

Brazil-Medico

SODRÉ & Cia. — Editores

140, Rua do Rosario

Rio de Janeiro

Caixa Postal 338 — End. Telegr. «Brazmedico»

FORMAS FILTRAVEIS DO VIRUS TUBERCULOSO (*)

PELO DR. ANTONIO FONTES

(Do Instituto Oswaldo Cruz)

RESUMO HISTORICO

As memoraveis experiencias de VILLEMEN em 1865 e 1866, demonstradoras da inoculabilidade da tuberculose do homem a animaes de especies diferentes, somente em 1877 tiveram as primeiras verificações microbiologicas.

Assim, nesse mesmo anno, KLEBS obteve pela sementeira de materia caseosa, em albumina de ovo colhida asepticamente, o desenvolvimento de uma cultura de micro-organismos esfericos moveis, extremamente pequenos, com 2 micra de diametro, associados ás vezes a bacterias curtas.

Pela inoculação dessas culturas no peritoneo do gato, KLEBS determinou a formação de tuberculos nos quaes elle encontrou o mesmo micro-organismo inoculado. A esse germen KLEBS deu o nome de «*Monas tuberculosis*».

As verificações de KLEBS foram confirmadas em 1879 por REINSTADLER e, em 1880 por SCHULLER.

DEUTSCHMANN, em 1880, chegou a conclusões contrarias, pois não conseguiu nenhum resultado pela inoculação de material que elle presumia rico em «*Monas tuberculosis*».

TOUSSAINT, ainda em 1880, obteve, semeando sôro do sangue colhido asepticamente em uma vacca tuberculosa, em balões de caldo de carne de gato, de porco e de coelho, uma cultura de granulações muito pequenas, simples, geminadas ou reunidas em pequenos grumos, que por inoculação determinavam no gato uma tuberculose experimental. Em 1881, renovando suas pesquisas consegue TOUSSAINT infectar uma truta por via gastrica e pela sementeira do sangue da polpa de ganglios pharyngeus, bronchicos e intestinaes em caldo de coelho levemente alcalino, obteve culturas de um microbio granular, que se apresentava ora isolado ora geminado, ora em grumos, extremamente pequeno e immovel. A inoculação desse germen por passagem pelo gato e pelo coelho pôde produzir a infecção tuberculosa

generalizada ao cabo de dois mezes em todos os coelhos inoculados.

AUFRECHT, em 1881, referiu a presença de micrococcus, ao lado de bacillos muito refringentes no centro de tuberculos miliares e, por essa mesma época, LUTZ e UNA reconheceram tambem pequenas granulações nos lepromas, propondo o genero «*Coccothryx*» para o agente infectuoso.

Em 1882, a 24 de Março R. KOCH communica á Sociedade de Physiologia de Berlim sua primeira nota sobre a pesquisa e a cultura do bacillo da tuberculose e a 10 de Abril, no «*Berliner Klinische Wochenschrift*», estabelece as bases da microbiologia classica da tuberculose, e que até a nossa época fazem a doutrina corrente.

O genial trabalho de KOCH alicerçado sobre rigidas provas experimentaes pôde durante cerca de 40 annos compendiar todos os conhecimentos relativos á microbiologia do bacillo que traz o seu nome, e pôde-se mesmo afirmar que quasi todas as grandes aquisições feitas nesse dominio a elle ou á sua escola devem ser attribuidas.

Nem sempre, porém, foi unanime a opinião dos experimentadores sobre as conclusões apresentadas por KOCH. O caracter basico, fundamental, apresentado por KOCH, reacção corante que consistia em que o micro-organismo não se deixa tingir pelas côres basicas de anilina e sim pela acção demorada de uma solução de azul de methyleno alcalinizado pela potassa, completada pela noção da resistencia ao descoramento aos acidos diluidos estabelecida por ERLICH, mostrava-se falho perante as verificações dos que não encontravam o factor etiologico no seio de lesões nitidamente especificas, apesar de sujeitas aos methodos de investigação então aconselhados.

Dentre esses contradictores sobresaem MIDDENDORF, que considera o bacillo de KOCH como um saprophyta sem relação pathogenica com a tuberculose e, principalmente STRAUS, que afirma que nos fôcos tuberculosos caseosos existem fórmas modificadas do bacillo, que em certos casos apparecem como simples grãos corados ou que são mesmo refractarios aos reactivos corantes e que comtudo são virulentos.»

MALASSEZ e VIGNAL, pela inoculação de um nodulo tuberculoso retirado de uma criança morta de meningite tuberculose, obtêm a infecção especifica, de cujas lesões elles isolam um micrococco vivendo em zooglea, ao qual elles denominaram pseudo-tuberculose cocco-bacillar. O mesmo material dêra em outros animaes uma infecção typica, da qual se isolára o bacillo de KOCH.

O genio de FERRAN abre então novos horizontes aos pesquisadores. Suas experiencias confirmadas por ARLOING, COURMONT e BEZANÇON, demonstram a possibilidade, por condições accidentaes de cultura em meios artificiaes, de determinar modificações tão profundas na estrutura e na biologia do agente considerado especi-

(*) Conferencia feita na Sociedade de Medicina e Cirurgia do Rio de Janeiro (sessão de 21-1926).

fico, que creavam-se destarte raças saprophytas, cujos caracteres aberravam em opposição aos que o classicismo doutrinario estabelecera.

Pelo correr de minha exposição ver-se-ão as analogias existentes entre os primeiros trabalhos microbiologicos, e dentre esses sobresaem os de TOUSSAINT, com a moderna concepção da fórmula granular do virus tuberculoso, já também prevista por STRAUS.

O INICIO DOS ESTUDOS

Quando, em 1906, iniciei os meus estudos sobre a tuberculose, os trabalhos de METCNIKOFF produziam enorme interesse, na presumpção em que se encontravam os microbiologistas de ser possível, pela destruição da carapaça cereo gordurosa do bacillo, obter a reabsorção do mesmo, quando inoculado por via subcutanea e assim, por phagocytose, determinar-se a formação de anti-corpos.

Com esse objectivo procedi ao estudo chimico e cyjico do germen,—o que me levou a conclusões do alto interesse, verificando a funcção, para mim essencial, que as granulações incluídas no corpo bacillar deviam exercer na biologia do bastonete.

Conclui eu então que as «granulações do bacillo da tuberculose deviam representar o mesmo papel dos nucleos polyenergeticos na reproducção dos protozoarios».

Os trabalhos de MUCH, contemporaneos dos meus, mostravam que a fórmula granular existente no pús caseoso, quando inoculada em animaes sensiveis, produzia a infecção, o que aliás já STRAUS affirmára.

A experiencia fundamental da separação dos bacillos acaso existentes no pús caseoso, das granulações delles desagregadas, o que eu havia demonstrado occorrer em virtude do fermento lypolitico existente no pús tuberculoso, deixou resaltar, pela inoculação do material filtrado em vela de porcellana, a natureza de «virus», que deveria ser attribuida ao elemento infectuoso.

Os animaes inoculados, ao cabo de cinco mezes, não apresentavam signal de doença. Sacrificados não revelaram lesões tuberculosas em seus orgãos e no entanto, em seus ganglios e pulmões, foram encontrados bacillos acido-alcool resistentes, com os caracteres morphologicos e tinctoriaes do bacillo de KOCH.

A possibilidade da permanencia do elemento infectuoso em latencia pathogenica no interior dos tecidos vivos ficou assim experimentalmente demonstrada e, portanto, na infecção tuberculosa «a noção do terreno tuberculisavel poderia e deveria ser substituida pela noção de terreno com tuberculose em potencial.»

ESTADO ACTUAL DA QUESTÃO

Em 1912, PHILIBERT retoma as minhas experiencias. Utilizando-se de 10 amostras de pús provenientes de lesões diversas, (coxalgia, tumor branco, ganglios, etc); verifica que todas ellas apresentam bacillos, umas por exame directo, outras após homogenização. Certifica-se

da virulencia desse material inoculando cobaias que morrem todas com tuberculose generalizada. Filtra o material em experiencia com grandes difficuldades. A inoculação do filtrato em cobaias não determina um só caso de tuberculose, salvo em um animal, no qual PHILIBERT acredita ter sido possível uma contaminação accidental, ou que o filtro utilizado tenha sido permeavel á passagem dos bacillos. PHILIBERT, em resumo, contesta as minhas experiencias.

Passam-se 12 annos após as minhas verificações sem que o assumpto tenha despertado maior attenção. Em Maio de 1922. VAUDREMER, que vinha ha tempos procedendo ao estudo do desenvolvimento do bacillo da tuberculose em meios pobres, em artigo no 'jornal «*La Médecine*», e em sessões da Sociedade de Biologia (9 de Junho e 22 de Dezembro de 1923), assignalou a possibilidade da passagem, através a vela CHAMBERLAND L 3, de fórmulas «atypicas não acido-resistentes».

O filtrado semeado em PETROFF, dava origem a colonias de bacillos acido-resistentes ao cabo de oito dias. VAUDREMER conclue que o bacillo da tuberculose possui fórmulas filtrantes.

BEZANÇON e HAUDUROV retomam os estudos de VAUDREMER e confirmam-nos inteiramente. — BEZANÇON e PHILIBERT assignam a mesma conclusão.

PLA Y ARMENGOL, filtrando uma emulsão de pús tuberculoso em vela Berkefeld, inoculando a parte que não atravessa o filtro, obtem uma tuberculose typica com bacillos de KOCH, e, inoculando a porção que atravessa a vela, obtem lesões atypicas, sem bacillos, que, reinoculadas, porém, determinam a evolução de uma tuberculose typica, com bacillos acido-resistentes.

ARLOING, DUFOURT e MALARTRE obtêm ainda resultados positivos filtrando culturas de bacillos de KOCH, recentemente isolados. ARLOING e DUFOURT renovam suas experiencias, utilizando-se não mais de culturas e sim de lesões tuberculosas, em casos de tuberculose infantil (gommas, ganglios, liquido cephalo-rachiano de meningite, pús de pyothorax). Em 30 ensaios conseguiram 16 vezes filtratos que infectavam as cobaias. Esses animaes, sacrificados após tres mezes, não haviam apresentado cancro no ponto de inoculação; os ganglios correspondentes não estavam augmentados de volume; as visceras pareciam sãs. Os ganglios tracheo-bronchicos e cervicaes, normaes ou levemente hypertrophiados. O exame histologico não mostrou lesões, mas o succo dos ganglios mostrou bacillos acido-alcool-resistentes tuberculosos typicos.

Estas verificações concordam absolutamente com as que eu havia feito em 1910.

Em Abril de 1923 CALMETTE confia a VALTIS o encargo de repetir as minhas experiencias. Assim se exprime em esses dois auctores, em seu trabalho «*Les éléments albumulents filtrables du bacille tuberculeux*»:

Nous avons d'abord cherché á obtenir les éléments du bacille de KOCH, en nous adressant á des éléments tuberculeux autolysés á l'étuve á 38°, pendant 3

jours, selon le procédé indiqué par F. BEZANÇON, MATHIEU et PHILIBERT. Dans des tels autolysats nous avons déjà constaté l'existence de nombreuses granulations. Celles-ci, accumulées dans le culot de centrifugation, étalent emulsionnée dans l'eau physiologique stérile et passées à travers un filtre Chamberland L2, dont l'imperméabilité aux microbes était préalablement contrôlée. Dans ces filtrats, de même que dans leurs culots de centrifugation, nous n'avons pu découvrir aucun élément visible. Leur ensemencement sur Pétroff, sur le milieu à l'œuf de BESREDKA et JUPILLE et sur pomme de terre bouillon glyceriné, est resté constamment stérile.

Cependant, ces mêmes filtrats, inoculés sous la peau du cobaye, à la dose de 5 à 10 cc., ont déterminé, dans trois séries d'expériences, des phénomènes identiques, dont voici une brève description. Les ganglions voisins du point inoculé se tuméfiaient légèrement du 10^e au 15^e jour; puis semblaient redevenir normaux. La plupart des cobayes injectés mouraient entre le 3^e et le 4^e mois. A leur autopsie on ne trouvait aucune lésion ganglionnaire, mais tout le système lymphatique, et surtout les ganglions trachéo-bronchiques, étaient un peu hypertrophiés. Quelques animaux présentaient de petits foyers d'hépatisation pulmonaire. Ceux-ci et les ganglions tuméfiés contenaient toujours des bacilles acido-résistants caractéristiques en petits amas et rares. Il fallait les rechercher longuement.

Dans une autre série d'expériences nous avons encore pu mettre en évidence des éléments filtrables dans le pus d'un ganglion mésentérique caséux d'un singe mort de tuberculose. Le filtrat de ce pus, comme celui des produits d'expectoration étudiés précédemment, ne renfermait aucune granulation visible à l'examen microscopique du culot de centrifugation, et son ensemencement sur les divers milieux est toujours resté stérile. Inoculé sous la peau des cobayes, il a déterminé des lésions analogues à celles produites par le filtrat de crachats autolysés et, en plus, de petits tubercules pulmonaires typiques, contenant des bacilles.

Après nous, DURAND e VAUDREMER puis DURAND, inoculant dans le péritoine d'un cobaye le filtrat sur bougie L3 d'un pus tuberculeux d'origine humaine, ont trouvé chez cet animal, quatre mois plus tard, des lésions tuberculeuses, contenant des bacilles. Enfin, dans une troisième série d'expériences, nous avons filtré des cultures en milieu glyceriné, agés de trois à huit semaines, et nous en avons obtenu des filtrats ne contenant aucune granulation visible au microscope, aucun germe cultivable, mais qui, inoculés au cobayes, produisaient constamment des lésions analogues à celles que nous avons précédemment décrites.

Les faits énoncés en 1910 par FONTES se trouvaient donc pleinement confirmés, et nos expériences avaient permis d'établir que les filtrats de cultures, de crachats et de pus tuberculeux renferment des éléments qui, quoique invisibles et non cultivables dans les milieux que nous avons utilisés, sont virulents et tuberculigènes.»

Esses mesmos auctores levam adiante a sua experimentação. Com BOQUET e NEGRE, conseguem a infecção de ganglios tracheo-bronchicos e do «carrefour» hepatico de fêtos de cobaias injectadas em periodo de gestação, sob a pelle, com productos filtrados de natureza tuberculosa. Resultados semelhantes foram obtidos tambem por ARLOING e DUFOUT.

E' de notar que nenhum desses experimentadores obteve culturas com o material filtrado, á excepção de VAUDREMER, BEZANÇON e HAUDUROV.

DURAND e CHARCHARSKI obtêm a infecção de uma cobaia com um centimetro cubico de um filtrado de exsudato pleural tuberculoso, por via sub-cutanea. Tres semanas depois, o animal, sendo sacrificado, mostrou uma lymphadenite com bacillos de tuberculose.

VANUCCI, estudando si com os productos tuberculosos, nos quaes a pesquisa do bacillo pelo exame microscopico fôra negativa mas em que a prova biologica havia sido positiva, seria possivel obter ainda a prova biologica, após a filtração do material através da véla Berkefeld Liliput o., em 3 casos sobre 10 obteve, com o filtrato injectado no peritoneo de cobaias, um quadro anatomo-pathologico experimental completo de tuberculose, —o que fez com que esse auctor admittisse uma fórma filtravel do bacillo de KOCH.

VEBÈR demonstrou que em um derrame de pneumothorax artificial rico em bacillos, filtrado em vela Chamberland e inoculado em uma cobaia, pôcia determinar uma tuberculose experimental, caracterizada pela ausencia de ulcera de inoculação e pela presença de notavel tumefacção dos ganglios tracheo-bronchicos, nos quaes demonstrou a presença de bacillos de KOCH.

VERDINA, em magnifico trabalho, fortemente documentado, refere que, filtrando material tuberculoso de diversas proveniencias (pús, excreta, culturas de bacillo de KOCH), em repetidos exames obteve resultados positivos, os quaes o auctorizam a concluir pela existencia de uma fórma filtrante ultra-microscopica para o virus tuberculoso.

VASILIU e IRINIOIU filtram culturas de tuberculose em Petroff, obtidas por sementeiras de escarros. As cobaias inoculadas com o producto da filtração mostram bacillos nos ganglios abdominaes.

Os mesmos resultados elles obtêm com productos tuberculosos humanos. Experimentando em um caso de lympho—granulomatose, obtêm material filtrante, que, passando através da vela L3 e inoculado sob a pelle e no peritoneo de cobaias, determinou, ao cabo de dois mezes, uma hypertrophia ganglionar tracheo-bronchica e abdominal, com a presença de bacillos acido-resistentes caracteristicos.

Das experiencias contrarias, eu só tenho conhecimento exacto das que foram feitas, em Milão, por MONTEMARTINE, e, em Vienna, por FESSIER.

MONTEMARTINE, experimentando em 86^o cobaias contesta as experiencias de VANUCCI e considera os pequenos focos necroticos, no tecido sub-cutaneo, nos gan-

glios e no baço, como devidos á acção dos productos toxicos tuberculosos.

FESSLER, em Vienna, trata de indagar a veracidade dos resultados obtidos por VAUDREMER e seus colaboradores. Para tanto emprega filtratos de material tuberculoso em 2 animaes. 17 cobaiaes foram inoculadas com os filtratos de cinco raças differentes de typo humano, 2 cobaiaes e 5 coelhos com filtratos de raças de typo bovino.

Desses animaes, 3 cobaiaes e 1 coelho foram inoculados com os precipitados obtidos por filtração de culturas em batata e enriquecimento, por tres semanas, em agua peptonada a 2 %. A virulencia de todas as raças empregadas foi préviamente verificada em pesquisa animal. Os animaes foram inoculados, em parte, por via subcutanea e em parte por via peritoneal.

Em alguns animaes elle tentou a infecção intra-pulmonar, conjunctival e intravenosa. Dois dos animaes inoculados, uma cobaia e um coelho, morreram espontaneamente; os restantes, após observação de 10 até 22 semanas, foram sacrificados.

Todas as pesquisas deram resultado negativo. Por autopsia nos orgãos, nem macroscopicamente, nem microscopicamente, foram demonstradas alterações tuberculosas. Os exames de allergia, feitos, de tempos a tempos, por injeções de tuberculina, intra e subcutaneamente, sempre deram resultado negativo.

Dos animaes que morreram espontaneamente, um coelho havia sido injectado com um filtrato, subcutanea e endovenosamente. Após duas semanas, o animal morreu. Pela autopsia foi reconhecida coccidiose do figado e uma «thrombo-phlebite» branda da veia jugular esquerda, que, provavelmente, tinha partido da veia auricular, empregada para a injeção. O outro animal, uma cobaia, havia sido inoculado com 1/2 cc. de um filtrato de cultura. Simultaneamente foi inoculado um outro animal com a mesma quantidade desse mesmo filtrato, intraperitonealmente.

Emquanto que esta ultima cobaia permanentemente augmentou de peso, sempre demonstrou allergia negativa, e, sendo sacrificada, 22 semanas depois, a autopsia deu resultado negativo, na outra cobaia manifestou-se, após um augmento inicial de peso, sua queda subita. Cerca de 10 semanas depois da inoculação, uma prova tuberculínica intracutanea deu resultado fracamente positivo. Alguns dias depois, o animal morreu, em consequencia de uma prova tuberculínica subcutanea positiva.

Por autopsia, encontrou-se uma tuberculose generalizada, em parte da caseificada, em maior parte endurecida em todos os ganglios lymphaticos, principalmente nos ganglios tracheo-bronchicos, e em seguida encontraram-se focos tuberculosos fibrosos em ambos os pulmões. Os outros orgãos estavam isentos. Não se observou cancro inoculatorio da parede abdominal.

FESSLER acredita que este caso representa um caso de infecção espontanea de cobaia, por via aerogena, e

em abono dessa sua idéa traz o facto de ter sido verificada a infecção em mais duas cobaiaes da mesma geração que aquella que servira para experiencia.

Assim conclue FESSLER pela absoluta negatividade dos trabalhos de VAUDREMER e de seus colaboradores:

(Continua) →

SOBRE ALGUNS CASOS DE INVAGINAÇÃO INTESTINAL (*)

PELO DR. VICENTE BAPTISTA

O meu thema de agora gira em torno de um importante capitulo de medicina infantil, thema esse de maior interesse, quer para os clinicos internistas, quer para os operadores: — a invaginação intestinal.

De ha muito, é sabido que esse terrivel accidente ocorre na infancia com invulgar frequencia, sobretudo nolactente. (55 %, segundo MATT). Após os 6 annos, o seu apparecimento se torna uma raridade. Crêm os auctores que tal facto seja devido a uma predisposição de idade e, para explicação da hypothese, invocam variadas razões: — menor fixação do colon, intenso peristaltismo, insignificante desenvolvimento da musculatura e do tecido elastico da parede abdominal, grande excitabilidade reflexa do intestino infantil.

Existem auctores que falam em disposição de raça. Parece mesmo que a invaginação é mais frequente entre os anglo-americanos do que entre os allemães e os latinos.

Em Campinas com a recente e brilhante communição do illustrado collega dr. NESTOR OLIVEIRA, feita a esta Sociedade, a questão foi posta em foco. No registro cirurgico da Beneficencia Portugueza estão inscriptos 4 casos; 2 do dr. HERMAS BRAGA e 2 observados por mim, Sobre estes em que entrou a minha collaboração, desejo vos dizer duas palavras.

— Em São Paulo, em 1921, quando assistente da clinica de crianças dos drs. MARGARIDO e CHIAFFARELLI, tive oportunidade de observar casos, dos quaes, 6 foram operados no Hospital Santa Catharina (4 pelo dr. LUCIANO GUALBERTO e 2, respectivamente, pelos drs. WALTER SENG e AYRES NETTO) e 1 no Instituto Paulista, pelo professor REZENDE PUECH.

Basta essa recente relação de 12 invaginações, diagnosticadas e comprovadas pela intervenção sangrenta, para demonstrar que, ao menos no Estado de São Paulo, a sua frequencia é consideravel.

A vida do paciente depende, em absoluto, da precocidade da operação, portanto, da segurança do diagnostico. Dahi se comprehende a grande necessidade que temos todo nós, clinicos, do conhecimento perfeito dos accidentes da canalização intestinal.

OMBREDANNE disse, com profundo espirito critico: «L'invagination intestinale est une affection que le médecin

(*) Communição á «Sociedade de Medicina e Cirurgia de Campinas» em 5 de Maio de 1926.

Brazil-Medico

SODRÉ & Cia. — Editores

140, Rua do Rosario

Rio de Janeiro

Caixa Postal 338 — End. Telegr. «Brazmedico»

FORMAS FILTRAVEIS DO VIRUS TUBERCULOSO (*)

PELO DR. ANTONIO FONTES
(Do Instituto Oswaldo Cruz)

(Conclusão)

DISCUSSÃO

Como vêdes, meus senhores, transcrevi quasi que litteralmente a experimentação de FESSLER, que deixa em nosso espirito a convicção do rigor da technica por elle usada. Entretanto, basta-me referir um unico lapso em que esse eximio experimentador incorreu para que fiquem prejudicadas as suas conclusões. E isso dá a medida da difficuldade de solução dos problemas dessa natureza.

FESSLER verificou a negatividade de sua experimentação, baseado nas reacções de allergia e na verificação de «alterações» tuberculosas dos órgãos dos animaes, após autopsia. Ora, o facto por mim estabelecido e verificado, em multiplas experiencias, por outros investigadores, como VALTIS, DUFOURT, ARLOING e MALARTRE, é que é possivel, mesmo na ausencia de qualquer lesão tuberculosa, encontrar-se bacillos acido-alcool resistentes na intimidade dos tecidos. FESSLER não refere ter pesquisado os bacillos no interior dos ganglios, nem nos órgãos dos animaes experimentados.

Mesmo em relação ás provas de allergia ellas perdem grandemente o seu valor, quando se leva em consideração a sua infidelidade na phase inicial da infecção tuberculosa experimental. As experiencias de CALMETTE, BOQUET e NEGRE, inspiradas nas de MAC, YUNKIN e de PARAF, em que esses ultimos experimentadores mostram que as cobaias novas, inoculadas com filtratos de exudatos produzidos pela injeccção de bacillos no peritoneo de cobaias tuberculosas, tornam-se sensiveis á tuberculina, mas resistem ás provas virulentas de média intensidade, deixaram reconhecer que «a sensibilidade á tuberculina dos animaes infectados, quer por via subcutanea, quer por via peritoneal, com os elementos filtraveis do bacillo tuberculoso, é inconstante».

Mas consideremos o trabalho de FESSLER como inatacavel, e o merito e a probidade do seu autor assim o exigem.

(*) Conferencia feita na Sociedade de Medicina e Cirurgia do Rio de Janeiro (sessão de 21-1926).

Mesmo assim, uma unica advertencia abalará o rigor de suas conclusões.

Pergunto: porque, em mãos dos experimentadores que têm tido resultados positivos, ocorre sempre um grande numero de resultados negativos, sendo identicas as condições de technica usadas, de qualidade do material empregado? Assim succedeu em mãos de ARLOING, DUFOURT, MALARTRE, VALTIS, VANUCCI, VERDINA e nas minhas proprias mãos.

Ainda mais, e repito aqui as palavras que disse na Sociedade de Microbiologia de Vienna: «Eu não posso compreender como tantos e tão variados pesquisadores incidam em erros de technica e de observação, quando, trabalhando em laboratorios diversos, com orientações differentes em suas pesquisas, chegam a conclusões identicas.

Acredito que, por força, deva haver qualquer causa que nos escapa e possa explicar essa contradicção, para mim aparente. E' facto por todos conhecido que, mesmo naquelles virus filtraveis, hoje universalmente admittidos, nem todas as verificações são positivas.

Ha uma incognita que precisa ser elucidada. Cuidar-se-á da falha do determinismo experimental nas condições conhecidas, relativas quer ás velas filtrantes, quer á pressão, ou, o que para mim é mais provavel, haverá necessidade de se surpreender a «phase filtrante» em periodo desconhecido da vida desses organismos?»

Haverá qualquer condição biologica, ligada intimamente á vida, peculiar ao animal experimentado e que lhe confira a facultade de receptividade? Será essa supposta condição necessaria á transformação da phase filtravel, invisivel em phase morphica, reconhecivel aos actuaes methodos de investigação optica?

Senhores, eu não tenho a pretensão de julgar o problema da filtrabilidade do virus tuberculoso inteiramente resolvido. O que vos posso afirmar, entretanto, é que o artificio da technica por mim usado permittiu o conhecimento de multiplas phenomenos biologicos verdadeiramente notaveis e para cuja elucidación nos conduz uma nova via de investigações.

E' facto para mim adquirido que o virus tuberculoso é representado pela fórmula granular. São as granulações os elementos virulentos que constituem o bastonete, que as idéas classicas admittiam como o *agente unico especifico da infecção tuberculosa*. Esta fórmula não representa, entretanto, mais que um *epiphenomeno do desenvolvimento do cyclo da vida do parasita*; a *unidade vital infectante é a granulação*.

Mas quantos problemas se originam dessa concepção? As fórmulas geradoras do bacillo serão as fórmulas granulares visiveis (granulos de MUCH, granulações de FONTES, de SPLITLER, de SPENGLER) ou serão elementos invisiveis, não revelaveis senão pelas culturas posteriores ou por inculcações em animaes sensiveis?

A resposta experimental a essas duvidas não é facil. Nada impede que as granulações extremamente peque-

nas, tão pequenas que são reconhecidas como «poeira granular», possam atravessar velas porosas e cujos póros não são ainda exactamente medidos. Mas a prova da filtrabilidade tem para mim uma importancia secundaria.

O que interessa saber não é si as granulações passam através dos filtros, não é verificar, só por uma prova mecanica, um phenomeno que a prova biologica nos revela em toda a sua plenitude. E esta prova demonstra que filtratos de natureza tuberculosa podem determinar a presença do germen especifico, com os caracteres classicamente admittidos, na intimidade dos tecidos, sem determinar lesões mais importantes do que um esboço de reacção inflammatoria.

E por que motivo não se obtem sempre a infecção experimental classica quando se emprega como material infectante o virus filtrado?

A hypothese da inoculação de um pequeno numero de germens não explica essa anomalia. Por menor que tenha sido esse numero, os germens inoculados na phase morphologica de bastonetes acido-resistentes determinam seguramente, como a experiencia o demonstra sempre, o inicio da formação do folliculo tuberculoso, que se organiza mesmo quando o material inoculado é esterilizado, e que se reconhece, da mesma sorte, pela inoculação de productos extraídos do corpo bacillar por meios chimicos, como AUCLAIR demonstrou com a bacillo-caseina.

Por outro lado, vezes ha em que os animaes inoculados com productos filtrados manifestam uma infecção generalizada. As experiencias de VALTIS e de VERDINA isso demonstram. E, como facto contradictorio, se reconhece ainda que os animaes injectados com filtratos de natureza tuberculosa mostram uma maior resistencia á infecção posterior.

Mas, senhores, a fôrma granular visivel, revelavel pelos methodos opticos, se confunde na «poeira granular» com o limite da visibilidade armada. Nada impede que essa materia viva, no limite da phase colloidal, se revele, não mais morphicamente, mas por seus efeitos, attingindo, dessa sorte, o estado ultra-microscopico, invisivel, irrevelavel aos actuaes methodos de investigação optica.

Essa hypothese não é mais gratuita. Foi ella verificada pelas experiencias de CALMETTE e VALTIS, VERDINA e tantos outros, que não puderam encontrar nenhum elemento morphicamente reconhecivel no sedimento dos filtratos. com que experimentaram.

E' por isso e pelas razões que acima alleguei na verificação experimental da tuberculose latente, e que a clinica diariamente comprova, que penso que na *fôrma granular visivel ou na phase invisivel acha-se o segredo do material vaccinante.*

VIRUS FILTRAVEIS. — FÓRMAS INVISIVEIS E INCULTIVAVEIS.
PHASE ULTRAMICROSCOPICA INTEGRANTE DO
CYCLO E DA VIDA

Acabei de vos referir considerar a prova da filtrabilidade como prova secundaria na investigação dos problemas que nos preocupam.

E de facto, si considerarmos as contingencias das quaes a filtrabilidade é funcção, veremos quão fallivel pôde ser esse acto mecanico.

Depende a filtrabilidade de determinada materia não só da qualidade do material do filtro, de sua espessura, de sua capacidade de absorpção e de adsorpção, como ainda da natureza do meio em que se acha em suspensão o material filtrante. A capacidade de filtração de uma cultura microbiana não depende só do tamanho dos germens mas tambem da flexibilidade delles, do gráo de sua adhesão á massa filtradora, do estado physico de cohesão molecular do liquido filtrante, da força de pressão empregada. Bacterias ha que, apesar de apresentarem tamanho sensivel, taes como o *Spirillum parvum* de ESMARCH, o *micrococcus melitensis*, passam através de filtros impermeaveis a outras bacterias.

Assim, a noção do tamanho dos corpusculos filtrados não pôde ser aferida senão approximadamente pela capacidade de filtração (tamanho dos póros das velas). Não ha pois uma relação segura entre a propriedade da filtrabilidade e a propriedade da invisibilidade. E no limite da visibilidade encontramos corpusculos vivos que passam através dos filtros e que são pathogenicos, taes como os *Strongyloplasma* de LIPSCHUTZ, os *Chlamidozoarios* de PROWACZECH.

Nem tampouco a invisibilidade está sempre em relação com o tamanho desses corpusculos. Ella depende ainda não só do seu tamanho como tambem da sua afinidade para as materias corantes ou para os mordentes que as fixam.

O limite da visibilidade nos é dado no microscopico por elementos que attingem 0,25 micra. Além desse ponto, particulas menores só são visiveis á custa do artificio de technica que as torna luminosas em campo escuro. Além dahi só a photographia á luz ultra-violeta permite revelal-as em placa photographica de sensibilidade maior que a retina humana. Attinge-se assim a particulas de 0,12 micra.

A essés agentes invisiveis, apenas demonstraveis por sua funcção pathogenica, denominamos virus, e, como em geral elles passam através de filtros que retêm as menores bacterias conhecidas, dá-se-lhes ainda a denominação de virus filtraveis. E assim a noção de virus filtraveis se aproxima da de agentes invisiveis ou ultra visiveis.

Ora, com o proseguimento de meus estudos sobre tuberculose, eu adquirira a noção de que a fôrma granular era um phenomeno biologico geral ás bacterias e, para isso indagar, orientei investigações sobre bacterias pathogenicas facilmente cultivaveis em meios artificiaes.

Os resultados desses estudos eu apresentei a esta Sociedade o anno passado e delles concluia pela presença da fôrma granular nessas bacterias em uma *phase visivel verificada morphologicamente e na existencia de uma phase invisivel presentida no desenvolvimento das colonias.*

PROBLEMAS DE PATHOLOGIA

A demonstração biologica dessa hypothese tem sido dada ultimamente por varios pesquisadores.

Sem me referir de novo á experimentação em tuberculose, citarei os trabalhos de HAUDUROV sobre o bacillo dysenterico SHIGA e o bacillo de EBERTH, as verificações de FRIEDBERGER sobre esse ultimo germen, confirmadas por BROSNILAWA FEJGIN, as de NICOLLE, BAIL, BREINL e FEJGIN sobre o typho exanthematico.

HAUDUROV toma uma cultura recente de bacillo dysenterico e a ella junta um bacteriophago anti. O phenomeno de D'HERELLE se produz. Filtra a cultura que se tornou clara e conserva o filtrato á temperatura do laboratorio. Ao fim de certo tempo, variavel de alguns dias a muitos mezes, vê apparecer nesse filtrato até então limpo granulos que pouco a pouco augmentam em numero e em volume. Opera-se então uma transformação muito lenta, e afinal acaba-se por verificar no filtrato o aspecto normal de uma cultura do bacillo SHIGA typico que apresenta as reacções classicas fermentativas desse germen. A mesma verificação fez elle com o bacillo typhico, com os paratyphicos, estaphilococcus e enterococcus.

FRIEDBERGER e seus discipulos MEISNER e CECCHINI, experimentando ainda no typho, obtêm material infectante com a emulsão de orgãos de individuos autopsiados e que haviam succumbido a uma infecção typhica. Infectam cobaias das quaes em segunda passagem, com o sangue e emulsão de orgãos elles infectam novamente animaes sãos. Já após essa segunda passagem não conseguem revelar a presença do bacillo typhico, mesmo pelos mais sensiveis methodos de cultura. Entretanto os animaes inoculados apresentam um quadro morbido com uma curva thermica typica.

Nessa occasião a retirada do sangue e inoculação de coelhos com esse material determinam a formação de um forte poder antigenico no sôro desses animaes, contra o bacillo typhico, que se traduz pelo forte poder de agglutinação e formação de anticorpos bacteriolyticos. O poder antigenico assim obtido é muito mais intenso do que o produzido pela inoculação de culturas mortas a 56° — 60°, o que foi ultimamente verificado por CECCHINI.

BROSNILAWA FEJGIN confirma as verificações de HAUDUROV e de FRIEDBERGER, experimentando com bacillos typhicos sujeitos á bacteriolyse por um bacteriophago activo.

O exemplo do typho exanthematico é tambem notavel. As sôro-reacções intensas com o bacillo Proteus x 19, o apparecimento do germen em determinados periodos da molestia, a ausencia de poder infectante nelle, a filtrabilidade do virus, incultivavel, presente no sangue do doente, as fórmas em rickettsia apenas visiveis, não filtrantes, não cultivaveis, virulentas, (verificações importantissimas estas que resultam dos trabalhos de NICOLLE, BAIL, BREUIL e Mille. FEJGIN) falam em apoio da idéa que defendo.

Exemplo tambem frisante é o da *Schwein-pest*: Nesta infecção foi descripto um bacillo como agente etiologico, o bacillo sui-pestifer. A inoculação desse germen determinava um quadro morbido identico á doença espontanea. A formação de anticorpos era conseguida a ponto de se obter immunização activa e producção de sôro therapeutico. Vinte annos mais tarde, SWEINITZ e DORSET demonstraram a filtrabilidade do virus e o primitivo agente perdeu toda sua importancia etiologica.

E' entretanto surpreendente o phenomeno observado, por UHLENHUT, de animaes infectados experimentalmente com o virus apresentarem o bacillo pestifer como infecção secundaria, e animaes tambem immunizados por um sôro activo contra o virus não mostrarem mais receptividade ao bacillo sui-pestifer.

Ainda na epidemiologia vamos encontrar exemplos suggestivos. Na epidemia de Hamburgo em 1892 morreram nos dois mezes anteriores á verificação da epidemia 334 pessoas, de enterite, *sem vibríões*, e no acme da epidemia 2.150 pessoas, com exames positivos.

A estatística nos dá a mortalidade de 54, 3 % nos individuos em que não foram encontrados vibríões, maior que o coefficiente 45, 2 % obtido com a mortalidade dos individuos em que as pesquisas foram positivas.

As epidemias de grippe mostram que o bacillo de PFEIFFER só é encontrado nos doentes em periodo avançado da quadra epidemica. Nos casos iniciaes a pesquisa desse germen é sempre negativa. O mesmo succede com o bacillo de EBERTH, com os dysentericos e com o bacillo da peste nas respectivas quadras epidemicas.

Poderíamos, por esses exemplos, e ainda por outros como os referentes ás febres eruptivas e exanthematicas, onde a pesquisa do factor etiologico tem sido sempre desviada com a verificação da presença de germens supostamente associados (estreptococcus na escarlatina e sarrampo) appproximar a phase filtrante das bacterias pathogenicas ao seu poder aggressivo, virulento e antigenico.

Assim compreenderíamos o periodo de incubação das molestias infectuosas, onde a pesquisa dos factores etiologicos revelaveis pelos actuaes methodos de investigação é sempre negativa, poderíamos compreender ainda os estados de anergia, seguros nessas phases, e a noção dos virus se confundiria com a das toxinas.

Mas, senhores, é cedo para lá chegarmos.

Nova geração será precisa para elucidación de taes problemas.

Prouvera entretanto que para o futuro seja tomado como lemma orientador de novas pesquisas

«que a época da fórma já se mostra esteril, e que assim como no dynamismo da materia estão encerrados os segredos da vida, da mesma sorte nelle se encontrará a chave dos problemas de pathologia».