Dr. José Forster Camboim

Ex-interno da 14.ª enfermaria

O Bacteriophago anti-estaphylococcico

Cadeira de Microbiologia

Trabalho executado no Instituto Pereira Filho

THESE DE DOUTORAMENTO

APPROVADA COM DISTINCÇÃO

1929

BIBLIOTECA DA FACULDADE DE MEDICINA DE PORTO ALEGRE

C 1764

FACULDADE DE MEDICINA DE PORTO ALEGRE

THESE

apresentada á
FACULDADE DE MEDICINA DE PORTO ALEGRE
em 30 de Novembro de 1929
e defendida a 17 de Dezembro do mesmo anno
por

JOSÉ FORSTER CAMBOIM

filho legitimo de Herodiano A. Camboim e de D. Gabriella Forster Camboim e nascido no Estado do Rio Grande do Sul a 19 de Novembro de 1904

O BACTERIOPHAGO ANTI-ESTAPHYLOCOCCICO

Cadeira de Microbiologia

APPROVADA COM DISTINCÇÃO

1929

TYP. THURMANN — PORTO ALEGRE

A DA FACULDADE DE MEDICINA DE

Bib.Fac.Med.UFRGS
T-0196
O bateriofago anti-estafilococ

Faculdade de Medicina de Porto Alegre

Prof. **Sarmento Leite**, Director.

Prof. **Serapião Mariante**, Vice-director.

Prof. **Sarmento Leite Filho**, Secretario.

CADEIRAS	PROFESSORES
Physica	Ney Cabral
Chimica geral e mineral	Christiano Fischer
Chimica organica e biologica	
Biologia geral e parasitologia	Sarmento Barata
Anatomia humana, 1.ª parte	Moysés Menezes
Anatomia humana, 2.ª parte	Sarmento Leite
Histologia	Marques Pereira
Physiologia, 1.ª e 2.ª partes	Raul Pilla
Microbiologia	Pereira Filho
Pathologia geral	Walter Castilho
Anatomia e physiologia pathologicas	Gonçalves Vianna
Pharmacologia e arte de formular	Argymiro Galvão
Pathologia cirurgica	Ervino Presser (interino)
Clinica dermatologica e syphiligraphica	Ulysses de Nonohay
Clinica ophtalmologica	Diogo Ferraz (interino)
Clinica-rhino-laryngologica	
Clinica medica	Annes Dias (interino) Aurelio Py Octavio de Souza
Anatomia medico-cirurgica e operações	Octacilio Rosa
Therapeutica	Paula Esteves
Clinica cirurgica	Guerra Blessmann Frederico Falk
Pathologia medica, 1.ª parte	Thomaz Mariante (interino)
Pathologia medica, 2.ª parte	Sarmento Leite Filho (subst.)
Clinica pediatrica medica e hygiene infantil	Raul Moreira (substituto)
Clinica pediatrica cirurgica e orthopedia	Nogueira Flôres
Hygiene	Freitas e Castro
Medicina legal	Annes Dias
Clinica obstetrica	Mario Totta (interino)
Clinica gynecologica	E. Paglioli (interino)
Clinica neurologica	Fabio de Barros
Clinica psychiatrica	Luiz Guedes
Medicina tropical	Basil Sefton
Zoologia geral e parasitologia	Oscar Pereira (interino)
Pharmacia galenica	Carlos Leite (interino)
Chimica analytica	Cunha Louzada
Pharmacogonosia	Waldemar Castro (interino)

C 176

Curso de Odontologia

Prothese ..... Cirne Lima

Professores substitutos

Sarmento Leite Filho — Nona secção (Pathologia medica e clinica medica)
Carlos Leite — Decima quinta secção (Clinica dermatologica e syphiligraphica)
Raul Moreira — Decima sexta secção (Clinica pediatrica medica e cirurgica)

Docentes-livres

Dr. Raul di Primio — Biologia geral e parasitologia
Dr. Oscar Bernardo Pereira — Microbiologia
Dr. Ervino João Carlos Presser — Medicina operatoria
Dr. Elyseu Paglioli — Clinica obstetrica
Dr. Florencio Ygartúa — Clinica pediatrica medica e hygiene infantil
Dr. Raul Jobim Bittencourt — Clinica psychiatrica
Dr. Ayres Maciel — Hygiene

Reg. 17043

Professores em disponibilidade

Mario Pinheiro de Castro Bittencourt — Substituto
Alvaro Fróes da Fonseca — Cathedratico

Professores jubilados

Francisco de Carvalho Freitas — Pharmacologia
João Dias Campos — Therapeutica
Francisco Freire de Figueiredo — Clinica ophtalmologica
Manoel Velho Py — Hygiene.

Professores honorarios

Carlos Barbosa Gonçalves
Olympio Olintho de Oliveira
Protasio Antonio Alves

Professores licenciados

Alberto de Souza — Pathologia medica
Manoel Gonçalves Carneiro—Clinica pediatrica medica e hygiene infantil
Serapião Mariante — Clinica gynecologica.
Martim Gomes — Clinica obstetrica

NOTA — A Faculdade não approva nem reprova as opiniões emittidas nas theses por seus autores.

249

— *A MEUS PAES*

o meu primeiro trabalho.

— *A MEU IRMÃO.*

— Ao bom amigo Professor Dr. NEY CABRAL.

— *Ao Professor Dr. PEREIRA FILHO*
a minha amizade e gratidão.

— *Ao Professor Dr. FABIO DE BARROS*
sincera homenagem.

Ao Dr. IVO BARBEDO, a cuja bôa vontade tanto devo.

— *A meus collegas.*

— *A PEDRO ROSA, meu collega, amigo e companheiro de todos os instantes.*

— Ao collega e bom amigo
José Baptista Barros Hofmeister.

— *Ao collega DYONELIO T. MACHADO*
com admiração e amizade.

INTRODUCÇÃO

Relativamente ás molestias infecciosas, ao lado da therapeutica pela introducção de antisepticos no organismo atacado, existe outra, que tem por base as reacções de defesa do mesmo.

Não passára despercebido o facto de emprestarem certas molestias ás pessoas dellas attingidas uma resistencia particular a contagios ulteriores, e a variolisação, praticada desde tempos immemoriaes na China e na Persia, já era uma tentativa de vaccinação. Pasteur, mostrando que se podia immunisar animaes por meio de virus incapazes, mercê da attenuação, de produzir perturbações graves, concorreu, de modo decisivo, para a generalisação do methodo. Assim surgiu vaccinação, a que se seguiu, a breve prazo, a vaccitherapia.

Ttransportando para o organismo o serum de um

animal vaccinado, criou-se a serotherapia, methodo sobretudo curativo, porque dispensa ao receptor todo o esforço, e cujo ponto de partida foram os trabalhos de Richet e Héricourt sobre o serum dos cães vaccinados contra o bacillo pyocyanico e os de Behring e Kitasato a respeito do serum dos animaes immunisados contra as toxinas diphterica e tetanica.

O organismo póde ainda ser protegido pela concorrencia vital entre as especies microbianas, facto este que constitue a base da bacteriotherapia.

A Toxinotherapia, que se originou da observação do phenomeno do mithridatismo, consiste em injectar toxinas em dóses progressivas com o fim de provocar a formação de anti-corpos correspondentes.

E', em summa, uma vaccinação contra toxinas.

Ha pouco, mostrou Ramon que, fazendo agir o aldehydo formico sobre a toxina diphterica e deixando-a envelhecer á estufa, a 40 graus, consegue-se tornal-a inoffensiva para o homem sem destruir seu poder antigenico, motivo por que póde ser empregada como vaccina. As tentativas **in anima nobile** são de molde a fazer entrar na pratica corrente a vaccinação anti-diphterica pela anatoxina, sendo de notar, porém, que no lactente, segundo Ribadeau—Dumas, Loiseau e Lacomme, a injecção de anatoxina diphterica é inefficaz.

Descombey obteve uma anatoxina tetanica, que, embora absolutamente innocua, possue propriedades immunisantes consideraveis. Ha um anno, pouco mais ou menos, tentou-se applicar ao homem a anatoxina tetanica, e, a respeito, assim se exprime Ramon: "A anatoxina parece desde já indicada no começo de uma

campanha para immunisar, solidamente e durante toda a duração dessa campanha, todos os combatentes. Evitar-se-lhes-á desse modo não sómente o tetano, mas tambem as injecções repetidas de serum."

Fundado em recentes pesquizas, Besredka emittiu, ha pouco, a proposito da immunidade anti-microbiana, uma nova theoria: a da **immunisação local.** O agente pathogenico de certas molestias infecciosas ataca preferentemente determinadas cellulas, **cellulas receptivas,** para as quaes possue um tropismo positivo, ex.: a mucosa intestinal para os bacillos dysenterico, typhico e vibrião cholerico". Se todo o virus tem sua cellula, tota a cellula tem sua immunidade" e "á infecção local corresponde uma immunidade tecidular local", cujo apparecimento se póde determinar pondo em contacto com a lesão uma vaccina apropriada. "Qualquer que seja a séde das cellulas attingidas, diz Besredka, quer se trate de furunculos, de abcessos osteomyeliticos, de phlegmões, de lymphangites, de fistulas pleuraes, de molestias oculares, de febres puerperaes, o modo de acção das culturas fitradas é o mesmo. applicadas, sob a forma de pensos, sobre os tecidos infectados, ellas provocam um affluxo de leucocytos, trazem a desapparição dos agentes pathogenicos, facilitam a eliminação dos detritos cellulares e, vaccinando as cellulas visinhas sãs, circumscrevem o foco".

A esses diversos meios therapeuticos, fundados todos elles nas reacções do organismo á acção dos agentes pathogenicos e seus productos, veiu juntar-se recentemente a phagotherapia de d'Herelle, que tem sido empregada, com feliz exito, no tratamento das af-

fecções typhicas, paratyphicas, colibacillares e estaphyloccicas.

Uma contribuição ao estudo do emprego do bacteriophago**in situ** nas affecções estaphylococcicas locaes, eis o em que consiste o nosso trabalho. A raridade dos casos de que pudemos dispor explica o diminuto numero de nossas observações. Por falta de opportunidade deixamos, tambem, de experimentar, como era nosso intento, a acção da autohemotherapia sobre o poder antibacteriophago do serum dos portadores de affecções estaphylococcicas chronicas, ponto para o qual chamaram a nossa attenção os Professores Pereira Filho e d'Herelle, aquelle em palestra comnosco mantida em principios deste anno, este em carta que adeante transcrevemos.

Não devemos encerrar esta breve introducção, sem tornar publico o nosso agradecimento ao Professor Pereira Filho, pela solicitude com que, não apenas ministrou conselhos e suggestões, mas veiu amparando este modesto trabalho, até sua final realisação, com uma assistencia verdadeiramente scientifica, a que não faltou jamais o concurso do seu Instituto modelar.

E'-nos tambem particularmente grato constatar a presteza com que o illustre Professor Felix d'Hrelle, subtraindo-se por um momento á sua actividade multiforme, attendeu á nossa solicitação, proporcionando-nos dados inestimaveis.

Data venia, inserimos desvanecido a carta do emi-

nente Professor d'Herelle, e á que fizemos referencia linhas atraz.

E' a seguinte:

Paris 9 Septembre 1929

Cher Monsieur,

Votre lettre m'est parvenue aprés bien des pérégrinations: elle á été renvoyée d'Egypte aux Etats-Unis, puis de lá en France ou je suis venu pendant les vacances. Cela vous explique la cause de mon retard a vous répondre.

Vous trouverez dans mon livre "Le Bactériophage et son Comportement" la bibliographie de ce qui a été publié sur le traitement des Staphylococcies par le Bactériophage avant 1926.

Je ne puis vous donner la bibliographie compléte de ce qui a été publié depuis, voici pourtant une liste qui, quoiqu'incompléte, pourra vous cendre service.

Larkum, J. State Med. Soc. 1928, t. 27, p. 106.

Rice, J. Lab. & Clin. Med. 1928, t. 14, p. 1.

Gosset et Raiga, Bulletin et Mémoires de la Société Nationale de Chirurgie 1929, t, 4, n.° 14.

Raiga, Presse Médicale, 9 Février 1929.

Raiga, Progrés Médical, 10 Mars 1929.

Bizard, Merceron et Rosenthal, Soc. Française de Dermatologie Séance du 15 novembre 1928.

Gougerot et Peyre, Bull. de la Soc. Française de Dermat. et de Syphiligraphie, 9 Décembre 1928.

Blum et Peyre, Bull. de la Soc. Franç. de Dermat. & Syphiligrphie, 2 Février 1929.

Larkum, J. of indectious Diseases, 1929, t. 45. p. 34.

F. d'Herelle, The Bactériophage and its Therapeutic applications, Thomas, publisher, 1929 (sous presse).

J'attire votre attention sur un point particulier et sur lequel tres peu de chose a été publié jusqu'a présent; vous verrez seulement dans les Mémoires de Raiga que cet auteur y fait allusion et il doit prochainement publier un Mémoire spécial sur le sujet: je veux parler de la propriété antibactériophage qui existe chez presque tous les malades atteints d'affections **chroniques.** Cette propriété du sérum est spécifique, c'est a dire que dans les staphylococcies chroniques, le sérum du sang du malade posséde la propriété d'empécher, in vitro et certainement in vivo, l'action du bactériophage sur le staphylocoque; dans les affections chroniques causées par B. coli, l'action anti-bactériophage ne se manifeste que vis a vis de B. coli, etc. Raiga a trouvé que l'on pouvait, sinon détruire totalement ce pouvoir anti-bactériophage du sang, du moins l'atténuer dans une tres forte mesure, suffisament pour permettre l'action thérapeutique du bactériophage dans ces cas chroniques, par la pratique de l'autohémothérapie (Dans la pratique, cinq a six injections a 48 heures d'intervalle, en prélevant chaque fois 10 cc. de sang dans une veine du malade, que l'on réinjecte de suite dans le muscle de la fesse).

J'attire votre attention sur ce point encore peu étu-

dié, vous pourriez apporter votre contribution et rendre ainsi votre thése plus intéressant et originale.

Reçevez, cher Monsieur, l'expression de mes dévoués sentiments.

F. d'Herelle.

Dr. F. d'Herelle,

Professeur de Protobiologie,

Yale University School of Medecine.

CAPITULO I

CONSIDERAÇõES GERAES

CONSIDERAÇÕES GERAES

Durante seus estudos sobre uma mortifera epizootia dos gafanhotos, de origem bacteriana, que já havia observado no Mexico e cujos symptomas eram os de uma septicemia com diarrhéa profusa e outras perturbações intestinaes, pensou d'Herelle em empregal-a como meio de destruição desses insectos, propagando-a aos "saltões". Afim de conseguir as culturas necessarias, semeou grandes quantidades de caldo com o agente pathogenico da mesma, o *coccobacillus acridiorum d'Herelle,* que se encontra abundantemente nas dejecções dos insectos atacados.

Nas colonias obtidas notou, diversas vezes, óra entalhes, óra manchas virgens. Attribuiu taes irregularidades, primeiro, a um microbio invisivel, que devia, na sua opinião, ser o verdadeiro agente pathogenico. Como, entretanto, o filtrado, á parte algumas excepções, não fosse, de per si, virulento para o gafanhoto, concluiu ser necessaria a presença dos dois virus, o visivel e o invisivel, para produzir a molestia. E, querendo saber se essa hypothese era verdadeira para certas molestias humanas: dysenteria, febre typhoide, filtrou, em velas Chamberland, emulsões de fezes de dysentericos e typhicos, e inocu-

lou uma parte dellas em animaes de laboratorio, para reproduzir nelles a molestia humana, emquanto misturava a outra a bacterias jovens, em gelose, na esperança de vêr repetirem-se as anomalias observadas nas colonias do *coccobacillus acridiorum*.

Os resultados foram inconstantes. Dando-se, porém, conta de que as irregularidades surgiam sómente quando os germes empregados para obtenção das culturas provinham de convalescentes, resolveu examinar, desde o inicio da molestia até a convalescença, as fezes de um doente.

A opportunidade offereceu-se em Agosto de 1916, quando entrou para o Hospital Pasteur um portador de dysenteria devida ao bacillo de Shiga. Diariamente introduzia d'Herelle em um tubo de caldo dez gottas das dejecções desse doente. Após manter a mistura na estufa, a 37 gráos, durante uma noite, filtrava-a em vela Chamberland e tomava-lhe dez gottas que addicionava a caldo previamente semeado com bacillos de Shiga. As culturas desenvolviam-se normalmente.

Um dia, porém, o caldo permaneceu esteril e isso coincidiu com acceutuadas melhoras do paciente, que, breve, entrou em franca convalescença. A esse caldo, em apparencia esteril, juntou d'Herelle uma emulsão de bacillos de Shiga, provenientes de cultura joven em gelose, de maneira a determinar franca turvação. Ao fim de dez horas na estufa, a mistura tornou-se limpida. As dejecções que tinham servido para preparar o filtrado encerravam, pois, um principio capaz de dissolver o bacillo dysenterico.

Uma gotta da cultura lysada provocou, após quinze horas, a lyse de uma cultura joven do mesmo bacillo em caldo. D'Herelle effectuou varias passagens successivas, introduzindo,

sempre, na cultura nova, uma gotta da precedentemente lysada. A acção, longe de se attenuar, tornava-se mais poderosa a cada passagem e a lyse era cada vez mais rapida. Desses factos concluiu d'Herelle que o principio existente nas fezes se multiplicava ás expensas do bacillo de Shiga e se comportava como um microbio filtravel, parasito das bacterias.

Para reproduzir, em meios solidos, as irregularidades mencionadas, addicionou o mesmo autor á uma cultura joven do mesmo bacillo em caldo um centesimo millesimo de uma das culturas lysadas e distendeu, em seguida, e após uma, duas e tres horas na estufa, uma gotta da mistura em tubos de gelose inclinada. Eis os resultados, finda a incubação:

No primeiro tubo, a superficie da gelose apresentava uma camada normal de microbios, notando-se, porém, no centro, duas ilhotas perfeitamente circulares, duas "plagas", como as chamou d'Herelle, em que a gelose era esteril; no segundo, havia seis plagas; no terceiro, uma centena dellas; no quarto, finalmente, não se percebia traço de cultura.

Era outra prova, diz d'Herelle, de que o principio lytico se reproduzia no decorrer da acção e estava condensado sob a forma de particulas activas. A esse principio deu d'Herelle o nome de Bacteriophago, e ao phenomeno que elle provoca, quer dizer, a dissolução das bacterias, o de Bacteriophagia.

Da communicação "Sobre um microbio invisivel antagonista dos bacillos dysentericos", que o mesmo autor, por intermedio de Roux, apresentou á Academia de Sciencias de Paris, na sessão de 3 de Setembro de 1927, constam as seguintes affirmações:

Os principios lysantes do bacillo Shiga-Kruse por elle isolados, após algumas passagens com os paradysentericos

typo Hiss ou Flexner, tornaram-se activos contra esses germes;

não encontrou principio lysante nas fezes dos individuos sãos nem nas dos dysentericos, durante o periodo de estagio da molestia;

Na dysenteria bacillar, ao lado da immunidade proveniente do organismo attingido, existe outra, que é devida ao bacteriophago;

os bacillos mortos pelo calor não são atacados;

o principio lysante possue a propriedade de immunizar o coelho contra bacillos "Shiga-Kruse";

factos analogos foram por elle observados em dois casos de febres paratyphoides, o que o levou a suppôr não ser privativo do bacteriophago antidysenterico o poder de immunizar contra o microbio correspondente.

PESQUISA DO BACTERIOPHAGO

Technica de d'Herelle

De inicio, submette-se o producto em que se quer fazer a pesquisa a um tratamento variavel com a sua natureza;

se se trata de um liquido esteril, isto é, privado de germes e dos virus conhecidos, é desnecessario todo e qualquer tratamento;

se o que se tem é um liquido limpido não esteril: filtração em vela;

liquido homogeneamente turvo: filtração em papel com terra de infusorios e depois em vela;

materia mais ou menos solida ou liquido que possue em suspensão particulas organicas: é mistér emulsionar, na quantidade de 2 a 5 grammas, em 50 centimetros cubicos de caldo, depois manter na estufa, á temperatura de 37 gráos, durante 12 a 18 horas, e, por fim, filtrar em papel com terra de infusorios e em vela.

Obter-se-á, desse modo, um filtrado claro, que, semeado em qualquer meio que seja, não dará cultura visivel.

Por outro lado, semeiam-se, em quatro tubos de caldo peptonado, exemplares do germe a lysar, provenientes de cultura em gelose inclinada, que date de 24 horas. No primeiro tubo depõe-se uma gotta do filtrado; no segundo, dez, e no terceiro, dois centimetros cubicos. O quarto serve de testemunha. Depois de mantel-os na estufa, á temperatura de 37 gráos, por espaço de 12 a 18 horas, eis o que se póde observar:

1.º *caso* — O tubo testemunha é turvo, os que contêm o filtrado, são claros: tem-se um principio lysante muito activo;

2.*o caso.* — O tubo testemunha é turvo, os outros tres tambem o são, mas em gráo muito menor: o principio é medianamente activo;

3.*o caso.* — Os quatro tubos são igualmente turvos. Para saber se, nesse caso, o filtrado contem principio lysante, d'Herelle aconselha tirar de cada um dos tres tubos contendo filtrado, por meio de uma alça de platina, 1/50 de centimetro cubico e distendel-os na superficio de tres tubos de gelose inclinada. Se, após incubação, todos apresentam uma cultura normal do germe semeado, a pesquisa é negativa. O filtrado

que contem principio lysante, dá logar a irregularidades na camada bacillar: plagas, colonias recortadas...

Technica de Hauduroy

Emulsiona-se em caldo ordinario a substancia que se suppõe portadora do bacteriophago. Depois de mantel-a na estufa, a 37 gráos durante 18 horas, filtra-se a emulsão em papel com terra de infusorios e em vela Chamberland. A seguir, semeiam-se, em quatro tubos de caldo ou agua peptonada, exemplares do microbio a lysar, provenientes de cultura em caldo e datando de 24 horas no maximo. Um dos tubos servirá de testemunha, os outros receberão, respectivamente, uma gotta, um centimetro cubico, dois centimetros cubicos do filtrado. Submettem-se os quatro á temperatura de 20 gráos. Após 12, 24 ou 36 horas, no momento em que os tubos testemunhas estiverem nitidamente turvos, lêm-se os resultados. Tres casos podem se apresentar:

1.º — Os tubos a que se addicionou o filtrado, são claros: o principio lytico é muito activo;

2.º — São turvos, menos, todavia, do que os testemunhas: o principio é dotado de fraca actividade;

3.º — Todos os tubos são igualmente turvos. Neste caso recorrer-se-á á:

Technica da exaltação da virulencia de um bacteriophago

Filtra-se a mistura turva bacterias-filtrado e addiciona-se o liquido obtido, na dóse de um a dois centimetros cubicos, a uma série de tubos previamente semeiados com uma cultura

joven do microbio a lysar, á razão de uma gotta para cada um, excepto o que deve servir de testemunha. Se não se verificar a lyse, dever-se-á repetir a operação 3, 4, 8 vezes. Depois disso, se os resultados continuarem negativos, será licito concluir que: ou não existe bacteriophago no producto examinado, ou a bacteria que se deseja lysar é resistente. Na mór parte das vezes, o bacteriophago que se não pôde revelar na primeira passagem, exerce sua acção na segunda ou terceira.

PROPRIEDADES DO BACTERIOPHAGO

Filtrabilidade: O bacteriophago atravessa as velas de porcelana, mesmo as mais finas, os saccos de collodio e as membranas de Haen.

Segundo Prausnitz, mede 200 micra de diametro.

Acção do calor: Varia para cada fonte. A temperatura de cessação da actividade de uma fonte está em relação com o seu poder: quanto mais activa fôr (a actividade mede-se pela rapidez da lyse de uma emulsão dada e do apparecimento de culturas secundarias, e pelas titulações em gelose), quanto mais activa fôr, dizia, mais elevada será a temperatura em que deixará de lysar. A temperatura em que cessa a actividade de uma fonte independe da em que morre o microbio lysavel. A temperatura mortal para o bacteriophago em meio humido corresponde a 102 gráos, mais ou menos; em meio secco, a 135 gráos, approximadamente. O calor possue tambem a propriedade de inactivar o bacteriophago. Depois de aquecel-o até não mais poder lysar culturas em caldo nem dar

plagas em gelose, se o collocarmos em presença de microbios lysaveis e realizarmos diversas passagens separadas por filtrações, veremos, após certo numero dellas, variavel com a fonte de que provem o bacteriophago empregado, reapparecer-lhe o poder lysante tão forte como antes.

Acção do tempo: E' commum conservar-se um bacteriophago activo durante muitos annos (7 ou 8).

O bacteriophago é rapidamente destruido pelos raios ultra-violetas, segundo Appelmans; não o é pelas emanações de radio, conforme experiencias de Brutsaert.

Acção do fluorureto de sodio: Os bacteriophago conserva-se activo, durante muito tempo, em uma solução desse sal a 1 p. 100, como demonstrou d'Herelle.

Acção da glycerina: Mata o bacteriophago quando em saturação; não o fazendo, porém, quando a 50 p. 100.

Influencia do PH do meio: A alcalinidade, até PH 8,5, favorece o phenomeno lytico; PH 2,5 impede-o. Em summa, a acidez, como a alcalinidade forte, impossibilita a lyse.

Acção do quinino: Segundo Eliava e Pozerski, os sáes neutros de quinino em solução a 3 p. 100, matam o bacteriophago em 30 minutos; em solução a 1 p. 100, ao fim de algumas horas.

Acção dos antisepticos: E' variavel. Ora o bacteriophago é destruido, ora continúa a exercer sua actividade, e, muitas vezes, adapta-se a concentrações primitivamente toxicas.

Wolf e Janzen pensam que, em certos casos, o bacteriophago entra em estado de vida latente.

Absorpção do bacteriophago: Segundo Necker, o electargol, o electroselenio, o electrocuprol, iodargol e outros colloides, quando postos em contacto com igual porção de bacte-

riophago (um centimetro cubico), diluido em 8 centimetros de caldo, durante 24 horas, diminuem-lhe de 1.000 vezes, approximadamente, a virulencia. Poorter, afim de saber se se tratava de um phenomeno de absorpção, repetiu a experiencia, substituindo, porém, os colloides apontados pelo hydroxydo de aluminio, composto dotado de consideravel poder absorvente. A inhibição foi 10 vezes mais forte, e, dissolvendo o hydroxydo pela sua transformação em acetato, verifica-se que o principio lysante recupera sua actividade anterior. Não houve, pois, destruição, mas simples absorpção. Esse phenomeno observa-se, tambem, quando empregamos o negro animal, microbios mortos, terra de infusorios ou colloides de origem animal, como sôro de cão e de cavallo.

Adaptação: Possue-a em alto gráo o bacteriophago. Consoante experiencias de Bablet, Ashehov, Prausnitz e outros, elle se adapta á acção nociva de certos acidos, antisepticos e sôros antibacteriophagos. Além disso, mediante passagens successivas, torna-se capaz de lysar raças e talvez mesmo especies primitivamente resistentes.

Polyvalencia e virulencia: Numerosas são as bacterias que o principio lysante é capaz de atacar. Dentre ellas, citemos: os bacillos dysentericos dos typos Shiga, Hiss e Flexner, os bacillos paratyphicos A e B, o bacillo typhico, o colibacillo, o estaphylococco, o estreptococco e o bacillo da peste. E' possivel dissociar a polyvalencia de um bacteriophago pelo calor. Um bacteriophago activo contra o bacillo de Shiga e o colibacillo, após aquecimento a 60 gráos, por espaço de cinco minutos, torna-se incapaz de lysar o colibacillo, ao passo que continúa virulento para o bacillo de Shiga.

A virulencia do bacteriophago em relação aos germes que

é capaz de atacar, varia: fraca logo após o isolamento, póde-se augmental-a mediante technica apropriada.

Outro facto digno de nota é que cada fonte possue uma virulencia particular.

O bacteriophago, como se deprehende das experiencias de Bruynoghe e Maisin, póde soffrer a phagocytose.

As suspensões de bacteriophagos são dotadas de consideravel poder opsonico (d'Herelle e Eliava).

Influencia dos electrolytos: Num meio pobre de electrolytos, isto é, de sáes, a bacteriophagia não se produz quando elle é acido; em meio neutro (PH = 7,0), ella póde-se effectuar. Tudo depende da raça de bacteriophagos em experiencia. Em meio alcalino e phenomeno, produz-se com todas as raças e, para as mais activas, a disolução dos germes contidos no meio é total.

Consideremos, agora, um meio em que ha grande quantidade de sal. Segundo d'Herelle, a bacteriophagia processa-se num meio que contem 25 p. 1.000 de sal. Brutsaert verificou que o colibacillo não se cultiva em meio que encerre mais de 5 p. 100 de chlorêto de sodio, emquanto o estaphylococco se desenvolve perfeitamente, ainda que a proporção de sal seja de 14 p 100. Conforme o mesmo autor, a bacteriophagia faz-se normalmente em meios taes, e bacterias cultivadas em meios hypersalgados, são mais sensiveis ao bacteriophago que as testemunhas cultivadas em meios normaes.

Modo de cultura: Ao inverso das bacterias communs, que vegetam muito bem na materia morta: caldo de carne, sangue gelosado, sôro coagulado,..... o bacteriophago não se desenvolve senão ás expensas de microbios vivos e jovens.

Acção do bacteriophago sobre o organismo animal: Uma

inoculação de bacteriophago (por via oral, subcutanea ou intravenosa), além de uma immunidade quasi immediata contra varias dóses mortaes de virus e transmissivel passivamente, determina, ao fim de sete horas, o apparecimento de propriedades lyticas no sôro do animal em experiencia.

Injecções repetidas do bacteriophago produzem o apparecimento de anticorpos especificos no sôro, que se torna capaz de, na dóse de 2 ou 3 gottas, impedir a lyse em uma mistura constituida por bacteriophago e bacteria lysavel, e de extinguir a propriedade lysogenica de um microbio.

NATUREZA DO BACTERIOPHAGO

Dentre as hypotheses ácerca da natureza do bacteriophago, a mais commummente admittida é a que o considera um principio vivo, independente da bacteria. Elle possue, de facto, duas propriedades caracteristicas dos seres vivos: poder de assimilação em meio heterogeneo e poder de adaptação.

Poder de assimilação em meio heterogeneo: Sendo a capacidade de reproducção decorrente da de assimilação, demonstrado que o principio lytico se multiplica, provado ficará que elle assimila.

Se introduzirmos em 10 c. c. (10 grammas) de uma emulsão bacteriana, 0grs.,001 de um filtrado de dejecções (ou de sangue ou de qualquer outro producto que encerre o principio lytico), as bacterias se dissolverão.

Tiremos 0grs.,001 dessa emulsão lysada e juntemol-a a 10 grs. de uma emulsão fresca: o phenomeno de lyse repetir-

se-á. Essa experiencia póde ser renovada indefinidamente, sem que o resultado se torne negativo, isto é, *sem que a lyse deixe de se manifestar*. Só é possivel explicar tal facto, admittindo a *multiplicação do bacteriophago*, porque já na oitava passagem a quantidade do filtrado que trouxe o bacteriophago ao primeiro tubo da série, é inferior a um electron ("Le Bacteriophage et son comportement". 2.ª edição). *A multiplicação do bacteriophago faz-se ás expensas da bacteria*, porque:

1.º — Um filtrado que contem bacteriophago não dará plagas em gelose, se nella não se houver semeado bacterias.

2.º — O numero destas diminue á medida que as plagas se desenvolvem.

A bacteria constitue um meio heterogeneo para o bacteriophago

D'Herelle deu numerosas provas da exactidão dessa affirmativa. Eil-as em resumo:

a) — cada fonte de bacteriophago possue propriedades que lhe são particulares. Se ella ataca primitivamente o B. de Shiga e o B. typhico, depois de muitas passagens ás expensas do B. de Eberth, atacará ainda o B. de Shiga.

b) — Ashehov mostrou existirem, ao lado de fontes que dão sempre grandes plagas, outras que dão invariavelmente pequenas plagas.

c) — Prausnitz satura um sôro que é, ao mesmo tempo, antibacteriophago e antibacteriano, com a bacteria homologa, e verifica que as propriedades antibacteriophagas são conservadas.

O bacteriophago é, pois, dotado do poder de assimilação

em meio heterogeneo e possue, como dissemos ao tratar de suas propriedades, a de adaptação.

THERAPEUTICA E IMMUNIZAÇÃO PELO BACTERIOPHAGO

Das pesquizas que d'Herelle emprehendeu a respeito e cujos resultados foram confirmados por Dumas e Hauduroy, conclue-se ser o bacteriophago hospede normal do intestino dos individuos sãos. O motivo por que muitas vezes não é possivel evidencial-o provem de não o pôrmos em presença do germe que elle é capaz de lysar.

Em um meio absolutamente indemne de uma molestia, não se encontra o bacteriophago activo contra o agente pathogenico dessa molestia.

Hauduroy procurou, sem resultado, o bacteriophago antipestoso nos habitantes do centro de Paris, emquanto que d'Herelle sempre o encontrou na Indo-China, nas regiões em que a peste é endemica.

Bacteriophago no individuo doente: D'Herelle e Hauduroy, nos 61 casos de febre typhoide por elles observados, verificaram que:

1.º — Nos periodos de inicio e de estagio da molestia, não se encontra o bacteriophago nas dejecções.

2.º — Elle apparece, geralmente, ao começar a defervescencia, persiste até que ella finde, desapparecendo logo após. Em certos casos só é possivel encontral-o uma vez, e o começo da convalescença coincide com o seu apparecimento.

3.º — A maxima actividade do principio lysante corresponde, em geral, ao inicio da defervescencia.

4.º — Se a temperatura tende a subir novamente, o bacteriophago reapparece.

5.º — Os resultados observados são constantes.

D'Herelle não conseguiu encontrar o bacteriophago nas fezes de tres typhicos que succumbiram.

Em vista desses factos que verificou, tambem, na dysenteria bacillar, peste bubonica, infecções colibacillares, typhose aviaria e septicemia hemorrhagica dos buffalos, pensou d'Herelle curar os individuos dellas atacados, ministrando-lhes o bacteriophago. E os excellentes resultados das experiencias em animaes levaram-n'o a empregar o principio lysante em medicina humana, constituindo elle, hoje, graças aos successos obtidos por d'Herelle, que foram ulteriormente confirmados por Hauduroy, Beckerich, Courcoux, Philibert, Cordey, Costa Cruz, Oscar Pereira e outros, um valioso recurso therapeutico contra diversas infecções: dysenteria bacillar, affecções estaphylococcicas, etc.

Qualquer que seja a molestia a tratar, a condição "sine qua non" de successo é, segundo d'Herelle, a estricta observancia dos tres pontos seguintes, que foram por elle estabelecidos:

1.º — Não usar senão suspensões de bacteriophagos de virulencia maxima ou, na impossibilidade de o fazer, de virulencia muito forte (bacteriophagia total de uma emulsão normal), devidamente filtrados em vela.

2.º — Administrar a suspensão de modo que haja contacto directo entre os bacteriophagos e as bacterias que se deseja destruir.

3.º — Não multiplicar as injecções: tres no maximo, com o intervallo de 48 horas entre a primeira e a ultima. Em geral, uma só é sufficiente: o bacteriophago não age pela sua quantidade, mas, pela sua qualidade. Sendo grande a sua virulencia, elle provoca a bacteriophagia in vivo e se reproduz até a destruição das bacterias pathogenicas.

Immunisação pelo bacteriophago: Experiencias de d'Herelle na typhose aviaria mostram a possibilidade de immunizar, por meio do bacteriophago, os individuos sãos em uma região séde de uma epidemia.

Até o presente, nenhuma tentativa foi feita nesse sentido.

Estudando a septicemia hemorrhagica dos buffalos, e a intoxicação dysenterica do coelho, poz o mesmo autor em evidencia uma outra applicação do principio lytico: os productos microbianos que a lyse determinada pelo bacteriophago põe em liberdade, quando injectados em um animal sensivel, podem conferir-lhe a immunidade. O serum de um animal immunizado pelo bacteriophago tem propriedades preventivas muito fortes.

O BACTERIOPHAGO ANTI-ESTAPHYLOCOCCICO

Foram Bruynoghe e Maisin os primeiros a publicar experiencias sobre o tratamento de affecções estaphylococcicas pelo principio de d'Herelle. Após injecção de 0,cc5 a 2 c.c. de uma suspensão de bacteriophago anti-estaphylococcico, aquecida a 56 gráos, durante uma hora, em seis portadores de furunculos ou anthrax, verificaram diminuição rapida do empastamento e cicatrização prompta das lesões chegadas á suppuração. Nalguns doentes, sobretudo os attingidos de lesões extensas, notaram, após a inoculação, ascenção thermica, phenomeno que, segundo os mesmos autores, corria por conta da reabsorpção de grande quantidade de productos microbianos.

Pouco depois, Gratia, que tratára, pelo bacteriophago, uns cincoenta casos de affecções estaphylococcicas diversas, nos hospitaes de Bruxellas, chegava a estas conclusões: "Crêmos poder deduzir que a injecção, como a praticamos, é inoffensiva e exerce, sobre a evolução das folliculites, furunculos, anthrax e abcessos subcutaneos, effeitos incontestavelmente favoraveis. A' reacção congestiva local, que dura 24 horas, succede accentuada attenuação da dôr e desapparecimento rapido do erythema. Observam-se, tambem, amollecimento e reabsorpção precóce do edema, e, muitas vezes, os

carnições, as massas purulentas, fluidificam-se rapidamente e escoam-se com facilidade por um orificio estreito, ou se reabsorvem sem deixar cicatriz".

Gratia fazia a injecção, a principio, loco dolenti; depois, entrou a pratical-a á distancia, e as dóses iam de 0,cc5 a 3 cc. Em alguns casos, a injecção foi repetida até tres vezes, com 24 horas de intervallo. Tratando-se de septicemia estaphylococcica, utilizava a via intravenosa, não sem provocar forte reacção geral.

Em lugar de suspensões aquecidas a 56-58 gráos, Bastin, a conselho de d'Herelle, empregou suspensões apenas filtradas. Não observou reacção geral nem local apreciavel.

"Crêmos, diz elle, que se deve attribuir aos productos albuminosos modificados pelo calor, os phenomenos reaccionaes assignalados por Bruynoghe e Jaumain, Gratia e Maisin".

D'Herelles declara poder confirmar os resultados de Bastin.

Hauduroy utilizou, com exito, o bacteriophago no tratamento de um anthrax grave.

Nelson Barbosa obteve a cura em casos de furunculos, abcessos e pyelites estaphylococcicas, dois ou tres dias após injecção de 0,cc. 5 a 1cc. de bacteriophago,

Confirmam, igualmente, a efficacia da phagotherapia as experiencias de Bazy, Gougerot e Peyre, Dalsace e Mouret.

Em artigo publicado na "Presse Médicale", de 29 de Agosto de 1928, H. Grenet e Isaac Georges referem os resultados da phagotherapia em cincoenta casos de affecções estaphylococcicas diversas, e assim terminam:

"Pelo contrario, a bacteriophagotherapia mostrou-se o

tratamento ideal da furunculose e merece, crêmos, ser generalizada".

André Raiga, apoiado em quarenta e tantas observações, escreveu:

"Em resumo, póde-se luctar contra a furunculose sob todas as suas fórmas, benignas ou graves, graças ao bacteriophago, sem recorrer ás incisões cirurgicas largas e mutilantes". ("Traitement des Furoncles et des Anthrax par le Bacteriophage de d'Herelle" — "Presse Médicale", de 9 de Fevereiro de 1929).

"Utilizo ainda os bacteriophagos anti-estaphylococcicos polyvalentes no tratamento das pyodermites (9 casos) e da furunculose (32 casos). Diminuem as dôres com extraordinaria rapidez e a limitação do processo inflammatorio é evidenciada logo de maneira notavel. Ha verdadeira immunidade local pelo bacteriophago, não tendo observado em nenhum dos 32 casos tratados furunculose de repetição." ("Contribuição á Bacteriophagotherapia", pelo dr. Oscar Pereira, livre-docente de Microbiologia da Faculdade de Medicina de Porto Alegre, "Revista Medico-cirurgica do Brasil", de Agosto de 1929).

CAPITULO III

OBSERVAÇõES

OBSERVAÇÕES

PRIMEIRA OBSERVAÇÃO

E. A. R., de côr branca, natural deste Estado, com 23 annos de idade, estudante de Medicina. Um furunculo no joelho esquerdo e outro na fossa iliaca do mesmo lado, datando ambos de cinco dias. Foram feitas duas applicações locaes de bacteriophago em compressas: a primeira a 4 de Junho de 1929, e a segunda a 5 do mesmo mez. Resultado: cessação da dôr expontanea, dentro de 24 horas, e cura ao fim de quatro dias, a contar do da primeira applicação. Não usou outra medicação durante a phagotherapia, nem antes, nem depois.

SEGUNDA OBSERVAÇÃO

N. S., de côr branca, com 30 annos de idade, natural deste Estado, pensionista do Hospital S. Pedro desta capital, divisão Pinel, numero de registro 935. Furunculo de tres dias na região posterior do antebraço esquerdo. Applicações locaes do bacteriophago, sob a fórma de compressas: a primeira, a 4 de Junho de 1929, a segunda a 5, e a terceira

a 6, dia em que se eliminou o carnicão. Cura tres dias depois. Nenhuma outra medicação nem antes, nem depois da phagotherapia, nem concorrentemente.

Mesmo effeito que na observação precedente sobre as dôres expontaneas.

TERCEIRA OBSERVAÇÃO

R. J., de côr branca, natural deste Estado, com 16 annos de idade, pensionista do Hospital S. Pedro desta capital, divisão Pinel, numero de registro 936.

Furunculo de tres dias, na região anterior do antebraço direito. Phagotherapia local, sob a fórma de compressas: primeira applicação a 13 de Junho de 1929, segunda a 14 e terceira a 15, do mesmo mez. Eliminação do carnicão após a terceira applicação, cura dois dias depois. Desapparecimento das dôres com a primeira applicação. Não usou outra medicação.

QUARTA OBSERVAÇÃO

I. P., de côr branca, com 44 annos de idade, natural deste Estado, pensionista do Hospital S. Pedro desta cidade, divisão Pinel, numero de registro 791.

Dois furunculos, ambos com quatro dias: um no flanco esquerdo, outro na face antero-externa da perna esquerda. Phagotherapia local, como nas observações anteriores. O furunculo da perna curou com duas applicações consecutivas, o do flanco com 3, tambem consecutivas. Sobre as dores o mesmo effeito já observado.

Não usou outra medicação.

CAPITULO IV

CONCLUSÕES

BIBLIOTECA DA FACULDADE

XXIII

CONCLUSÕES

I

A phagotherapia anti-estaphylococcica merece ser empregada na pratica corrente.

II

Apresenta incontestaveis vantagens quanto á evolução favoravel dos furunculos, notando-se particularmente diminuição da dôr e maior facilidade na eliminação do carnicão.

III

A applicação local do bacteriophago não é seguida de reacção geral, conservando-se o temperatura nos limites normaes.

IV

Para applicações locaes póde-se empregar compressas de gaze esterilisada embebidas no producto lysante conservado em empolas estereis.

V

Ha vantagem em empregar bacteriophagos altamente activos em face dos estaphylococcos aureos.

VI

A phagotherapia parece ter não só acção curativa como tambem preventiva, pelo que deve ser utilisada todas as vezes que o doente apresentar mais de tres ou quatro furunculos de repetição.

BIBLIOGRAPHIA

"Le Bactériophage et son comportement".
F. d'Hérelle
2.ª edição.

"Le Bactériophage de d'Hérelle"
D. Paul Hauduroy.

"O Phenomeno de d'Hérelle e as Infecções pelos Bacillos Coli e Dysentericos" these inaugural
Oscar B. Pereira.

"La Presse Médicale"
29 Agosto 1928

"La Presse Médicale"
9 Fevereiro 1929.

"Revista Medico — Cirurgica do Brasil".
Agosto 1929

"Os Filtrados de Besredka" these de doutoramento.
Antonio Bottini.

"Acção curativa do bacteriophago estaphyloccico".
Dr. Neisou Barbosa, "Brasil Medico" 2 de Junho de 1923.

"Les défenses de l'organisme".
por F. d'Hrelle.

"Précis de Therapeutique" I
por X. Armozan e J. Carles.

Précis de Pathologie Externe"
por E. Forgue.

ERRATA:

Pag.	1.ª	da	Introducção—	ultima	linha—	Leia-se:		Transportando em vez de Ttransportando
"	3.ª	"	"	13.ª	"	"	"	toda em vez de tota
"	5.ª	"	"	17.ª	"	"	"	rendre em vez de cendre
"	6.ª	"	"	2.ª	"	"	"	Syphiligraphie em vez de Syphiligrphie
"	8	linha	13.ª	leia-se:	20	em	vez	de 200
"	11		13.ª	"	"	o phenomeno em vez de e phenomeno		
"	34		2.ª	"	"	Nelson em vez de Neisou		
"	34		4.ª	"	"	d'Herelle em vez de d'Hrelle		