido com objectos de uso corrente nos laboratorios.
- 3) Em caldos glycerinados a 30 %, o bacteriophago anti-coli lysa alças de colibacillo recente.
- 4) Do mesmo modo, esse bacteriophago não é destruido pelo aquecimento a 56°, durante 30'.
- 5) O bacteriophago anti-coli é altamente efficaz nas infecções colibacillares do aparelho urinario.
- 6) Não se observam, com o emprego dessa medicação,

reações geraes desagradaveis. Ha reacções locais minimas (rubor, leve dôr), que desapareceram com rapidez.

- 7) Quando se tiver de preparar vaccinas autogenicas com as denominadas "culturas mixtas", julgo indispensavel retirar da cultura o bacteriophago, o que se consegue pelas repicagens successivas do germe, com a technica apropriada. Evita-se, assim, a meu vêr, a sensibilização do organismo pelo principio lysante.
- 8) A dysenteria bacillar Shiga-Kruse e paradysenterica Flexner existem em Porto Alegre.
- 9) Regular numero de dysenterias Shiga-Kruse foram bacteriologicamente diagnosticados entre os doentes do Hospicio São Pedro. Ao lado de raros casos de dysenteria amebica, encontram-se tambem casos de paradysenteria Flexner.
- 10) O bacteriophago anti-dysenterico é o medicamento especifico das dysenterias bacillar e parabacillares.
- 11) Sem produzir reacções geraes, a ingestão desse principio modifica por completo, em espaço de tempo limitado, a evolução dos syndromes dysentericos bacillares. A cura é completa no sentido clinico e bacteriologico.
- 12) Com o emprego do bacteriophago, evitam-se os portadores de germes, pois, as fézes dos doentes, depois da ingestão de uma série de empôlas de bacteriophago, não apresentam mais bacillos especificos.
- 13) A precipito-reacção, em gelose simples, é muito util para o diagnostico dos syndromes dysentericos bacillares.
- 14) As culturas dos bacillos da especie dysenterica, muito tempo conservadas em meios artificiaes, perdem o poder de decompôr os hydratos de carbono que habitualmente são atacados pelos germes recentemente isolados do organismo.
- 15) Tambem para se proceder as sóro-agglutinações, de-

- vem-se usar germes isolados ha pouco tempo. Evitam-se assim agglutinações não especificas.
- 16) Ha no sangue dos dysentericos sensibilizadoras especificas e sensibilizadoras de grupo. Pela prova de Bordet Gengou, nota-se que a mistura do sôro do doente com o germe do typo que corresponde ao agente causador da molestia, ha fixação de maior quantidade de complemento.
 - 17) Os bacillos dysentericos e paradysentericos são os responsaveis por uma bôa parte dos syndromes dysentericos observados na clinica domiciliar, desta capital.
 - 18) Toda a vez que em evacuações mucosanguinolentas não se observar a presença de entamebas ou quaesquer outros parasitos causadores dos syndromes dysentericos, deve-se fazer a pesquisa dos germes das dysenterias bacillares.
 - 19) Não se ha de esquecer, ainda a possibilidade de dysenterias amibo-bacillares.
 - 20) Nos primeiros dias de molestia, recorre-se de preferéncia a coprocultura. Depois da primeira semana, o processo recommendavel é a sôro-agglutinação.
 - 21) O methodo macroscopico de sôro-agglutinação, para esse caso particular, é mais seguro que o processo microscopico.
 - 22) O bacillo Shiga-Kruse, conservado muito tempo no laboratorio, perde parte do seu poder toxigenico. Com uma espécime do Instituto Oswaldo Cruz do Rio de Janeiro, matei, um coelho em 16 dias, pela inoculação de 2 cm.³ de uma cultura em caldo, de 24 horas.
 - 23) Os bacillos da especie dysenterica produzem leve acidez nos meios com glycose, adicionadods de phenol-sulfone-phtaleina.
 - 24) Emquanto se faz o tratamento do doente pelo bacteriophago anti-dysenterico, é indispensavel prescrever dieta adequada. Assim, o leite é inteiramente contra-indicado.

- 25) Para o tratamento das dysenterias bacillares, pôde-se empregar o bacteriophago de *stock*, ao passo que para medicar infecções colibacillares, é indispensavel verificar si o bacteriophago que se dispõe lysa o germe isolado do doente.
- 26) Não ha contra-indicações que restrinjam o uso do principio anti-dysenterico. Póde até ser empregado antes do exame bacteriologico do producto das evacuações.
- 27) A mortalidade dos enteríticos do Hospício São Pedro baixou depois da administração do bacteriophago anti-dysenterico. Os sôros anti-dysentericos não deram resultados tão concludentes.

BIBLIOGRAPHIA

QUE CONSULTEI ATÉ 5 DE NOVEMBRO DE 1924

1921

- APPELMANS (R.) — Le bactériophage dans l'organisme
8 de Outubro — pg. 722-724 (Société de Biologie)
- APPELMANS (R.) — Le dosage du Bactériophage
3 de Dezembro — pg. 1098-1099 (Société de Biologie)
- AMEUILLE — Le bactériophage d'Herelle
Março — t. IX — n.º 3 — pg. 197-207 (Annales de Médecine)
- APPELMANS — Au sujet de la valeur thérapeutique du bactériophage
Vol. XXVI — (Arch. intern. de Pharmacodynamie et de Thérapie)

1922

- APPELMANS (R.) — Quelques applications de la méthode de dosage du Bactériophage
25 de Fevereiro — pg. 508-509 (Société de Biologie)
- APPELMANS (R.) et WAGEMANS (J.) — Bactériophages de diverses provenances
25 de Março — pg. 738-739 (Société de Biologie)
- ASHESHOV (IGOR N.) — Sur les particularités de quelques souches de Bactériophage
23 de Dezembro — pg. 1341-1343 (Société de Biologie)
- ASHESHOV (IGOR N.) — L'accoutumance du Bactériophage
23 de Dezembro — pg. 1343-1345 (Société de Biologie)
- ANDRÉ PHILIBERT — Le principe bactériophage (Phénomène de d'Herelle — Annales de Médecine Vétérinaire, Janeiro, 1922, N.º 1
Pg. 23 — n.º 2, Fevereiro, 1922, pg. 84, 67.º Année, 1922.

1923

- ASHESHOV (IGOR N.) — L'atténuation du Bactériophage par vieillissement
22 de Fevereiro — pg. 118-119 (Société de Biologie)
- ASHESHOV (IGOR N.) — Quelques recherches sur la nature des plages Bactériophage
22 de Fevereiro — pg. 120-121 (Société de Biologie)

1924

- ALESSANDRINI (A.) y DORIA (R.) — La bacteriophagoterapia de la tifoidea
21 de Janeiro — (Policlinico, Roma)
- ARNOLD — Twort-d'Herelle's Phenomenon — Abstracts of Bacteriology, n.º 1, volume VIII, Janeiro 1924, pg. 7.

1920

- BORDET (J.) et CIUCA (M.) — Exsudats leucocytaires et autolyse microbienne transmissible
9 de Outubro — pg. 1293-1295 (Société de Biologie)

- BORDET (J.) et CIUCA (M.) — Le bactériophage de d'Herelle, sa production et son interprétation
9 de Outubro — pg. 1296-1298 (Société de Biologie)
- BABLET (J.) — Sur le principe bactériophage de d'Herelle
23 de Outubro — pg. 1322-1324 (Société de Biologie)
- BOTEZ — La bactériolyse en série par le violet de méthyle
pg. 585-586 (C. R. Soc. Biol.)
- 1921**
- BORDET (J.) et CIUCA (M.) — Déterminisme de l'autolyse microbienne transmissible
29 de Janeiro — pg. 276-278 (Société de Biologie)
- BORDET (J.) et CIUCA (M.) — Spécificité de l'autolyse microbienne transmissible
29 de Janeiro — pg. 278-279 (Société de Biologie)
- BORDET (J.) et CIUCA (M.) — Autolyse microbienne et sérum antilytique
29 de Janeiro — pg. 280-281 (Société de Biologie)
- BORDET (J.) et CIUCA (M.) — Remarques sur l'historique des recherches, concernant la lyse microbienne transmissible
26 de Março — pg. 745-747 (Société de Biologie)
- BORDET (J.) et CIUCA (M.) — Evolution des cultures de coli lysogène
26 de Março — pg. 747-748 (Société de Biologie)
- BORDET (J.) et CIUCA (M.) — Guérison et retour à l'état primitif, par le sérum antilytique, du coli lysogène
26 de Março — pg. 748-750 (Société de Biologie)
- BRUYNOGHE (R.) et MAISIN (J.) — Au sujet des microbes devenus résistants au principe bactériophage
30 de Abril — pg. 847-848 (Société de Biologie)
- BRUYNOGHE (R.) — Au sujet de la guérison des germes devenus résistants au principe bactériophage
28 de Maio — pg. 20-23 (Société de Biologie)
- BRUYNOGHE (R.) — Au sujet de la nature du principe bactériophage
25 de Junho — pg. 258-260 (Société de Biologie)
- BORDET (J.) et CIUCA (M.) — Sur la régénération du principe actif dans l'autolyse microbienne
4 de Dezembro — pg. 1095-1097 (Société de Biologie)
- BRUYNOGHE (R.) et MAISIN (J.) — Le principe bactériophage du Staphylocoque
3 de Dezembro — pg. 1118-1119 (Société de Biologie)
- BRUYNOGHE (R.) et MAISIN (J.) — Essais thérapeutiques au moyen du Bactériophage du Staphylocoque
3 de Dezembro — pg. 1120-1121 (Société de Biologie)
- BRUYNOGHE (R.) et MAISIN (J.) — Au sujet de l'unité du principe bactériophage
3 de Dezembro — pg. 1122-1124 (Société de Biologie)
- BAIL — Ueber Shiga bactériophage
n.º 34 — pg. 555-556 (Wien. Klin. Woch.)
- BAIL — Das bakteriophage Virus von d'Herelle
19 de Maio — pg. 237-238 — t. XXXIV (Wien. Klin. Woch.)
- BAIL — Bakteriophage Wirkungen gegen Flexner und Koli-Bakterien
15 de Setembro — pg. 417-419 (Wien. Klin. Woch.)
- BORDET (J.) — Hemolytic exsudates and transmissible bacteriolytic autolysis

- t. XXXII — pg. 302-304 (Johns Hopkins Hosp. Bull., Balt.)
- BRUYNOGHE — Le bactériophage — brochure — 29 pgs.
- BRUYNOGHE — Le principe bactériophage
Julho (Revue des questions scientifiques)
- BRUYNOGHE e APPELMANS — La neutralisation des bactériophages
Vol. XXVII (Arch. internationales de pharmacodynamie et de thérapie)
- BAIL — Verein deutscher Deitzte
4 — Novembro — pg. 1576 (Deutsch. Med. Woch.)
- BAIL — 29 de Dezembro — pg. 1579 (Deutsch. Med. Woch.)
- 1922
- BECKERICH (A.) et HAUDUROY (P.) — Au sujet du titrage du Bactériophage
13 de Janeiro — pg. 165-167 (Société de Biologie)
- BECKERICH (A.) et HAUDUROY (P.) — Le Bactériophage dans le traitement
de la fièvre typhoïde
13 de Janeiro — pg. 168-170 (Société de Biologie)
- BRUYNOGHE (R.) et MAISIN (J.) — La phagocytose du Bactériophage
28 de Janeiro — pg. 292-293 (Société de Biologie)
- BRUYNOGHE (R.) et MAISIN (J.) — Au sujet de la réaction consécutive a
l'injection du Bactériophage
28 de Janeiro — pg. 294-295 (Société de Biologie)
- BORDET (J.) et CIUCA (M.) — Sur la théorie du virus dans la lyse micro-
bienne transmissible et les conditions de régénération du
principe actif
28 de Janeiro — pg. 295-297 (Société de Biologie)
- BERGSTRAND (H.) — Sur la lyse microbienne transmissible
20 de Fevereiro — pg. 489-491 (Société de Biologie)
- BERGSTRAND (H.) — Sur la variation des Bactéries
20 de Fevereiro — pg. 492-494 (Société de Biologie)
- BRUYNOGHE (R.) et MAISIN (J.) — Réponse a la note de Mm. Gratia et
Jaumain relative aux réactions produits par l'injection de
Bactériophage
25 de Março — pg. 739-740 (Société de Biologie)
- BECKERICH (A.) et HAUDUROY (P.) — Au sujet de l'obtention de Bacté-
riophage par antagonisme microbien.
7 de Abril — pg. 881-882 (Société de Biologie)
- BACHMANN (A.) et AQUINO (L. I.) — Sur le Bactériophage
6 de Abril — pg. 1108-1109 (Société de Biologie)
- BRUYNOGHE (R.) et APPELMANS (R.) — La neutralisation des Bactériophages
de provenance différente
27 de Maio — pg. 96-99 (Société de Biologie)
- BORDET (J.) et CIUCA (M.) — Variations d'énergie du principe actif dans
l'autolyse microbienne transmissible
24 de Junho — pg. 366-369 (Société de Biologie)
- BORDET (J.) — Obtention des principes de faible puissance dans l'autolyse
microbienne transmissible
14 de Outubro — pg. 987-990 (Société de Biologie)
- BECKERICH (A.) et HAUDUROY (P.) — Sur l'obtention de Bactériophage
par antagonisme microbien. Réponse a Mm. Lisbonne et
Carrère.
25 de Novembro — pg. 1124- (Société de Biologie)
- BACHMANN (A.) — El bacteriofago de d'Herelle

- 20 de Março — pg. 1 — n. 29 (La Prensa Medica Argentina)
- BERNICE RHODES — The phenomenon of Bacteriophage
Fevereiro — pg. 289 — n.º 5 — tom. VII (The Journal of Laboratory and Clinical Medicine).
- BAIL e WATANABE — Versuche über spezifische Bacteriophagenwirkung
20 de Abril — n.º 35 — pg. 362-365 (Wien. Kling. Woch.)
- BORDET — Concerning the Theories of the So-Called Bacteriophage
19 de Agosto — pg. 96 (Brit. M. J.)
- BACHMANN y AQUINO — Bacteriophagia
16 de Março — n.º 11 — pg. 1 (Semana Medica)
- BRADLEY (H. C.) — Studies of autolysis VII The nature of autolytic enzymas
Junho — pg. 467-484 (Journ. biol. Ch.)
- BAIL e WATANABE — Ueber Mischbacteriophagen
Pg. 169-172 (Wien. Klin. Woch.)
- BECKERICH e HAUDUROY — Le bactériophage de d'Herelle, son rôle dans l'immunité, ses applications thérapeutiques.
Le Médecin d'Alsace et de Lorraine)
- BASTIN — Le phénomène de d'Herelle considéré dans ses rapports avec la Biologie générale, la Pathogénie, la Prophylaxie et la Thérapeutique des Infections
These apresentada á Faculdade de Medicina e Pharmacia de Lille
- BACHMANN e AQUINO — Sobre el bacteriophago
Abril — t. XXV (Revista d. Med. Argentina)

1923

- BRUYNOGHE (R.) et BRUTSAERT (P.) — La résistance des Bactériophages a l'action des certaines substances chimiques
31 de Março — pg. 966-968 (Société de Biologie)
- BRUYNOGHE (R.) et WAGEMANS (J.) — La résistance des Bactériophages au sérum neutralisant
31 de Março — pg. 968-969 (Société de Biologie)
- BORDET (J.) — La théorie de l'antagonisme microbien dans la genèse de la lyse transmissible
28 de Abril — pg. 1211-1213 (Société de Biologie)
- BRUYNOGHE (R.) et WAGEMANS (J.) — Sur la complexité des certains Bactériophages
2 de Junho — pg. 85-87 (Société de Biologie)
- BRUTSAERT (P.) — La virulence des Bactériophages
2 de Junho — pg. 87-90 (Société de Biologie)
- BRUTSAERT (P.) — Le Bactériophage et le Radium
2 de Junho — 90 (Société de Biologie)
- BACHMANN (A.) et BARRERA (J. de la) — Quelques variations sérologiques du Bacille paratyphique A
2 de Agosto — pg. 756-758 (Société de Biologie)
- BORDET (J.) — Les théories de la lyse microbienne transmissible
3 de Novembro — pg. 963-964 (Société de Biologie)
- BRUTSAERT (P.) — Influence des électrolytes sur le phénomène de d'Herelle
1.º de Dezembro — pg. 1175-1177 (Société de Biologie)
- BRUTSAERT (P.) — Les Bactériophages dans les milieux fluorés
1.º de Dezembro — pg. 1173-1175 (Société de Biologie)

- BORCHARDT (W.) — Biologische Untersuchungen über die Natur des d'Herelleschen Phänomens
Pg. 295 - 297 (Klin. Wochenschr.)
- BECKERICH et HAUDUROY — Le traitement des infections urinaires à colibacilles par le bactériophage de d'Herelle
(Bulletin Médical)
- BECKERICH et HAUDUROY — Le bactériophage de d'Herelle. Ses applications thérapeutiques.
Marco — vol. VIII (Journal of Bacteriology New-York)
- BRUYNOGHE — Contribution à l'étude de la nature des bactériophages
30 de Junho—t. III—pg. 360 - 371 (B. Acad. M. Belgique)
- BLAYE — Le Bactériophage et ses applications thérapeutiques
Pg. 640 — (L'Hopital)

1924

- BORDET (J.) — Apparition spontanée du pouvoir lysogène dans les cultures pures
5 de Janeiro — pg. 96 - 98 (Société de Biologie)
- BRUTSAERT (P.) — L'agglutination des microbes résistants
23 de Fevereiro* — pg. 645 - 646 (Société de Biologie)
- BRUTSAERT (P.) — Les Bactériophages et les microbes dans le bouillon hypersalé
23 de Fevereiro — pg. 646 - 648 (Société de Biologie)
- BRUTSAERT (P.) — Le Bactériophage dans les milieux gélatinés
26 de Abril — pg. 1292 - 1294 (Société de Biologie)

1922

- COMBIESCO (D.) — Sur le phénomène de d'Herelle
3 de Junho — pg. 17 - 19 (Société de Biologie)
- CRUZ J. DA COSTA) — Sobre a lise microbiana transmissivel (bacteriofago de d'Herelle)
2 de Setembro — pg. 131 - 133 (Brazil-Medico)
- CRUZ (J. DA COSTA) — Sobre a lise microbiana transmissivel (Bactériophage de d'Herelle)
25 de Fevereiro — pg. 96 - 97 (Brazil-Medico)
- CRUZ (J. DA COSTA) — Sobre a lyse microbiana transmissivel (Bactériophage de d'Herelle)
Tomo XIV, Fasciculo I — pg. 105 (Memorias* do Instituto Oswaldo Cruz)
- CALLOW — Bacteriophage Phenomena with Staphylococcus aureus
n.º 30 — pg. 643 - 650 (J. Infect. Dis., Chicago)
- COURCOUX, PHILIBERT et CORDEY — Un cas de pyélonéphrite gravidique traité par le bactériophage de d'Herelle
21 de Julho — pg. 1151 - 1155 (Société Médicale des Hopitaux)

1923

- CIUCA (M.) — Présence de principe lytique pour le Bacille de Shiga et le Colibacille dans les selles des cholériques
6 de Janeiro — pg. 143 - 145 (Société de Biologie)
- COMBIESCO (D.) et MAGHERU (A.) — Sur la lyse du Bacille pyocyanique
9 de Janeiro — pg. 912 - 913 (Société de Biologie)
- CIUCA (M.) et PETROVANN (E.) — Sur quelques particularités du "principe lytique" d'origine intestinale
14 de Abril — pg. 922 - 923 (Société de Biologie)
- CRUZ (J. DA COSTA) — Sur la nature du Bactériophage. Influence des électrolytes
Agosto — pg. 759 - 762 (Société de Biologie)

- CRUZ (J. DA COSTA) — O bacteriophago em therapeutica
26 de Maio — (Brasil Medico)
- CRUZ (J. DA COSTA) — Bacteriofagia
Janeiro — n.º 4 — (Brasil Medico)
- CAUBLLOT (P.) — Technique des manipulations et contribution a l'étude du
bactériophage de d'Herelle
These apresentada á Faculdade de Medicina de Paris.
- 1924**
- CRUZ (J. DA COSTA) — Sur l'influence des électrolytes dans la lyse par le
Bactériophage
1 de Fevereiro — pg. 237-239 (Société de Biologie)
- CIUCA (M.) — Lyse transmissible en absence d'électrolytes libres
31 de Janeiro — pg. 521-524 (Société de Biologie)
- CRUZ (J. DA COSTA) — L'influence du Ph. sur la lyse par le Bactériophage
6 de Fevereiro — pg. 878-879 (Société de Biologie)
- CAVALIERI (G.) — Sobre o bacteriophago
5 de Janeiro — pg. 17 (Brasil Medico)
- COSTA CRUZ — L'influence du Ph. sur la lyse par le Bactériophage 878 —
Société de Biologie, n.º 12, 1924, 6 de Fevereiro, 1924.
- 1920**
- DUMAS (J.) — Sur la présence du bactériophage dans l'intestin sain dans la
terre et dans l'eau
23 de Outubro — pg. 1314-1315 (Société de Biologie)
- DEBRE' (R.) et HAGUENAU — Quelques particularités "du phénomène de
d'Herelle"
30 de Outubro — pg. 1348-1349 (Société de Biologie)
- DEBRÈ (R.) et HAGUENAU — Quelques particularités du "phénomène de
d'Herelle"
6 de Novembro — pg. 1368 (Société de Biologie)
- 1921**
- DAVISON (W. C.) — Filtrable "substance" antagonistic to dysentery and other
organisms (d'Herelles phenomenon, bacteriophage, bacte-
riolytic agent, bacteriolysant, etc.)
Pg. 159-174 (Abstracts of Bacteriology)
- 1922**
- DAVISON — Observations on the Nature of Bacteriolysants
n.º 7 — pg. 491-504 (J. Bact., Balt.)
- DAVISON — Observations on the Properties of Bacteriolysants
n.º 7 — pg. 475-490 (J. Bact., Balt.)
- DOERR (R.) e GRÜNINGER (W.) — Studien zum Bakteriophagenproblem
Pg 209 — t. XCVII — (Zeits. f. Hyg. Infektionskran-
kheiten)
- DOERR (R.) — Die Bakteriophagen
22 de Julho — pg. 1489-1495 — (Klin. Wochenschrift)
- DOERR (R.) — Phänomen von Twort und d'Herelle
29 de Julho — pg. 1537-1541 (Klin. Wochenschrift)
- DAVISON (W. C.) — Nature and Therapeutic Application of Bacteriolysants
(d'Herelles Phenomenon)
Vol. VI — pg. 27 (Abstracts of Bacteriology)
- DOERR (R.) e GRÜNINGER (W.) — Experimentelle Untersuchungen über die
Beziehungen von Bakterien und Bakteriophagen (übertrag-
baren Lysinen) zur Galle
Pg. 761-764 (Schweiz. med. Wochenschr.)

1921

- ELIAVA (G.) et POZERSKI (E.) — Sur les caractères nouveaux présentés par le Bacille de Shiga ayant résisté à l'action du bactériophage de d'Herelle
23 de Abril — pg. 708-710 (Société de Biologie)
- ELIAVA (G.) et POZERSKI (E.) — De l'action destructive des sels de quinine sur le bactériophage de d'Herelle
25 de Junho — pg. 139-141 (Société de Biologie)

1920

- FLETCHER (W.) — Capsulate mucoid forms of paratyphoid and dysentery bacilli
Pg. 919 — t. 34 (J. Roy. Army. Med. Corps, Lond.)

1922

- FABRY (P.) — Autolyse microbienne transmissible obtenue par antagonisme microbien
24 de Junho — pg. 369-371 (Société de Biologie)
- FLEMING (A.) e ALLISON (V. D.) — Brit. Journal Exp. Path. — VII —
pg. 252-260

1923

- FLU (P. C.) — Sur la prétendue action déchaînant de la pancréatine sur le principe Bactériophage
17 de Novembro — pg. 970-972 (Société de Biologie)
- FEJGIN (B.) et SUPUIEWSKI (J.) — Sur la nature du phénomène de d'Herelle
15 de Novembro — pg. 1385-1386 (Société de Biologie)
- FEJGIN (B.) — Contribution à l'étude des races résistantes du Bacille de Shiga-Kruse
15 de Novembro — pg. 1381-1383 (Société de Biologie)
- FEJGIN (B.) et SUPINIEWSKI — Sur la nature du phénomène d'Herelle
t. LXXXIX — (C. R. S. Biol. — réün. polonaise)

1924

- FABRY (P.) et BENEDEN (J. van) — A propos de l'obtention de l'autolyse transmissible par antagonisme
5 de Janeiro — pg. 109-111 (Société de Biologie)
- FABRY (P.) et BENEDEN (J. van) — Sérum antilytique et antisérum antilytique
5 de Janeiro — pg. 113-115 (Société de Biologie)
- FEJGIN (B.) — Sur les variations brusques du Proteus H X₁₀ survenues sous l'influence de l'agent lytique anti-H X₁₀ et leur rapport avec les souches isolées des Cobayes infectés avec le virus de passage du typhus exanthématique
17 de Janeiro — pg. 1106-1108 (Société de Biologie)
- FEJGIN (B.) — Examen de quelques souches isolées des Cobayes inoculés avec le Bactériophage anti H X₁₀
21 de Fevereiro — pg. 102-1204 (Société de Biologie)
- FEJGIN — Proteus X₁₉, bactériophage et typhus expérimental, pg. 651, Bulletin de L'Institut Pasteur n.º 16, 31, Outubro, 1924

1920

- GENGOU — Contribution à l'étude des substances bactériolytiques des leucocytes
t. 30 — pg. 993-999 (Bull. Acad. Roy. Méd. de Belgique)

1921

- GRATIA (A.) — Influence de la réaction du milieu sur l'autolyse microbienne transmissible
29 de Janeiro — pg. 275-276 (Société de Biologie)
- GRATIA (A.) — De l'adaptation héréditaire du Colibacille a l'autolyse microbienne transmissible
26 de Março — pg. 750-751 (Société de Biologie)
- GRATIA (A.) — Dissociation d'une souche de Colibacille en deux types d'individus de propriétés et de virulence différentes
26 de Março — pg. 751-753 (Société de Biologie)
- GRATIA (A.) — De la signification des "colonies de bactériophage" de d'Herelle
26 de Março — pg. 753-754 (Société de Biologie)
- GRATIA (A.) — Sur la spécificité du principe lytique
26 de Março — pg. 755 (Société de Biologie)
- GRATIA (A.) — L'autolyse transmissible du Staphylocoque et l'action coagulante des cultures lysées
28 de Maio — pg. 25-26 (Société de Biologie)
- GRATIA (A.) — Autolyse transmissible et variations microbiennes
25 de Junho — pg. 251-252 (Société de Biologie)
- GRATIA (A.) et JAUMAIN (D.) — Identité du phénomène de Twort et du phénomène de d'Herelle
5 de Novembro — pg. 880-881 (Société de Biologie)
- GRATIA (A.) et JAUMAIN (D.) — Dualité du principe lytique du Colibacille et du Staphylocoque
5 de Novembro — pg. 882-884 (Société de Biologie)
- GRATIA (A.) et RHODES (B.) — De l'action lytique des Staphylocoques vivants sur les Staphylocoques tués
23 de Fevereiro — pg. 640-642 (Société de Biologie)
- GJORUP (E.) — Bacteriophagum intestinale
n.º 64 — pg. 214-234 (Hosp. — Tid., Kobenh)
- GRATIA (A.) — Studies on the d'Herelle phenomenon
19 de Julho — n.º 34 — pg. 115-126 (J. Exper. M. Balt.)
- GANTER AND VAN DER REIS—The bactericidal function of the small intestine
n.º 137 — pg. 348-358 (Deutsches Arch. f. Klin. Med. Leipz.)
- GILDEMEISTER — Ueber das d'Herellesche Phänomen
14 de Novembro — n.º 58 — Pg. 1355-1358 (Berl. Klin. Woch.)
- GJORUP (E.) — Hospitalstidende, Copenhague 6—Abril — n.º 14
- GRATIA (A.) — Preliminary report on a Staphylococcus bacteriophage
20 de Abril — pg. 217 (Proceed, exp. biol. a med.)
- GOVENLOCK (Mc. Leod and) — The production of bacteriocidins by micro-organisme
30 de Abril — pg. 900-903 (The Lancet)
- GRATIA (A.) — Studies on the lytic agent of Bordet et Ciuca
Pg. 192-193 (Proceed of the Soc. for Exper. biol. and Med.)
- GILDEMEISTER — Das d'Herellesche Phänomen B.
n.º 46 (Klin. Woch.)
- GENGOU — Les substances bactériolytiques des leucocytes et leurs rapports avec l'alexine
t. 35 — pg. 497-512 (Ann. de l'Inst. Pasteur, Paris)

1922

- GRATIA (A.) et JAUMAIN (D.) — Réaction de fixation de l'alexine et spécificité antigénique des principes lytiques
27 de Maio — pg. 99-101 (Société de Biologie)
- GRATIA (A.) — Remarques à propos de la communication de Mm. Bruynoghe et Appelmans
27 de Maio — pg. 99 (Société de Biologie)
- GRATIA (A.) et NAMUR (M. de) — Individualité des principes lytiques staphylococciques de provenances différentes
24 de Junho — pg. 364-366 (Société de Biologie)
- GRATIA (A.) — La lyse transmissible du Staphylocoque. Sa production; ses applications thérapeutiques
28 de Janeiro — pg. 276-278 (Société de Biologie)
- GRATIA (A.) et JAUMAIN (D.) — Au sujet des réactions consécutives aux injections de principe lytique staphylococcique
25 de Fevereiro — pg. 519-520 (Société de Biologie)
- GOMES (J. M.) — Experiencias sobre bactériophagia. Acção sobre os globulos vermelhos, toxinas e assucars
30 de Dezembro — pg. 412-414 (Brazil-Medico)
- GRATIA (A.) — The Twort-d'Hérelle phenomenon II Lysising microbio variation
Março — pg. 287-302 (Journ. Exp. Med.)
- GRATIA (A.) — La lyse transmissible du staphylocoque et ses applications thérapeutiques
25 de Fevereiro — pg. 72-86 (Bulletin de l'Acad. Royale de Méd. de Belgique)
- GRATIA-LEDINGHAM-FLEMMING — Remarques sur le bactériophage
(Brit. Med. Jour.)
- GILDEMEISTER (E.) — Weitere Untersuchungen über das d'Herellesche Phänom.
t. LXXXIX — pg. 181 - (Tagung d. Deutch. Vereingung f. Mikrobiol. in Centralb. f. Bakt.)

1923

- GRATIA (A.) et KRUIF (MLLE. L. de) — Au sujet de la titration du Bactériophage
27 de Janeiro — pg. 308-310 (Société de Biologie)
- GRATIA (A.) et KRUIF (MLLE. L. de) — Tentative d'isolement des Bactériophages d'inégale activité, à partir d'un principe lytique coli manifestant des variations d'énergie
24 de Fevereiro — pg. 629-631 (Société de Biologie)
- GRATIA (A.) — Hétérogénéité du principe lytique du Colibacille
13 de Outubro — pg. 821-823 (Société de Biologie)
- GRATIA (A.) — Relations entre la variabilité du Colibacille et l'hétérogénéité du principe correspondant
13 de Outubro — pg. 824-826 (Société de Biologie)
- GRATIA (A.) et RHODES (B.) — Action du principe lytique sur les émulsions de Staphylocoques vivants et de Staphylocoques tués
1 de Dezembro — pg. 1171-1172 (Société de Biologie)
- GORY (M.) — Transformation muqueuse du Bacillus coli
13 de Janeiro — pg. 49-51 (Société de Biologie)

1917

- HERELLE (F. d') — Sur un microbe invisible antagoniste des bacilles dysentériques
10 de Setembro — t. 165 - pg. 373-375 (C. R. Acad. Sc.)



1918

- HERELLE (F. d') — Technique de la recherche du microbe filtrant bactériophage (*Bactériophagum intestinale*)
7 de Dezembro — pg. 1160-1162 (Société de Biologie)
- HERELLE (F. d') — Sur le rôle du microbe filtrant bactériophage dans la dysentérie bacillaire
9 de Dezembro — t. 167 - pg. 970-972 (C. R. Acad. Sc.)

1919

- HERELLE (F. d') — Sur le microbe bactériophage
29 de Novembro — pg. 1237-1239 (Société de Biologie)
- HERELLE (F. d') — Du rôle du microbe filtrant bactériophage dans la fièvre typhoïde
2 de Março — t. 168 — pg. 631-634 (C. R. Acad. Sc.)
- HERELLE (F. d') — Sur une épizootie de typhose aviaire
3 de Novembro — t. 169 — pg. 817-819 (C. R. Acad. Sc.)

1920

- HERELLE (F. d') — Sur la culture du microbe bactériophage
24 de Janeiro — pg. 52-53 (Société de Biologie)
- HERELLE (F. d') — Sur la résistance des bactéries à l'action du microbe bactériophage
31 de Janeiro — pg. 97-99 (Société de Biologie)
- HERELLE (F. d') — Sur le microbe bactériophage
6 de Março — pg. 247-249 (Société de Biologie)
- HERELLE (F. d') — Sur le microbe bactériophage
23 de Outubro — pg. 1318-1319 (Société de Biologie)
- HERELLE (F. d') — Sur la nature du principe bactériophage
23 de Outubro — pg. 1320-1322 (Société de Biologie)
- HERELLE (F. d') — Le processus de défense contre les bacilles intestinaux et l'étiologie des maladies d'origine intestinale
5 de Janeiro — t. 170 — pg. 72-75 (C. R. Acad. Sc.)

1921

- HERELLE (F. d') — Sur la nature du Bactériophage (*Bactériophagum intestinale* de d'Herelle, 1918)
19 de Fevereiro — pg. 339-340 (Société de Biologie)
- HERELLE (F. d') — Phénomènes coïncidant avec l'acquisition de la résistance des bactéries à l'action du bactériophage
26 de Fevereiro — pg. 384-386 (Société de Biologie)
- HERELLE (F. d') — Rôle du bactériophage dans l'immunité
19 de Março — pg. 538-540 (Société de Biologie)
- HERELLE (F. d') et ELIAVA (G.) — Sur le sérum anti-bactériophage
23 de Abril — pg. 719-721 (Société de Biologie)
- HERELLE (F. d') — Sur l'histoire du bactériophage
14 de Maio — pg. 863-864 (Société de Biologie)
- HERELLE (F. d') — Sur la nature du bactériophage
21 de Maio — pg. 908-909 (Société de Biologie)
- HERELLE (F. d') et ELIAVA (G.) — Unicité du Bactériophage. Sur la lysine du Bactériophage
22 de Outubro — pg. 701-702 (Société de Biologie)
- HERELLE (F. d') — L'ultramicrobe Bactériophage
29 de Outubro — pg. 767-768 (Société de Biologie)
- HERELLE (F. d') et POZERSKI (E.) — Action de la température sur le Bactériophage
3 de Dezembro — pg. 1011-1013 (Société de Biologie)

- HERELLE (F. d') e FRIEDEMANN — Ueber das d'Herelle phenomenon
n.º 9 — pg. 1010-1014 (Naturwissenschaften, Berl.)
- HERELLE (F. d') — Le Bactériophage — son role dans l'immunité (1921)
Monographie de l'Institut Pasteur
- HERELLE (F. d') — Le Bactériophage, son rôle dans l'immunité
11 de Junho — n.º 47 — pg. 463-464 (La Presse Médicale)
- HERELLE (F. d') — Le microbe bactériophage, agent d'immunité dans la peste
et le barbone
3 de Janeiro — t. 172 — pg. 99-100 (C. R. Acad. Sc.)
- 1922**
- HERELLE (F. d') — Sur une cause d'erreur pouvant intervenir dans l'étude
du Bactériophage
22 de Julho — pg. 665-666 (Société de Biologie)
- HERELLE (F. d') — Sur les anti-lysines d'origine bactérienne
18 de Fevereiro — pg. 360-361 (Société de Biologie)
- HERELLE (F. d') — Sur la présence du Bactériophage dans les leucocytes
4 de Março — pg. 477-478 (Société de Biologie)
- HERELLE (F. d') — Sur la prétendue production d'un principe lytique sous
l'influence d'un antagonisme microbien
25 de Março — pg. 663-665 (Société de Biologie)
- HAUDUROY (P.) — Sur les lysines du Bactériophage de d'Herelle
28 de Outubro — pg. 964-965 (Société de Biologie)
- HAUDUROY (P.) — De l'action du sérum anti-dysentérique sur la lyse du Ba-
cille de Shiga par le Bactériophage de d'Herelle
28 de Outubro — pg. 966-967 (Société de Biologie)
- HAUDUROY (P.) — Influence du chauffage sur le Bactériophage de d'Herelle
18 de Novembro — pg. 1089-1090 (Société de Biologie)
- HERELLE (F. d') — The natur of Bacteriophage
19 de Julho — pg. 289-293 (Brit. Med. Journ.)
- 1923**
- HAUDUROY (P.) — Sur la constitution du Bactériophage de d'Herelle
13 de Janeiro — pg. 59-60 (Société de Biologie)
- HERELLE (F. d') — Action du fluorure de sodium sur le Bactériophage
17 de Fevereiro — pg. 407-408 (Société de Biologie)
- HERELLE (F. d') — Sur un "principe bactériolysant", non bactériophage, exis-
tant dans l'intestins des cholériques
24 de Março — pg. 723-724 (Société de Biologie)
- HAUDUROY (P.) — Recherches du Bactériophage de d'Herelle dans différents
milieux
28 de Abril — pg. 1084-1085 (Société de Biologie)
- HERELLE (F. d') — Observations au sujet des expériences concernant le phé-
nomène de bactériaphagie
23 de Junho — pg. 231-233 (Société de Biologie)
- HERELLE (F. d') — Sur la nature du Bactériophage
10 de Novembro — pg. 914-916 (Société de Biologie)
- HAUDUROY (P.) — Le rôle du Bactériophage dans le fièvre typhoïde; sa pré-
sence dans les selles
20 de Outubro — pg. 791-792 (Société de Biologie)
- HAUDUROY (P.) — Le rôle du Bactériophage dans le fièvre typhoïde; sa pré-
sence dans le sang
27 de Outubro — pg. 875-877 (Société de Biologie)
- HAUDUROY (P.) et PEYRE (E.) — Le Bactériophage du Bacille pyocyanique
17 de Março — pg. 688-689 (Société de Biologie)

HERELLE (F. d') — Les défenses de l'organisme — Bibliothèque de Philosophie Scientifique

HAUDUROY et ARSIMOLES — Syndrome dysentérieforme produit par le B. typhique. Guérison par le bactériophage de d'Herelle. 10 de Fevereiro (Progrès Médical)

HERELLE (F. d') — Le bactériophage

5 de Outubro — t. XXIII—pg. 595 - 620 (R. Rathol. comp.)

HAUDUROY — Essai sur les ultra-virus — Paris Médical — 1923

HAUDUROY et ARSINIOLES — Le Progrès Medical, 10 Fevereiro, 1923

1924

HERELLE (F. d') — Sur l'autonomie du Bactériophage

12 de Janeiro — pg. 25 - 27 (Société de Biologie)

HERELLE (F. d') — Sur l'état physique du Bactériophage

12 de Janeiro — pg. 27 - 29 (Société de Biologie)

HAUDUROY (P.) — Sensibilisation d'animaux à certains infections par une vaccination anti-Bactériophage

8 de Fevereiro — pg. 290 (Société de Biologie)

HERELLE (F. d') — Sur la constance des propriétés du Bactériophage

23 de Fevereiro — pg. 481 - 482 (Société de Biologie)

HAUDUROY (P.) — Action de la gélatine sur le phénomène de d'Herelle

31 de Maio — pg. 1463 - 1464 (Société de Biologie)

HERDERSCHEE (D.) y WOLFF (L. K.) — Bacteriophagoterapia de la tifoidea

14 de Junho — (Nederlandsch Tijdschrift v. Geneeskunde, Amsterdam)

1922

JAUMAIN (D.) et MEULEMAN (MLLE. M.) — Absorption du principe lytique par les microbes tués

24 de Junho — pg. 362 - 364 (Société de Biologie)

JAUMAIN (D.) — Autolyse microbienne en tubes scellés

29 de Julho — pg. 790 - 793 (Société de Biologie)

1923

JOELLER (CH.)—Action des rayons ultra-violetes sur une souche de bactériophage
27 de Outubro — pg. 860 - 861 — t. LXXXIX (C. R. S. Biol.)

1919

KLIGLER (I. J.) — Jour. Exper. Med. — t. XXX — pg. 31

1920

KABESHIMA (T.) — Sur un ferment d'immunité bactériolysant du mécanisme d'immunité infectieuse intestinale, de la nature du dit "microbe filtrant bactériophage" de d'Herelle

28 de Fevereiro — pg. 219 - 221 (Société de Biologie)

KABESHIMA (T.) — Sur le ferment d'immunité bactériolysant

17 de Abril — pg. 471 - 473 (Société de Biologie)

KUFFERATH (H.) — Sur la forme et la culture de Bacterium coli et d'autres microbes sur gélose mineralisée lactosée

6 de Novembro — pg. 1408 - 1410 — t. LXXXIII (Pathologie générale)

1921

KUTTNER — Preliminary report on a typhoid bacteriophage

n° 18—pg. 158 - 163 (Proc. Soc. Exper. Biol. & Med., N.Y.)

KUTTNER — On the influence of tissue enzymes on the bacteriophage principle
20 de Abril — pg. 222 - 225 (Proc. Soc. Exper. Biol. and Med., N. Y.)

1922

- KRAUS (R.) e GOMES (J. M.) — Experiencias sobre bacteriophagia
28 de Outubro — pg. 267-270 (Brazil-Medico)
- KRAUS (R.) e MARREY (P.) — Experiencias sobre bacteriophagia
6 de Março — pg. 227-230 (Brazil-Medico)
- KUTTNER - Jour. Bacteriol. — t. VIII — pg. 49-100

1922

- LISBONNE, BOULET et CARRÈRE — Sur l'obtention du principe bactériophage
au moyen d'exsudats leucocytaires, in vitro
18 de Fevereiro — pg. 340-342 (Société de Biologie)
- LISBONNE (M.) et CARRÈRE (L.) — Antagonisme microbien et lyse trans-
missible du Bacille de Shiga
18 de Março — pg. 569-570 (Société de Biologie)
- LISBONNE, BOULET et CARRÈRE (L.) — Sur l'obtention du principe bacté-
riophagique par antagonisme microbien
4 de Novembro — pg. 1011 (Société de Biologie)

1923

- LISBONNE (M.) et CARRÈRE (L.) — Obtention du principe lytique pour le
Bacille de Shiga par culture filtrée de *B. coli*
24 de Março — pg. 724-726 (Société de Biologie)
- LISBONNE (M.) et CARRÈRE (L.) — Influence des électrolytes sur la lyse
microbienne transmissible
27 de Outubro — pg. 865-866 (Société de Biologie)

1924

- LISBONNE (M.) et CARRÈRE (L.) — Sur l'apparition spontanée du pouvoir
lysogène dans les cultures pures. A propos d'une note
de J. Bordet.
2 de Fevereiro — pg. 265-266 (Société de Biologie)
- LEPPER (E. H.) — Reproducción del bacteriofago
Fevereiro (British Journal of Experimental Pathology,
Londres)

1919

- MAYMONE (B.) — Biologival variation of *B. Shigae* observed during an epide-
mic of bacillary dysentery
t. 29 — pg. 653 (Ann. d'ig.)

1920

- METALNIKOW (S.) — *B. dysentérique* et bactériophage de d'Herelle chez les
chenilles de *Galleria mellonella*
8 de Maio — pg. 667-668 (Société de Biologie)

1921

- MARTIN (L.) — Observation à propos de la communication de E. Wollmann
8 de Janeiro — pg. 5 (Société de Biologie)
- MAISIN (J.) — Au sujet de la nature du principe bactériophage
26 de Fevereiro — pg. 467-468 (Société de Biologie)
- MAISIN (J.) — Adaptation du bactériophage
26 de Fevereiro — pg. 468-470 (Société de Biologie)
- MAISIN (J.) — Au sujet du principe bactériophage et des anticorps
26 de Março — pg. 755-756 (Société de Biologie)
- MACHADO e COSTA CRUZ — O bacteriophago
n.º 2 — pg. 347 (Brasil Medico)

1922

- MONTEIRO (J. LEMOS) — Sobre o phenomeno de Twort-d'Herelle. Acção bacteriolítica e acção bacteriophagica
5 de Agosto — pg. 72-74 (Brazil-Medico)
- MONTEIRO (J. LEMOS) — Sobre o phenomeno de d'Herelle. Presença do principio lytico nas culturas, em meio solido, do bacillo anthracis, b. pestis e b. dys. Shiga-Kruse
10 de Junho — pg. 297-301 (Brazil-Medico)
- MAISIN — Les bactériophages
Vol. XXVI — Fasc. III-IV — pg. 3-4 (Archives internationales de Pharmacodynamie et de Thérapie publiées par E. Gley et Heymans).
- MAITLAND — Experiments Employing a Quantitative Method in a Study of the d'Herelle Phenomenon
Pg. 173-178 (Brit. J. of exp. Pathology)
- MAISIN (J.) — Les Bactériophages
Vol. XXVI — Fasc. III-IV — pg. 215-245 (Archives Internationales des Pharmacodynamie et de Thérapie)

1923

- MORALES VILLAZON (N.) — Bactériophage efficace contre le Bacille de la peste
2 de Agosto — pg. 754-756 (Société de Biologie)
- MCKINLEY (E. B.) — El fenomeno de d'Herelle
Dezembro — pg. 141-216 (Journal of Laboratory and Clinical Medicine, St. Louis)
- MCKINLEY (By Earl B.) — Further Notes on d'Herelles phenomenon
Dezembro — pg. 185-193 (The Journal of Laboratory and Clinical Medicine — St. Louis, Mo)
- MCKINLEY (By Earl B.) — Notes on d'Herelle's phenomenon. Adaptation of Bacteriophage antagonistic to bacillus dysenteriae and other bacilli to varions cocci. Development of a polyvalent bacteriolytant
Fevereiro — pg. 311-317 (The Journal of Laboratory and Clinical Medicine — St. Louis, Mo.)

1921

- NECKER (J. DE) — Au sujet de l'action inhibitive du principe bactériophage sur le développement des microbes réceptifs
8 de Outubro — pg. 742-744 (Société de Biologie)

1922

- NECKER (J. DE) — De l'influence de la chaleur sur le principe bactériophage
25 de Março — pg. 736-737 (Société de Biologie)
- NECKER (J. DE) — De l'absorption du principe Bactériophage par les colloïdes
2 de Dezembro — pg. 1247-1251 (Société de Biologie)

1923

- NAKAMURA — Arch. f. Hyg., t, XCII — pg. 61
- NELSON BARBOZA — Acção curativa do bacteriophago estaphylococcico
26 de Maio — (Brasil Medico)
- NAKAMURA (O.) — Das Verhalten von Bakteriophagen in Gelatine
Pg. 86-87 — t. 36 (Wien. Klin. Woch.).

1921

- OTTO e MUNTER — The d'Herelle Phänomen
n.º 47 - pg. 1579-1581 (Deutsche med. Woch. Berl.)
- OLSEN e YASAKI — Klin. Wochenschr. t. 2, pg. 1879 - Outubro

1922

OTTO (R.) et WINKLER (W. F.) — Ueber die Natur des d'Herelle'schen Bakteriophagen
24 de Março — pg. 383-384 (Deutsche Mediz. Woch.)

1923

OKUDA (S.) — Ueber Pyozyaneusbakteriophagen

Pg. 125-128 (Wien. Klin. Woch.)

OPPENHEIMER — O fenomeno de d'Herelle, n.º 2, Maio-Abril, 1923, Anno III, pg 17

1920

PUNTONI — Ann. d'Ig. Roma, n.º 30 — pg. 643

PUNTONI — El bacteriófago

Annali d'Igiene, Roma, n.º 30 — pg. 10

POZERSKI (E.) — Action de la papaine sur le Bacterium coli

29 de Maio — pg. 751-t. LXXXIII (Pathologie générale)

1921

POORTER and MAISIN — Contribution a l'étude de la nature du principe bactériophage

n.º 25 — pg. 473-484 (Arch. internat. de pharmacod.)

1922

PICO (C. E.) — Précédents historiques sur la lyse microbienne transmissible

1 de Junho — pg. 685-686 (Société de Biologie)

PICO (C. E.) — Le principe lytique est-il contenu dans les Bactéries?

1 de Junho — pg. 687-688 (Société de Biologie)

PICO (C. E.) — A propos de la note de Combiesco sur le phénomène de d'Herelle

20 de Julho — pg. 826-828 (Société de Biologie)

PICO (C. E.) — Autolyse transmissible du Bacillus anthracis sans intervention de l'hypothétique virus bactériophage

3 de Agosto — pg. 836-837 (Société de Biologie)

PICO (C. E.) — Sur la nature du principe bactériophage de Twort-d'Herelle

6 de Abril — pg. 1106-1108 (Société de Biologie)

PICO (C. E.) — Bacteriofagia

27 de Abril — n.º 17 — (Semana Medica, Buenos Aires)

PICO (C. E.) — Naturaleza de la Bacteriologia

n.º 35 — pg. 207-210 (Revista de la Assoc. Med. Argentina, Buenos Aires)

PICO (C. E.) — Bacteriologia

16 de Março — n.º 11 (Semana Medica, Buenos Aires)

PICO (C. E.) — Historia de la bacteriologia

Agosto — n.º 35 — pg. 213-214 (Revista de la Asoc. Médica Argentina, Buenos Aires)

PICO (C. E.) — El fenomeno de d'Herelle

Outubro — n.º 35 — pg. 216 (Revista de la Asoc. Médica Argentina, Buenos Aires)

PICO (C. E.) — Bacteriologia sin bacteriófago

Novembro — n.º 35 — pg. 739-869 (Revista de la Asoc. Méd. Argentina, Buenos Aires)

PHILIBERT — Le principe bactériophage (Phénomène de d'Herelle)

(Collection de travaux de la Société de Pathology comparée)

PHILIBERT-HAUDUROY et CORDEY — Les applications thérapeutiques du bactériophage de d'Herelle

Dezembro (Soc. Path. Comparée)

- PRAUSNITZ — Ueber die Natur des d'Herelleschen Phänomen
12 de Agosto — pg. 1639 (Klin. Woch.)
- PICO (C. E.) — Sobre la naturaleza del principio bacteriofago de Twort-d'Herelle
Pg. 415-420 (Semana Med. Buenos Ayres)
- 1923**
- PROCA (G.) — Sur la lysine des Bactéries lysogènes
9 de Janeiro, 1 e 15 de Fevereiro — pg. 909-910 (Société
de Biologie)
- PONS (R.) — Bactériophage du pyocyanique
9 de Junho — pg. 77-78 (Société de Biologie)
- PROCA (G.) — Particularité de la lysine du B. coli
4 e 19 de Junho — 274-275 (Société de Biologie)
- PROCA (G.) — Sur les extraits des cultures lysogènes
3 de Maio, 21 de Junho, 5 de Julho — pg. 631-632 (So-
ciété de Biologie)
- PICO (C. E.) — Action déchaînant de la pancréatine sur l'autolyse microbienne
transmissible
2 de Agosto — pg. 753-754 (Société de Biologie)
- PEYRE — Le Bactériophage —
3 de Fevereiro — pg. 53 — n.º 5 (Le Progres Médical)
- PUTTER (E.) and VALLEN (S.) — Zur Natur des d'Herelle'schen Phänomens
Pg. 339 (Klin. Woch.)
- 1924**
- PICO (C. E.) — Action déchaînant de la pancréatine dans l'autolyse microbienne
transmissible
3 de Abril — pg. 31-32 (Société de Biologie)
- PETROVANN (G.) — Sur la présence du principe lytique dans le exsudat amyg-
dalien de diverses angines
3 de Abril — pg. 502-503 (Société de Biologie)
- PAUL HAUDUROY — Le Bactériophage de d'Herelle, pg. 449. Revue pratique
des maladies des pays chauds, 1924, Fevereiro.
et Egypte Médico — chirurgicale
- 1923**
- QUIROCA (R.) — Bactériophage du Bacille pyocyanique
2 de Outubro — pg. 363 (Société de Biologie)
- 1921**
- RIMPAU — Das d'Herellesche Phänomen, n.º 68 — pg. 1649 (München, med.
Woch.)
- 1922**
- RHODES BERNICE — The Phenomenon of Bacteriophage
n.º 7 — pg. 288-292 (J. Lab. & Clin., St. Louis)
- 1923**
- RIGOBELLO — Il Batteriofago.
- 1920**
- SALIMBENI — Sur le Bactériophage de d'Herelle
11 de Dezembro — pg. 1545-1548 (Société de Biologie)
- SALIMBENI et PETTIT — Sur la nature du bactériophage de d'Herelle
13 de Dezembro—t. 171—pg. 1240-1242 (C. R. Acad. Sc.)
- 1922**
- SALDANHA (A.) — Phénomène de d'Herelle
4 de Março — pg. 623-624 (Société de Biologie)

1923

- STETTINER — El fenomeno de d'Herelle es de importancia para la cirugía
Pg. 89 - Anno IV - (Revista Medica de Hamburgo)
- SARDJIT — Thèse pour le Doctorat en Médecine Leyde, 1923

1915

- TWORT — An investigation on the nature of ultra-microscopic viruses
n.º 2 — pg. 1241 (Lancet, Lond)

1920

- TWORT — Researches on dysentery
n.º 1 — pg. 237 - 243 (Brit. J. Exper. Path., Lond.)

1921

- THEVENOT — Le bacille bactériophage de d'Herelle
5 de Março (Journal de Médecine de Lyon)

1922

- TCHANG-KOUS-NGEN (J.) et WAGEMANS (J.) — Résistance des Bactériophages à la chaleur
2 de Dezembro — pg. 1253 - 1255 (Société de Biologie)
- TWORT — The bactériophage
19 de Julho — pg. 293 - 296 (Brit. Med. Jour.)

1923

- TCHANG-KOUS-NGEN (J.) et WAGEMANS (J.) — Résistance des Bactériophages à la chaleur
27 de Janeiro — pg. 303 - 304 (Société de Biologie)

1920

- WOLLMANN (E.) — A propos de la note de Mm. Bordet et Ciuca (Phénomène de d'Herelle, autolyse microbienne transmissible de J. Bordet et M. Ciuca, et hypothèse de la pangénèse de Darwin)
27 de Novembro — pg. 1478 - 1479 (Société de Biologie)

1921

- WOLLMANN (E.) — Sur le phénomène de d'Herelle
8 de Janeiro — pg. 3 - 5 (Société de Biologie)
- WOLLMANN (E.) et GOLDENBERG (L.) — Le phénomène de d'Herelle et la réaction de fixation
29 de Outubro — pg. 772 - 774 (Société de Biologie)

- WOLLSTEIN — Studies on the phenomenon of d'Herelle with B. dysenteriae.
Novembro, n.º 34 — pg. 467 - 476 (J. Exper. M. Balt.)

- WATANABE — Desinfektionsversuche mit Bacteriophagen
pg. 522 - 523 (Wien. Klin. Woch)

- WOLLSTEIN—Studies on the phenomenon of d'Herelle with Bacillus dysenteriae t. XXXIV (Journ. of exp. Med.)

1922

- WEINBERG (M.) et AZNAR (P.) — Quelques faits nouveaux sur les autobactériolysines
17 de Junho — pg. 136 - 138 (Société de Biologie)

- WEINBERG (M.) et AZNAR (P.) — Autobactériolysines et le phénomène de d'Herelle
29 de Abril — pg. 833 - 834 (Société de Biologie)

- WOLFF (L. K.) et JANZEN (J. W.) — Action de divers antiseptiques sur le Bactériophage de d'Herelle
18 de Novembro — pg. 1087 - 1088 (Société de Biologie)

- WAGEMANS (J.) — Au sujet de la constitution du Bactériophage
2 de Dezembro — pg. 1244 - 1247 (Société de Biologie)

- WATANABE — Ueber die Natur des bakteriophagen Virus
n.º 35 — pg. 53 (Wien. Klin., Woch.)
- WATANABE — Ueber die Wirkung von Staphylokokkenbakteriophagen
Pg. 603-604 (Wien. Klin. Woch)
- WERTHEMANN (A.) — Das Verhalten der übertragbaren lysine (Bakteriophagen)
in der Zirkulation von Kalt und Warmblütern
8 de Novembro — pg. 255-256 (Arch. f. Hygiene)
- WOLFF et JANZEN — Studies on the Bacteriophagus of d'Herelle
25 de Fevereiro—pg. 31 (Proc. Konink. Akad. Amsterdam)
- WOLFF et JANZEN — Studies on the Bacteriophagus of d'Herelle
25 de Março—pg. 87-89 (Proc. Konink. Akad. Amsterdam)
- WOLFF et JANZEN — Studies on the Bacteriophagus of d'Herelle
27 de Maio—pg. 171-174 (Proc. Konink. Akad. Amsterdam)
- WOLFF et JANZEN — Over den Typhus bacteriophaga
n.º 37 (Nederl. Tijdschrift warr genees-Kunde)

1923

- WAGEMANS (J.) — La neutralisation des Bactériophages
27 de Janeiro — pg. 304-305 (Société de Biologie)
- WOLFF et JANZEN — Sur le virulence multiple du bactériophage
Pg. 1064 (Annales de l'Institut Pasteur)

1924

- WOLLMANN (E.) — Recherches sur le phénomène de d'Herelle. Action de la
trypsine sur le Bactériophage du Bacille de Shiga
19 de Janeiro — pg. 59-60 (Société de Biologie)

1921

- ZOELLER (Chr.) — Bacille de Shiga auto-agglutinable
15 de Janeiro — pg. 87-88 (Société de Biologie)

1923

- ZOELLER (Chr.) — Action des rayons ultra-violetes sur une souche de Bacté-
riophage
27 de Outubro — pg. 860-861 (Société de Biologie)

1924

- ZOELLER (Chr.) et MANOUSSAKIS — Kérato-conjonctivite expérimentale a
Bacille pyocyanique. De l'action d'un Bactériophage anti-
pyocyanique
19 de Julho — pg. 548-549 (Société de Biologie)

INDICE

	Paginas
Notulas prévias	3
Cap. I — Reminiscencia historia da descoberta do pheno- meno bacteriophagico	9
Cap. II — Bacteriophagotechnica	15
Cap. III — Pontos capitaes das propriedades do bacterio- phago	27
Cap. IV — Hypotheses emittidas sobre a natureza do bacteriophago	41
Cap. V — Funcção do principio lytico na immunidad adquirida e na immunização	53
Cap. VI — Bacteriophago de d'Herelle e as infecções uri- narias colibacillares	67
Cap. VII — Diagnostico etiologico do syndome dysen- teriforme em Porto Alegre, com especial referencia aos doentes recolhidos ao Hospicio São Pedro.....	93
Cap. VIII — Reflexões terminaes	165
Bibliographia	171