

Sala 5
Gab. -
Est. 56
Tab. 7
N.º 42



Sala 5
Gab. —
Est. 56
Tab. 7
N.º 42

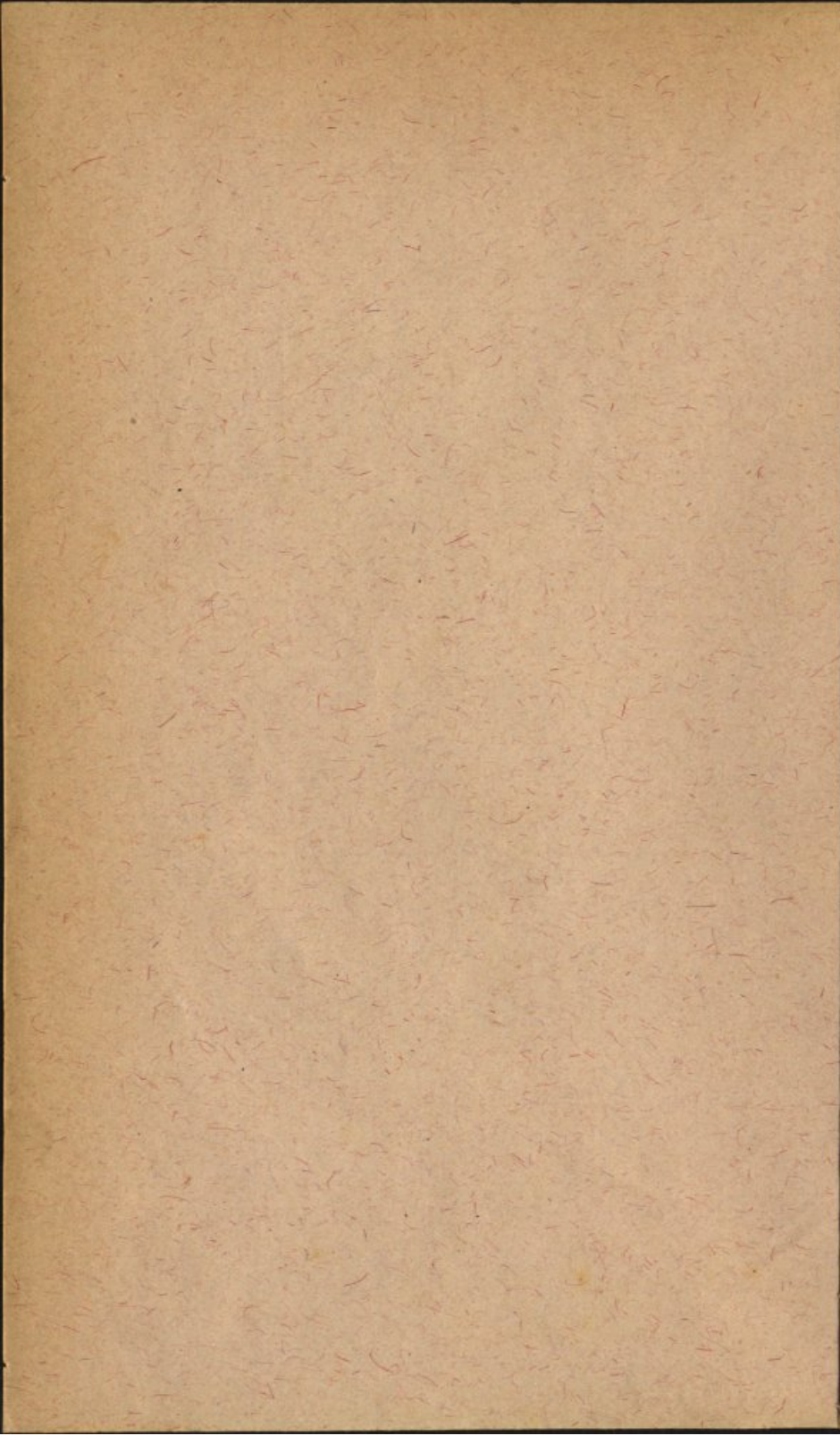


UNIVERSIDADE DE COIMBRA
Biblioteca Geral



1301500459

b 24475385



Handwritten text at the top of the page, partially cut off.

AS. PLOMINS E. AS. SUBSTANTIA ALBUMINOIDES

048

BACTERIAS

AS PTOMAINAS E AS SUBSTANCIAS ALBUMINOIDES

DAS

BACTERIAS

ESTUDOS DE QUÍMICA BACTERIOLÓGICA

AS PTOMINAS E AS SUBSTÂNCIAS ALBUMINÓDAS

BACTERIAS

FRANCO JOSE DE SILVA BASTO

COIMBRA
IMPRESSA DA UNIVERSIDADE
1901

ESTUDOS DE CHIMICA BACTERIOLOGICA

AS PTOMAINAS E AS SUBSTANCIAS ALBUMINOIDES

DAS

BACTERIAS

POR

Francisco José da Silva Basto



COIMBRA
IMPRESA DA UNIVERSIDADE
1894

DISSERTAÇÃO INAUGURAL

LXXXV

ACTO DE CONCESSÃO DE GRÁUOS

1875

FACULDADE DE MEDICINA

DE

UNIVERSIDADE DE COIMBRA

DISSERTAÇÃO INAUGURAL

PARA O

ACTO DE CONCLUSÕES MAGNAS

NA

FACULDADE DE MEDICINA

DA

UNIVERSIDADE DE COIMBRA

THE UNIVERSITY OF CHICAGO

LIBRARY

PHYSICS

PHYSICS

A

MEUS PAES

PREFACIO

Na eleição do assumpto d'este meu trabalho dirigi-me para a experiencia, que deslumbra a vista pelo clarão que irradia. No seu immenso campo assentei arraial na bacteriologia, sciencia utilissima, que produziu na medicina uma revolução sem igual na historia das sciencias biologicas, e que ainda alimenta muitas das suas esperanças.

As bacterias, seres infinitamente pequenos, que representam um papel infinitamente grande, contribuem com notavel contingente para o cyclo evolutivo da materia, de que a phase mais complexa é a vida: realizam o hemicyclo regressivo, desdobrando, oxydando e reduzindo a materia organica, viva e morta.

Se ellas não se intromettessem com o homem, a medicina deixaria-as em paz; mas, como fazem de

algoz em noventa por cento das mortes humanas, move-lhes, e eternamente lhes moverá, guerra sem treguas, scientificamente planeada, para a qual precisa de conhecer a anatomia e a physiologia de seus inimigos.

Escolhi um ponto da physiologia dos microbios, o metabolismo, grande deserto da bacteriologia, apenas interrompido por vicejantes oasis, que testemunham a fertilidade do terreno.

É um assumpto de actualidade.

Basta folhear os recentes archivos de bacteriologia para encontrar nas suas paginas importantes trabalhos que se lhe referem. É certo que durante muito tempo esteve esquecido; mas immerecidamente.

Na realidade, os mais brilhantes fastos da historia d'essa sciencia affirmam que foi a meditação sobre esse ramo da biologia das bacterias, sobre as experiencias relativas aos fermentos, que germinou no genial cerebro de Pasteur a mais util concepção creada nas sciencias biologicas — a natureza microbiana das doenças infectuosas.

É um assumpto de largo alcance.

Do alto d'elle, depois de bem explorado, divisar-se-ão problemas, ainda hoje velados pelo manto das trevas.

No ambito do seu horizonte ha questões de todos

os departamentos da medicina, algumas já resolvidas e outras com esperanças no futuro.

A therapeutica tem nelle fixa a sua vista.

É necessario estabelecer solidas bases a esta sciencia para terminar com os restos de empirismo, ainda tanto em relevo em alguns centros medicos, porque a medicina não pôde viver, sem trahir o seu character scientifico e crear repulsão entre os meios e os fins, á custa da therapeutica empirica, d'onde o homem colheu menos fructo nos vinte e dois seculos de Hyppocrates até Claude Bernard, que no curto reinado da therapeutica physiologica.

Esta é a primeira phase da sua evolução racional, que com o incessante progredir da sciencia irá, cada vez mais, adquirindo uma complexidade decrescente e uma generalidade crescente. A ultima será sobretudo de feição chimica.

Do laboratorio de chimica, depois do naturalista profundar mais o problema da vida, procederão as instrucções para a enfermaria do hospital. Essa sciencia será então a bussola da clinica therapeutica.

Mas para realizar tão elevadas aspirações não pôde dispensar-se o conhecimento do metabolismo das bacterias. Só depois de sabidas as metamorphoses operadas pelos microbios nos organismos

doentes, poderrá traçar-se uma via tão fecunda no departamento das molestias infectuosas.

No dominio da prophylaxia falam da importancia do assumpto as brilhantes experiencias relativas á immunidad.

Mas, se os trabalhos sobre as vaccinas, devidos a Chauveau, Pasteur e Toussaint e a uma pleiade distincta de experimentadores, são incontestavelmente grandiosos, occupam, entretanto, um lugar muito restricto, comparados com os que a sciencia reclama.

É necessario que a bacteriologia estenda o beneficio d'essa eminente descoberta por um maior numero de molestias, sobretudo pelas que zombam ainda das armas da therapeutica.

E como cumpriria ella tão espinhoso dever sem o estudo do metabolismo das bacterias? Quanto tempo não precisaria uma legião de infatigaveis trabalhadores para se desempenharem d'essa obrigação, se não fosse possivel alcançar-se a synthese chimica das vaccinas, que permita generalizal-as ás doencas que as exigem?

Felizmente que a nova orientação, inspirada aos bacteriologistas por este modo de sentir, deixa entrever, embora nos extremos limites do horizonte da previsão, a esperanza da solução do problema.

Relativamente á pathogenia póde affirmar-se

sem receio de contestação, que o estudo do metabolismo das bacterias ha de projectar intensa luz no mysterio que a envolve.

A etiologia já lhe deve muito.

A diagnose de algumas bacterias fundamenta-se em importantes revelações suas; haja vista a do vibrião de Koch. Na segunda parte d'este trabalho apresento alguns elementos que encontrei, de utilidade para a diagnose differencial entre o microbio da epidemia de Lisboa e o vibrião da cholera de Paris.

Se, pela confusão que produziram, as primeiras descobertas de Selmi foram para a medicina legal um «espada de Damocles», hoje a chimica das bacterias constitue a melhor conquista d'aquella sciencia.

Em summa, o assumpto é digno de todos os desvelos da medicina; por isso o escolhi para este trabalho, que, organizado em curto praso por quem reconhece a sua propria insufficiencia, merece benevolencia do leitor.

PREMIERE PARTIE

PRIMEIRA PARTE

PRIMEIRA PARTE

PROLOGO

PRIMEIRA PARTE

Desta obra temo-se que as primeiras ideias sobre
o metabolismo das plantas. Ainda se não pensava
no termo de esse processo seria quando se en-
contravam hipóteses relativas a natureza da
energia vegetal, e a respeito das condições
potenciais físicas, químicas e vitais das plantas.
Essas são as primeiras tentativas para romper
com a escarificação que se impunha às moléculas da
biologia supracitada. O tempo é a metaphysica
concomitante e paralyzante.
Após esse período de hesitação e de luta
de carácter pratico, que conseguiu transmittir

PRIMEIRA PARTE

PTOMAINAS

I

Datam de remota época as primeiras ideias sobre o metabolismo das bacterias. Ainda se não pensava no reino d'esses pequenos seres, quando já se architectavam hypotheses relativas á natureza das emanações putridas, então consideradas como importante factor etiologico na genese das doenças. Era uma das primeiras tentativas para romper com a escravidão que subjugava as molestias ás doutrinas supersticiosas do tempo e á metaphysica commoda e paralysante.

Após esse periodo de phantasia outro surgiu, de character practico, que conseguiu transformar

em convicção scientifica a crença do passado. Penetrou-se, felizmente, no fecundo methodo positivo, que «julga as ideias com a experiencia e a observação dos factos», e que jámais consentira «declarar-se atrevidamente polygenista ou monogenista, amigo ou inimigo da doutrina da evolução, o sabio que nunca entrou num gabinete de anthropologia».

Seybert e Gaspard, physiologistas de renome do ultimo quartel do seculo findo, estudaram nos animaes a acção pathologica dos productos putrefactos, sendo por ella levados a estabelecer um typo morbido de lesão e symptomatologia constantes.

Mas não pararam aqui as investigações de Gaspard. Era necessario ir mais ao intimo do problema; pois muitas substancias, volateis umas e fixas outras, provém da fermentação putrida, e cada uma, ou um complexo d'ellas, póde desempenhar importante papel na genese das septicemias.

Não foi muito longe em tão fertil caminho o trabalho d'este experimentador. Entretanto, uma verdade notavel revelou á sciencia: a relativa innocencia dos productos volateis.

E assim principiaram, embora inconscientemente, os primeiros estudos das transformações, determinadas pelos microbios nos terrenos em que vegetam.

Na realidade, quando apenas se entrevia a sombra de uma inextricavel flora, de que só a anatomia de um limitado numero de especies não escapou á penetrante sagacidade de Linneu, Lamarck e Müller; quando a physiologia d'esses organismos infinitesimales perante as doenças infectuosas era temerariamente presentida por uma escóla genial, mas muito restricta, Gaspard, abrindo a ignorada via dos venenos da infecção putrida, era o primeiro a dirigir um raio de luz para as trevas que então envolviam a nova sciencia da chimica das bacterias.

Até Panum a toxicologia microbiana não teve impulso apreciavel. Confirmaram-se varias vezes os factos revelados por Gaspard, mas não se transformaram.

Aquelle physiologista, produzindo a infecção putrida com os liquidos da putrefacção, filtrados e fervidos, proclamou peremptoriamente a natureza chimica da septicemia; e, reconhecendo a insolubilidade na agua e o arrastamento pela coagulação das substancias proteicas, delineou o esboço da caracterização dos productos microbianos.

Profunda impressão gravaram estes factos, como tudo o que fixa uma ideia importante, vacillante até ahí, numa geração scientifica; e repercutiram ruidoso echo, manifestado por differentes memorias

de pathologistas do tempo e até por concursos, por alguns centros medicos promovidos, sobre a causa da infecção.

Apezar de tanto movimento, as ideias do sabio dinamarquez não soffreram revolução nem evolução notavel até á celebre sepsina descoberta por Bergmann.

Raison, Frèse, Schmitz, Henner e Schweninger restringiram-se a comprovar as ideias de Panum e a reeditar, de quando em quando, a hypothese da natureza diastatica do veneno putrido, ha muito emitida por Virchow com o fundamento da sua grande actividade em quantidade infinitesimal.

Em 1868, Bergmann e Schmiedberg isolaram da levadura em decomposição uma substancia pura, a sepsina, primeiro amorpha e depois crystallizada, cuja acção sobre o organismo do cão era constituida pelo apparatus symptomatico e anatomico da septicemia putrida: vomitos, diarrhea sanguinolenta e gastro-enterite hemorrhagica.

Era o primeiro alcaloide extrahido do metabolismo das bacterias.

Pelo mesmo tempo duas novas especies, com os caracteres geraes dos alcaloides e especificos da atropina e hyosciamina, com os quaes ainda tinham de commum a acção physiologica, foram encontradas por Zuelzer e Sonnenschein.

Finalmente, a quinoidina animal foi, nesta época, extrahida do corpo dos animaes e do homem por Dupré e Jones Bence.

Todos esses trabalhos, porém, sob o ponto de vista da experiencia rigorosa, o unico util á toxicologia, pouca attenção merecem: foram analysados de mistura com muitas impurezas, á excepção da sepsina, que se obteve pura, o que, entretanto, não é o bastante para a julgar uma especie chimica perfeitamente definida.

Começava então a raiar a bacteriologia. Na complexa organização do germen, d'onde desabrochou essa brilhante sciencia, desempenharam um papel primordial os episodios emergentes da experiencia sobre as causas septicemicas; portanto sobre os productos dos microbios.

Eis ahi mais uma prova, de ordem historica, a depôr em defeza da importancia do assumpto d'este meu trabalho.

Entre esses incidentes ha um notavel — a inconstancia do quadro morbido da infecção putrida de Gaspard e Panum, que, apezar de já ser conhecido, não mencionei no bosquejo historico precedente; porque, sendo os auctores que o referiam, vultos secundarios na sciencia e sem a estatura precisa para se collocarem á frente de uma escola, as suas descobertas bem depressa se esqueceram.

Signalo-a neste momento, porque agora ha sabios respeitaveis a subscrevel-a, e porque foi uma poderosa influencia que orientou a opinião medica para a bacteriologia.

Brehm, Petersen e Weidenbaum descreveram, com grande valor na semeiologia da infecção, as convulsões clonicas e tonicas; muitos outros, contudo, Dupuis, Sedillot, Stichs, Raison e Schmitz, não as observaram. Para Gaspard, Virchow, Pannum, Henner e Bergmann, a gastro-enterite hemorrhagica é um phenomeno caracteristico, e pouco frequente em experiencias rigorosamente feitas por Dupuis, Sedillot e Billroth.

Essas contradicções podiam explicar-se pela verdadeira causa, a multiplicidade dos venenos da septicemia. Mas não succedeu assim.

A tendencia do espirito humano para relacionar os phenomenos complexos do universo com uma causa uniforme, mais uma vez se manifestou.

Repugnava á opinião medica acceitar um extenso rol de productos chimicos da putrefacção; por isso abraçou com precipitação a bacteriologia, esperançada em encontrar ahi uma interpretação mais simples do enigma.

Muitos outros factos avigoraram essa nova ordem de ideias, e a encimar os alicerces em que se edificou a bacteriologia, ostenta-se, solida e impo-

nente, a descoberta immortal do chefe da microbiologia franceza sobre a origem vital das fermentações. Depois, essa sciencia floresceu á custa de perseverantes esforços de uma serie grande de infatigaveis trabalhadores de todas as nacionalidades, coroada pelos gloriosos nomes, cheios de admiração e respeito, de Pasteur e Koch.

II

Periodo de Selmi e Gauthier

Entramos em uma nova phase do estudo do metabolismo das bacterias.

No decurso d'este periodo caracterizaram-se substancias derivadas dos microbios, de notavel valor no terreno da medicina legal e toxicologia organica.

São bem celebres, para dispensarem narraçãõ pormenisadora, as pendencias medico-legaes empenhadas entre os mais eminentes chimicos do tempo, que travaram porfiado certamen sobre a natureza vegetal ou microbiana de alcaloides, reconhecidos nos cadaveres de personagens illustres, suspeitos de morte por envenenamento criminal.

O primeiro dos referidos processos-crimes foi o do general Gibbone, em cujas visceras julgaram os peritos judiciaes reconhecer a delphinina, ao passo que Selmi, consultado pela defeza, affirmava

ser essa base, com propriedades chímicas e physiologicas differentes d'aquella substancia, formada pela putrefacção e não de natureza vegetal.

Esta affirmacção, arrojada para a sciencia actual visto Selmi não ter obtido a ptomaina pura e ter trabalhado com extractos impuros, mereceu o assentimento do tribunal, que reintegrou na liberdade o supposto criminoso.

Selmi ainda despertou a admiracção por duas causas celebres e de sensacção.

Na primeira, conhecida no fôro de Cremona pelo processo da viuva Sonzogno, pretendeu demonstrar que as reacções chímicas, attribuidas pelos primeiros peritos á morphina, eram de uma ptomaina cadaverica. Ainda aqui a sentença de Selmi foi respeitosa e acatada pelo tribunal.

Na segunda, a mais notavel de todas e que co-roou a consagração do auctor, travou com Fr. Ciotta, chimico tambem distinctissimo, polemica ardente, colhendo a palma perante o tribunal e a sciencia pela pretendida descoberta de uma pto-estrychnina.

Não era só na Italia que se passavam esses processos; tambem na Allemanha os havia notaveis, como os citados por Otto, Schwarzenbach e Aebi, Th. e A. Husemann, sendo o primeiro, o mais importante, que vou succintamente referir.

Em 1874 no processo de envenenamento de Brandes-Klebs, julgado nos tribunaes de Brunswick, os chimicos legistas encontraram, além do arsenico, uma base, que identificaram com a coniina.

Otto, chimico de reputação, considerou-a, porém, como ptomaina, não só pelas propriedades physicas e chimicas, mas tambem pelo grande poder toxico sobre os organismos, tão notavel, que os medicos combateram no campo dos peritos judiciaes.

Talvez que na serie d'estes processos caiba o de Urbino de Freitas, comquanto succedido numa época diversa.

Pelo menos, não póde affirmar-se, como verdade irrefragavel, a existencia de alcaloides vegetaes nas peças d'esse processo; para isso era necessario que houvesse mais respeito pelos preceitos da toxicologia.

Estas considerações não envolvem desprezo pelos illustres analyistas officiaes, que proferiram parecer em contradicção com as minhas presumpções, e por cuja auctoridade tenho grande veneração. Significam apenas a livre impressão scientifica gravada em meu espirito pelo confronto de seus relatorios com a doutrina expendida em auctores de renome consagrado.

Mas voltemos a Selmi, para seguir a chronologia

dos acontecimentos, interrompida por incidentes de vulto.

O eminente chimico italiano, não obstante a sua morte prematura, com o estudo em cadaveres inhumados e exhumados em épocas precisas, alongou muito a lista de ptomainas, que se não enumero é porque o valor que em tempo obtiveram, é muito maior que o revelado pela chimica rigorosa de hoje.

Selmi não adstringiu a sua actividade a simples investigações de factos concretos, de que emana uma consequencia geral muito util no campo da medicina legal.

No seu espirito nasceu uma concepção profunda sobre o processo pathogenico da infecção.

Vimos que numerosos factores fizeram olvidar os esplendidos trabalhos de Gaspard e Panum, e prepararam a revolução da pathogenia das molestias infectuosas para a opinião da sua origem puramente vital, que as explicava pelas funcções biologicas do microbio: luta pela vida (formula de tantas significações, quantos os auctores que a referem); subtracção de grande quantidade de oxigenio; assimilação dos principaes elementos nutritivos do organismo, onde se desenvolvem; accumulacção em grande numero nos capillares sanguineos; etc.

Essa theoria dominou sem contestação na pathologia até ao momento em que Selmi proclamou

a hypothese, mais tarde confirmada, da formação de productos toxicos pelas bacterias pathogenas, volvendo a geração medica contemporanea para a primitiva ideia: a infecção é uma intoxicação.

A caracteristica d'este periodo, subordinado ao nome dos dois sabios, que mais sobresahiram, é a feição impressa no estudo das ptomainas.

Nos tempos primitivos da chimica bacteriologica uma preocupação sobrelevava nos animos: determinar a causa da infecção putrida. A acção physiologica era a primeira, e quasi a unica, das qualidades procuradas; raras vezes alguma intelligencia de mais largas vistas, antevendo a importancia dos caracteres chimicos, os ensaiava.

Selmi e Gautier, e as suas escólas, mostraram aspirações muito diversas. Marcharam com a ideia fixa na descoberta de ptomainas, quasi sempre por methodos imperfeitos, para servir de guia á toxicologia medico-legal.

Nos seus trabalhos manifesta-se a escravidão á ideia de encontrar alcaloides parecidos com os vegetaes.

Assim:

Morrigia e Battistini caracterizaram um alcaloide, semelhante á curara.

Rorsch e Tassbender, outro, analogo á digitalina.

Nencki, figura saliente nesta ordem de investigações, e cujo principal trabalho terá em outro logar mais particular referencia, encontrou a colli-dina, de propriedades semelhantes a um alcaloide já conhecido.

Surgiram nesta altura os trabalhos de Brouardel e Boutmy. Houve um momento em que se julgou possuir a cobiçada pedra de toque para des-trinçar as ptomainas dos alcaloides. Infelizmente a desillusão não se fez esperar, e esse problema ainda está aberto, sem probabilidades de solução proxima.

Mencionaremos mais adiante a pretendida reacção d'esses auctores para distinguir as duas especies de alcaloides. Brouardel e Boutmy ainda publicaram outros trabalhos.

Julgaram confirmar a existencia de alcaloides cadavericos, analysando, antes e depois da putrefacção, as visceras de um cadaver, durante muito tempo congelado pelo frio; encontrando no ultimo caso uma substancia com os caracteres d'aquella especie chimica convenceram-se de ter achado a prova decisiva da formação de bases no processo putrefactivo. Se tivessem experimentado uma substancia chimica bem definida, então pertencia-lhes essa prioridade; assim, é a Brieger que a sciencia agradece tão relevante demonstração.

No cadaver de um homem morto por envenena-

mento arseniacal e de uma mulher por submersão em agua, onde permaneceu 18 mezes, a analyse chimica revelou-lhes uma substancia com as propriedades da veratrina, mas innocente para os animaes.

Num caso de asphyxia pelo oxydo carbonio e noutro de envenenamento pelo acido cyanhydrico, em que a analyse se realizou muitos dias depois da morte, caracterizaram uma substancia, ainda de propriedades chimicas semelhantes ás da veratrina, paralyzante do coração da rã, mas sem o poder excito-motor.

Finalmente, no cadaver de uma mulher morta, depois da ingestão de uma ave em mau estado de conservação, que tambem victimou mais doze pessoas, deparou-se-lhes outra substancia, chimicamente analoga á conicina. Ignoro as suas propriedades physiologicas, pois não vêm mencionadas na communicação dos auctores á sociedade de medicina legal franceza (1).

Chegamos aos trabalhos de um dos mais eminentes sabios d'este periodo. Refiro-me a Armand Gautier, que continuou a rota traçada pelos seus predecessores; mas o seu espirito, que sempre

(1) *Annales d'hygiène publique*, 3^e série, tom. 4^e.

prestou profundo culto ás sciencias biologicas, não se contentando com augmentar o rol de ptomainas, trouxe para a luz da sciencia delicadas e penetrantes doutrinas, até então occultas no mundo do desconhecido.

A sua vasta sciencia, não lhe mostrando, entre os elementos constitutivos dos animaes e os microbios, outras diferenças, além da impossibilidade da vida isolada d'aquelles, suggeriu-lhe a feliz presumpção de que os animaes tambem deviam formar alcaloides, até ahi havidos como apanagio exclusivo dos vegetaes.

Orientou nesse sentido os seus trabalhos, e concluiu que a xanthina, sarcina, adenina, carnina, creatina, creatinina, sarcosina, etc., cuja origem, fim, classificação e constituição eram desconhecidos, pertenciam á classe dos alcaloides, dando-lhes o nome de *leucomainas*.

Continuou as suas investigações, que alongaram a serie d'esse grupo chimico, que ainda hoje cresce á custa dos seus perseverantes esforços.

Creou assim um ramo novo de uma nova sciencia, destinada a ter predominio sobre as sciencias medicas.

Gautier foi mais longe nas suas previsões: lembrou-se de que a sua accumulção no organismo ou por producção mais abundante ou por elimina-

ção defeituosa, podia conter a genese de muitas auto-intoxicações, e esta suspeita transformou-se numa das melhores conquistas da medicina actual.

Se coubessem no ambito d'esta dissertação as descobertas de Gautier sobre leucomainas, sem duvida tomariam grande numero de paginas, tão extensas são. Mas fallar d'ellas desenvolvidamente era fazer uma digressão muito remota por um assumpto muito differente do metabolismo das bacterias.

Comtudo Gautier, mesmo no campo das ptomainas, ainda sobresahe.

A hydrocollidina, a parvolina e a escombrina, mencionadas num dos capitulos proximos, são, neste ramo da sciencia, titulos de prioridade do sabio chimico francez.

III

Periodo de Brieger

Entramos no periodo investido de maior reputação no metabolismo das bacterias: é a época da escóla allemã.

O nome de Brieger marca uma notavel era na historia d'esse ramo da chimica toxicologica. Foi elle quem lhe communicou o mais veloz impulso, descobrindo numerosas especies, cuja individualidade definiu pelos mais exigentes preceitos da chimica pura.

Até ao advento da sua obra, contentavam-se os bacteriologistas em caracterizar os alcaloides pelas reacções chimicas e experiencia physiologica sobre os animaes; e só excepcionalmente alguém se lembrava de obter qualquer d'elles no estado crystallizado e de lhe determinar a respectiva fórmula, sem o que não é permittido garantir a autonomia especifica de um corpo chimico.

Brieger, num justo esquecimento, chega a afirmar que «jámais os seus antecessores se deram ao trabalho de isolar essas substancias; jámais ousaram apresental-as como individualidades chímicas faceis de caracterizar; jámais, emfim, lhes procuraram a constituição».

Entretanto, uma inquirição imparcial diz que tres nomes, anteriores a Brieger, abrem a historia d'esse brilhante departamento da chimica organica. São os de Gautier, de Etard e de Nencki. Essa trilogia de nacionalidade franceza descobriu alcaloides animaes, cujo estudo fez não só nos traços essenciaes, mas ainda nas mais delicadas particularidades, a que obriga a chimica.

Precederam a culminante obra do sabio allemão a collidina de Nencki, e a hydrocollidina, parvolina e scombrina de Gautier e Etard, caracterizadas com tal rigor, que Brieger jámais excedeu. Não as descrevo aqui porque a orientação do meu trabalho marca-lhes outro logar; mas não significa essa preterição nas paginas d'este livro a ordem por que surgiram nas paginas da historia.

Além d'esses precusores ha ainda Guareschi e Mosso, cujos trabalhos vieram a lume simultaneamente com as primeiras publicações de Brieger. Foi a corindina, isolada da fibrina da putrefacção, o alcaloide com que enriqueceram a sciencia.

Não offusca porém esse insignificante numero de factos o fulgurante brilho da orientação nova que Brieger imprimiu á sciencia. Os seus trabalhos hão de ser citados por todos os historiadores imparciaes, no logar mais nobre da chimica das bacterias.

Dos tribunaes e da sciencia toda merece esse glorioso nome profunda veneração, porque á sua genial intelligencia devem a solução de problemas complexos e fecundos.

É um religioso dever, que jámais será olvidado, reconhecer nas eminentes descobertas do sabio allemão o criterio da maior importancia para julgar os casos mais delicados de toxicologia medico-legal.

Foi elle quem fez penetrar deslumbrantes fachos de luz até aos mais remotos escaninhos da biologia dos infinitamente pequenos; e ahi dissipou as trevas em que a ignorancia da metaphysica mergulhava o mais util dos problemas da medicina — a pathogenia.

Foi elle quem traçou o verdadeiro caminho aos chimicos peritos para esclarecerem as mais accidentadas questões da toxicologia criminal.

Depois dos seus trabalhos jámais sahirão impunes do tribunal os criminosos de mais ardil, e nunca os innocentes soffrerão injusta condemnação reclamada pelo clamor da turba ignorante.

Em summa, a obra de Brieger, primeiro espar-gida pelos jornaes e depois condensada num ex-celleute livro (1), constitue o pedestal da toxicologia criminal.

*
* *
*

A primeira ptomaina estudada por Brieger foi a peptoxina, sobre que pouco me demoro por não ser um producto bacteriano; é mais apropriada para o capitulo das leucomainas da chimica biologica. Se a refiro aqui, posto que superficialmente, é por que essa especie, cuja independencia é incontestavel, tem servido, nas mãos dos inimigos d'essa fertilissima sciencia, de persistente arma de com-bate.

Digerindo fibrina por succo gastrico recente, á temperatura do sangue e ao abrigo da putrefacção, Brieger extrahi da peptona, resultante do desdo-bramento com hydratação, uma substancia que, apezar de a não obter no estado crystallizado nem

(1) L. Brieger. *Microbes, Ptomaines et Maladies*, traduct. de Roussy e Winter, Paris, 1887.

lhe determinar a fórmula chimica, considerou como uma ptomaina, pelas reacções chimicas, que são as dos alcaloides, e pela acção pathogena que em mui pequena quantidade exerce nas rãs e nos coelhos, exactamente como esse grupo de corpos chimicos.

Essa substancia foi extrahida por um dos processos do methodo geral de Brieger para a extracção dos alcaloides cadavericos.

Vou referir esse methodo, e em cada uma das ptomainas de que me occupar, delinearei os traços geraes de cada processo.

Eis o methodo geral:

Depois de reduzidas a polpa as substancias solidas, submettem-se á exhaustação pela agua acidulada com acido chlorhydrico, á temperatura da ebullição, durante tempo variavel, para extrahir os alcaloides, as substancias collagenas, alguns albuminoides, etc. Filtra-se a mistura, e evapora-se o liquido, a banho-maria, até á consistencia de xarope. D'este extracto xaroposo exhaurem-se pelo alcool os corpos soluveis, comprehendidos os alcaloides. D'este soluto complexo, por successivas precipitações pelo chloreto mercúrico, chloreto de platina, chloreto de ouro, acido sulfhydrico, etc., empregados isoladamente ou em combinação, conforme os casos, retiram-se os alcaloides, cuja puri-

ficação se completa por crystallizações e recrystallizações em agua ou alcool.

Este methodo de extracção e os processos subordinados apreciar-se-iam melhor, applicando-os praticamente; mas não o pude fazer, porque exigem grande quantidade de materias de analyse, onde as bacterias levavam muito tempo a desenvolver-se. Entretanto não devia furtar-me a dar d'elle uma ideia, que, com os conhecimentos de chimica apropriados, permite fazer a critica da descoberta dos alcaloides animaes.

Brieger, na extracção da peptotoxina, seguiu este processo: tratou o extracto alcoolico pelo acetato neutro de chumbo; separou o precipitado por filtração; eliminou o chumbo pelo hydrogenio sulfurado; purificou pelo ether; e, finalmente, dissolveu o precipitado no alcool amylico.

A peptotoxina não pôde ser obtida por alguns analysts, entre outros por Salkovsky, concluindo d'ahi esses chimicos que tal ptomaina é um producto artificial, chegando Bouveret e Devic a filiar a genese d'essa substancia na acção combinada do alcool e acido chlorhydrico sobre as substancias proteicas.

Tudo isso, porém, perde o valor que parecia ter, attendendo a que a quantidade de acido chlorhydrico empregado é manifestamente insufficiente

para produzir a supposta decomposição, e, sobretudo, a que Brieger demonstrou a differença de toxicidade das diversas peptonas. Este facto é significativo, e nelle está contida a razão das divergencias.

Ptomainas da putrefacção

I

Ptomainas da carne de mammiferos, putrefacta

A neuridina e a nevrina foram as ptomainas encontradas, depois de cinco dias de putrefacção, em diversos animaes.

Neuridina. Tem a seguinte fórmula determinada pela analyse elemental do chlorhydrato: $C^5H^{14}Az^2$.

Para obter esta base precipita-se pelo chloreto mercurico o liquido extractivo aquoso, depois de filtrado; decompõe-se o precipitado pelo hydrogenio sulfurado, e concentra-se o liquido a banho-maria, até apparecerem crystaes no fundo do vaso, que são de chlorhydrato de neuridina.

Manifestam-se nella as reacções chimicas geraes

dos alcaloides e algumas especificas de secundario valor no estado actual da sciencia.

É aqui apropriado logar para me occupar da distincção chimica dos alcaloides vegetaes e animaes.

Em tempo, Brouardel e Boutmy affirmaram que a côr azul, produzida pelo ferrocyaneto de potassio e perchloreto de ferro, era caracteristica das ptomainas. Esta reacção, porém, já está julgada na sciencia, como illusoria. Brieger e Gautier crêem que é propria da peptona; seja qual fôr a sua origem, a verdade é que se não manifesta em numerosas especies de alcaloides cadavericos.

Igual sorte teve a reacção de Bettink e Dissel.

Dizem esses chimicos: dissolvendo um milligramma de ptomaina numa gotta da solução centesimal de acido chlorhydrico, ajuntando-lhe outra gotta da solução de 2 grammas de perchloreto de ferro em 2 centimetros cubicos da dita solução, diluindo esta mistura em 100 centimetros cubicos de agua, e addicionando 0,5 grammas de anhydrido chromico, fórma-se um liquido, em que o ferrocyaneto de potassio produz côr azul da prussia.

Brieger, na critica a esta reacção, diz que se não manifesta a referida côr em nenhuma das suas ptomainas. Este facto define bem o seu valor.

A neuridina pura é inoffensiva.

Nevrina. Eis o processo empregado por Brieger para a preparar: ferve-se com carvão animal o liquido aquoso, em que se precipitou o chlorhydrato de neuridina, para arrastar todas as materias colorantes; filtra-se; evapora-se; exhaure-se pelo alcool absoluto; precipita-se pelo chloreto de platina; decompõe-se o precipitado pelo acido sulfhydrico, em agua; evapora-se; e exhaure-se pelo alcool, que, evaporado no vacuo, deposita crystaes com a fórma acicular.

Na dose de 2 a 5 milligrammas, injectada no sacco dorsal da rã, o chlorhydrato de nevrina determina paresia e anesthesia e, passado algum tempo, a paralysisia do coração em diastole.

Nos mammiferos, que habitualmente servem para a experiencia physiologica, produz uma intoxicação, apenas variavel na intensidade com as differentes especies. São estes os symptomas observados no coelho: salivação abundante, dyspnea violenta quanto ao numero e ao esforço, retardamento das pulsações cardiacas e, finalmente, paralysisia em diastole, myose, paresia dos membros e contracções clonicas.

Analogia da nevrina da putrefacção com uma leucomaina e um alcaloide vegetal. A nevrina da putrefacção lembra, pelo nome, a nevrina physiologica, relativamente abundante no tecido nervoso, e que

em tempos idos teve grande voga na cura da diptheria.

Essas duas bases não differem nem pelos caracteres physicos e chimicos, nem pelos physiologicos. Foi Brieger quem as identificou.

Começou por determinar a constituição da nevrina do commercio, onde encontrou tambem a cholina, precipitando-a do preparado commercial no estado de chloroplatinato e chlorourato, cuja analyse elemental deu estas fórmulas: $(C^5H^{12}Az)^2PtCl^6$ e $C^5H^{12}AzAuCl^4$. D'ahi concluiu a referida identidade.

Mas não se restringiram a isso as investigações do eminente chimico. Reforçou essa conclusão com provas chimicas e physiologicas.

Experimentando a nevrina commercial no coelho, viu desenrolar-se um cortejo morbido, semelhante ao da nevrina da putrefacção: as mesmas perturbações da motilidade, sensibilidade, cardiacas, dyspnea, secreções, etc.

Sob o ponto de vista chimico, o mesmo quadro commum de reacções.

Não é só com a nevrina do tecido nervoso, que se identifica a base de que vimos fallando. Ha ainda um alcaloide vegetal, a muscarina, da *ammanita muscaria*, com que tambem tem de commum os caracteres physicos da crystallographia, o quadro

chimico de reacções e o apparatus symptomatico da toxicologia, admiravelmente descripto, ha bastante tempo, por Schmiedeberg e Koppe.

Não pertence a Brieger a prioridade d'essa identificação. Schmiedeberg e seus discipulos, e Hoppe-Seyler, desde muito a veem sustentando. Mas as ideias, proclamadas por estes auctores, não tiveram o assentimento do publico medico, como depois do parecer de Brieger.

Origem da nevrina. Brieger suppõe que a nevrina provém da cholina por perda de uma molecula de agua, estabelecendo esta hypothese sobre a possibilidade da equação de origem, as respectivas relações, e o desaparecimento da cholina com os progressos da decomposição.

Ultimamente, da carne putrefacta do cavallo, Brieger extrahiu, seguindo os preceitos do seu methodo, a mydatoxina, a methylgadinina e a mydina.

Methylgadinina. Assignalou-lhe a fórmula: $C^8 H^{18} Az O^2$. Em dóse elevada determina convulsões tonicas, e pára o coração em diastole.

Mydatoxina. A fórmula empirica é: $C^6 H^{13} Az O^2$. Não é toxica.

Mydina. Fórmula empirica: $C^8 H^{14} Az O$, determinada pela analyse centesimal do picrato. É muito

instavel, decompondo-se facilmente pela distillação. Funde-se a 195°. Não é venenosa.

Pouchet encontrou na carne putrefacta duas bases, que não denominou, nem estudou completamente. Designou-lhes as fórmulas provaveis: $C^7H^{18}Az^2O^6$; $C^5H^{12}Az^2O^4$. Têm a propriedade de moderar os reflexos.

II

Ptomainas do peixe putrefacto

Até Brieger eram excepçoes as analyses do peixe em bom estado de conservação e putrefacto, e, comtudo, é esse um dos assumptos de maior importancia para o clinico e para o medico legista.

Á clinica revelarão os trabalhos do eminente chimico a etiologia de muitos estados patholicos. Basta, para o demonstrar, citar o caso referido por Roussy e Winter.

Em fevereiro e março de 1885, grassaram numerosas intoxicações em Kharkow, depois de uma abundante alimentação de esturjão.

Os doentes soffriam estes symptomas: dyspnea,

enfraquecimento cardíaco, hypothermia, retenção de urinas e materias fecaes, pallidez da pelle, seccura das mucosas, ptose e mydriase.

Estas molestias, que surprehenderam os medicos, foram rigorosamente relacionadas por Anrep com a ingestão d'aquelle peixe, putrefacto.

Realmente, esse professor chegou pelos methodos de Stas-Otto, Dragendorff e Brieger a isolar do peixe suspeito, do conteúdo gastro-intestinal dos doentes e das visceras dos mortos, ptomainas, cuja identidade demonstrou de uma maneira irrefragavel pelos caracteres physicos, chimicos e physiologicos.

Ainda mais: os symptomas, produzidos nos animaes, constituiam um quadro analogo ao da intoxicção.

Antes de Brieger, já Gautier e Etard tinham analysado o peixe cavalla, decomposto.

Servindo-se do methodo do primeiro chimico, conseguiram extrahir substancias de aspecto oleoso e com as reacções geraes das ptomainas.

Precipitando-as no estado de chloroplatinato, cuja analyse elementar realizaram, julgaram poder identificall-as com a *hydrocollidina* ($C^8H^{13}Az$) e *parvolina* ($C^4H^{13}Az$).

Brieger, criticando os trabalhos dos chimicos francezes, põe em relevo as differenças entre essas

fórmulas e a composição centesimal achada, suspeitando, por isso, que as mencionadas bases são productos artificiaes, as carbylaminas, semelhantes ás extrahidas por Mosso e Guareschi por um processo analogo.

Entretanto, são as ideias da escola allemã as consagradas pela sciencia. O seu glorioso chefe isolou do bacalhau, submettido á putrefacção durante cinco dias, á temperatura do estio, as seguintes bases: neuridina, ethylena-diamina, muscarina e gadinina.

Já fiz o estudo da neuridina, e, por isso, só me occuparei do processo extractivo, cujo conhecimento é indispensavel para estudar as outras bases.

Depois de filtrada a maceração de bacalhau, evapora-se o liquido até á consistencia de xarope, que se exhaure pela agua; ajunta-se a esta o chloro mercurico e filtra-se; decompõe-se o precipitado, misturado com agua, pelo acido sulphydrico; evapora-se o liquido e exhaure-se o residuo pelo alcool, que, durante a evaporação, abandona crystaes aciculares.

A formula empirica do chloroplatinato d'esta base é a da neuridina.

Ethylena-diamina. O liquido, d'onde se precipitou o chloro-platinato da base anterior, deixa depois da evaporação um residuo; decompondo-o, mistu-

rado com agua, pelo acido sulfhydrico, apparece um precipitado; separando-o por filtração e adicionando ao liquido obtido chloreto de platina, fórma-se novo precipitado, com a fórma crystallographica de palheta, ou lamellar.

É a ethylena-diamina animal, para cujo chlorplatinato a analyse centesimal estabeleceu a seguinte fórmula empirica: $C^4 H^8 Az^2 2H Cl Pt Cl^4$.

Os ratos e os porquinhos da India são os animaes mais sensiveis a esta ptomaina, depois as rãs e, finalmente, os coelhos, que para se intoxicarem exigem uma quantidade relativamente grande.

Resumidamente, é este o cortejo de reacções physiologicas: torpôr do systema nervoso, dyspnea, mydriase, hypersecreção mucosa, paresia dos movimentos e enfraquecimento cardiaco até á paralyisia em diastole.

Os trabalhos de Brieger vão mais além: identificam pelos caracteres physicos, chimicos e physiologicos, a ethylena-diamina animal com a synthetica, preparada por Cloëz. D'este facto transparecem com evidencia importantes consequencias medico-legaes.

Frisemos bem: ahi está mais uma ptomaina, que tambem se fórma no cadaver humano, e que a sciencia não sabe distinguir de um alcaloide toxico. Que terrivel arma, nas mãos de um envenenador!

Muscarina. Como já me referi a esta base no capitulo das ptomainas da carne em putrefacção, não me demoro aqui.

Gadinina. Na mistura dos liquidos, de que foram extrahidas as especies anteriores, sob a influencia do excicador depositam-se crystaes, de côr amarella de ouro, com a fórma lamellar. O acido sulfhydrico transforma-os num sal de chlorhydrato, crystallizavel na fórma acicular, em solução alcoolica.

Brieger assignala á base correspondente a fórmula: $C^7H^{18}AzO^2$, por emquanto provisoria.

Experimentada nos animaes, não se lhe revelaram propriedades toxicas.

É conhecida por gadinina.

Triethylamina. Obtem-se distillando com lexivia de potassa o liquido d'onde foi precipitado o chloroplatinato da base anterior, depois de separar toda a platina pelo acido sulfhydrico, recebendo o producto de distillação no acido chlorhydrico e adicionando platina.

A analyse centesimal do chloroplatinato assim formado conduz á fórmula: $(C^2H^5)^3AzHCl^4PtCl$.

III

Ptomainas do queijo putrefacto

Sucedem com frequencia os casos de envenenamento pelo queijo em decomposição, manifestado, segundo a affirmação dos clinicos, por colicas, vomitos, diarrhea, vertigens, diplopia, angustia precordial, collapso, etc.

Sente-se desde muito a necessidade, não só theorica mas ainda therapeutica, de conhecer o toxico ou toxicos pathogenas nestas circumstancias.

Não obstante numerosas analyses, incluindo as de Brieger, o problema ainda não está de todo resolvido.

O queijo maduro é um alimento já em putrefacção, pois que o processo da maturação não é de outra natureza; entretanto, as ptomainas d'esse estado, se realmente existem, não são toxicas, e a deterioração, capaz de produzir envenenamento, deve ser uma putrefacção mais adiantada ou differente; porque, como se sabe, esta é um complexo

de processos distinctos e não um só, variando com a natureza da substancia, o tempo, e muitas outras circumstancias, indeterminadas algumas.

Brieger estudou as ptomainas do queijo molle, preparado com leite de vacca. Eis o processo:

No calor forte do estio submete-se á putrefacção cinco kilos de queijo, durante seis semanas; filtra-se a mistura; ajunta-se chloreto mercurico; separa-se o precipitado por filtração; exhaure-se pelo alcool, bem como o residuo do liquido filtrado, depois de evaporado; addicionando chloreto de platina aos dois liquidos extractivos apparece um precipitado em cada um.

O primeiro é de neuridina, com que apresenta de commum os caracteres chimicos, physicos, physiologicos e analyse centesimal.

É o outro de:

Trimethylamina, que ainda não está completamente estudado.

Na agua fria transforma-se em crystaes aciculares de côr vermelha-alaranjada. Pela analyse elemental reconheceu-se só a proporção centesimal de platina, que conduziu Brieger a identificall-o com a amina, que serve de epigraphe a este paragrapho.

Ultimamente o sr. Ch. Lepierre, distincto professor de chimica industrial na Escóla Brotero de Coimbra, encontrou uma nova ptomaina num queijo

da Serra da Estrella, que produzira perturbações digestivas nas pessoas que d'elle haviam comido.

Seguiu o methodo de Gautier para a sua extracção.

O chlorhydrato crystalliza na fórma acicular. Pela analyse elemental chegou a estabelecer-lhe a fórmula: $C^{16}H^{23}Az^2O^4$. Precipita por alguns reagentes geraes dos alcaloides, mas não pelo tannino. Inoculou numa das veias auriculares do coelho cinco centigrammas d'essa base dissolvida num centimetro cubico de agua esterilizada, que não produziu nenhum symptoma apreciavel. Misturou a mesma quantidade com um ovo cozido, que um porquinho da India comeu, e viu manifestar-se-lhe, durante tres dias, abundante diarrhea.

IV

Ptomainas da gelatina putrefacta

A gelatina tem direito a um capitulo.

Esquecel-a seria desprezar a etiologia de muitos estados morbidos, e abandonar valiosos documentos das pericias medico-legaes.

Não entra essa substancia, em grande quantidade,

em a nossa alimentação? Não participa da estrutura dos órgãos humanos? Incontestavelmente.

E, nessas circumstancias, que fructuosos ensinamentos se não adivinham no seu estudo? Quantos problemas importantes, uteis á medicina legal, á pathologia e á therapeutica, não encontrarão ahi rigorosa solução?

Mais ainda: quando mesmo essas razões não pugnassem pelo direito de referencia que merece a gelatina, defendia-o um motivo de outra ordem, de grande consideração.

As ptomainas da gelatina putrefacta recordam o nome de um grande vulto da chimica das bacterias, cuja historia injustamente lhe não marca o lugar a que tem jus.

É Nencki. Foi, na realidade, este eminente chimico um dos primeiros a romper com a tradição, que subjugava a chimica do tempo aos grosseiros e infieis processos de caracterização dos alcaloides e das ptomainas.

A sua vasta e lucida intelligencia comprehendeu a sciencia, quando ainda a escondiam as trevas. O seu espirito intuitivo foi ferido por hypotheses relevantes, transformadas em verdade pelo incessante progredir da sciencia.

Nencki adivinhou a insufficiencia dos antigos methodos de identificação.

Previendo a variabilidade dos caracteres chimicos e as reacções physiologicas dos alcaloides e das ptomainas nos extractos impuros, verberou os methodos correntes, e applicou nos seus trabalhos o rigor da chimica pura.

Previendo a analogia chimica e physiologica de algumas especies de alcaloides vegetaes e animaes, foi um dos introductores na toxicologia da fórmula chimica, como supremo meio de caracterização.

Basta olhar para a seguinte analyse, feita no tempo em que a chimica não tinha a exactidão de hoje, para se apreciar o rigor que revestia os seus trabalhos.

Isophenyl-ethylamina. Foi a base que isolou da gelatina putrefacta pelo processo que vou descrever.

Durante cinco dias, á temperatura de 40°, deixa-se putrefazer a mistura de soluto de gelatina e pancreas de boi; acidifica-se levemente com acido sulfurico e distilla-se, algum tempo, para expulsar os acidos gordos volateis; ajunta-se agua de baryta e distilla-se novamente, recebendo os vapores no acido chlorhydrico; evaporando o acido, formam-se crystaes ammoniacaes e crystaes aciculares rhombicos, que se extrahem pelo alcool, onde recrySTALLIZAM.

A analyse elementar do seu chloroplatinato levou

Nencki a estabelecer empiricamente a fórmula:
 $(C^8 H^{12} Az)^2 2H Cl Pt Cl^4$.

Brieger não encontrou essa base nas suas analyses sobre a mesma materia, o que não prova contra a sua existencia.

O processo putrefactivo, mais uma vez o repito, é um complexo de processos distinctos com phases diversas, dependentes de circumstancias variaveis, algumas ainda indeterminadas. Esta consideração deve, provavelmente, conter o motivo de ao sabio allemão se não deparar a isophenyl-ethylamina.

Brieger seguiu outro caminho nas suas investigações.

Evaporou a solução de gelatina exposta á putrefacção durante dez dias e acidificada; esgotou, varias vezes, o residuo pelo alcool, que, por sua vez, foi tambem evaporado; dissolveu o novo residuo em agua, que ferveu com carvão animal; depois de nova evaporação e exhaustação pelo alcool, o chloreto de platina formou um precipitado de chloroplatinato de uma base.

A analyse elemental revelou ser a neuridina.

Dimethylamina. O liquido de precipitação da ptomaina antecedente depositou, consecutivamente á evaporação, longos crystaes aciculares, que, transformados em chloroplatinato, têm uma com-

posição centesimal, de que deriva a fórmula:
 $(\text{Az H}(\text{CH}^3)^2 \text{H Cl})^2 \text{Pt Cl}^4$.

Eliminando, pelo acido sulfhydrico, a platina do liquido de crystallização da dimethylamina, a analyse revela a existencia de um outro alcaloide, ainda incompletamente estudado, que Brieger supõe ser a muscarina.

V

Ptomainas do cadaver humano

Entramos finalmente no capitulo mais importante que a chimica bacteriologica offerece ás lucubrações do medico. Sem duvida, o medico não póde desconhecer as ptomainas da carne, do peixe, do queijo, em summa, de todos os generos alimentares, porque ahi colhe fructuosos ensinamentos para a etiologia, para a pathologia e para a therapeutica. Mas ignorar os alcaloides cadavericos é tornar-se cúmplice do ruido selvagem que reclama a condemnação de um innocente. Pôr á margem da sua linha de conducta o estudo das ptomainas dos cadaveres, é desprezar o cumpri-

mento de um dever, que lhe impõe a sciencia e a sociedade.

Por isso não me arrependerei, ao chegar ao fim d'este capitulo, de ter dado uma descripção meticolosa do assumpto, do mesmo modo que me não peza ter dado aos anteriores um desenvolvimento apparentemente lato.

Á priori parece não servirem para nada as experiencias realizadas em cadaveres que não soffreram a putrefacção natural, e que as conclusões emergentes de experiencia diversa poderão ter um valor scientifico sob o ponto de vista da chimica pura; mas utilidade practica nos dominios da sciencia medica, não a deixa prever a theoria.

Entretanto, Brieger affirma-nos, com toda a sua immensa auctoridade, que não são diversos os resultados da putrefacção natural e artificial, comtanto que se procure identificar as condições do processo de decomposição. E os seus esplendidos trabalhos sobre a putrefacção humana, que são a biblia da toxicologia medico-legal, foram realizados nessas circumstancias.

Entremos nelles. Analyseemos a grandiosa coroa da nova sciencia fundada por Brieger, que colheu os louros na chimica, na medicina, na toxicologia e emfim na sociedade.

Demonstração do apparecimento precoce de ptomainas

Filtra-se a quente a maceração das visceras thoracicas e abdominaes, retiradas vinte e quatro horas depois da morte, em agua levemente acidulada com acido chlorhydrico; evapora-se o liquido filtrado até á consistencia xaroposa; exhaure-se o residuo pelo alcool amylico; adiciona-se a este, chloreto de platina; e do precipitado formado extrahem-se as partes soluveis na agua. Assim se obtem o chloroplatinato de uma ptomaina, que, vindo misturada com diferentes impurezas, póde purificar-se pelo seguinte methodo de Brieger: decompõe-se pelo acido sulfhydrico; exhaure-se pelo alcool e evapora-se este liquido; dissolve-se o residuo em agua e precipita-se pelo chloreto de ouro.

Para o sal de ouro a analyse centesimal revelou a fórmula: $C^5 H^{14} Az O Cl Au Cl^3$, que pertence ao chloreto de cholina. É de importancia capital este facto.

Desde que se tornou uma aquisição da sciencia, não é permittido a nenhum chimico perito affirmar a ausencia de ptomainas num cadaver sujeito a exame medico-legal, sob o pretexto de ter decorrido

pouco tempo depois da morte. É um erro e um crime tal conducta.

Brieger estudou as ptomainas da putrefacção cadaverica progressiva, em órgãos diversos e em circumstancias tambem differentes. Concluiu d'essas experiencias que os alcaloides das visceras putrefactas variam com os periodos do processo de decomposição, com os órgãos de analyse e com as circumstancias concomitantes.

**Demonstração da variabilidade de ptomainas
com os órgãos analysados e o tempo de putrefacção**

a) *Analyse dos intestinos, pulmões, coração, fígado e rins, submittidos á putrefacção durante quatro dias, a temperatura moderada.*

Eis o processo que Brieger recommenda:

A maceração aquosa d'estes órgãos, acidulada, filtrada e evaporada, deixa um residuo, que se exhaure pelo alcool; precipita-se este pelo chloreto mercurico; decompõe-se o precipitado, misturado com agua, pelo hydrogenio sulfurado; filtra-se e evapora-se o liquido.

D'este modo depositam-se cristaes, que, pelos caracteres physicos, chimicos e pela analyse ele-

mentar, foram identificados com o chlorhydrato de neuridina.

Nos liquidos, d'onde se extrahe essa substancia, ha um sal muito soluvel no alcool, cujo chloroplatinato crystalliza sob a fórma lamellar. Brieger não conseguiu identifiqual-o, tão pequena era a quantidade que pôde isolar. Para isso empregou o processo seguinte:

Em vez do chloreto mercurico para precipitar o liquido alcoolico, emprega-se um soluto alcoolico de acido picrico, e o precipitado recrystalliza-se em agua fervente.

A analyse elemental revela ser de picrato de neuridina.

O liquido alcoolico, de que se extrahe o picrato de neuridina, fórma depois da alcalinização novo precipitado.

Brieger fez-lhe a analyse, incompleta é certo, que o levou a presumir ser de cholina.

b) *Analyse do figado e baço, depois de quatro dias de putrefacção, a temperatura moderada.*

Não apparecem vestigios de neuridina, em regular quantidade no caso anterior, mas em compensação fórma-se a trimethylamina, apesar da putrefacção se realizar nas mesmas circumstancias.

O precipitado pelo chloreto de platina no extracto alcoolico, depois de decomposto pelo hydroge-

nio sulfurado, transforma-se em chlorourato, e purifica-se por crystallizações e recrystallizações successivas.

Brieger viu pela analyse centesimal e mais propriedades que era um sal de cholina.

O liquido que a continha, pela acção do acido sulfhydrico dá novo precipitado de chlorhydrato de trimethylamina.

Mas a neuridina, segundo affirma o chimico allemão, nunca apparece, realizando-se a experiencia nas mesmas condições.

c) *Analyse dos pulmões, coração, figado e rins, depois de quatro dias de putrefacção, a temperatura moderada.*

Formam-se duas bases novas, a cadaverina e a putrescina. Como o tempo de putrefacção é o mesmo aqui e nas analyses anteriores, a sua filiação na natureza diversa dos orgãos é clara.

No extracto alcoolico da materia de analyse, obtido, segundo o methodo geral, depois da precipitação pelo chloreto mercurico, faz-se actuar o chloreto de platina, que fórma um precipitado com o aspecto acicular e lamellar.

Cadaverina. O primeiro, purificado por crystallizações e recrystallizações successivas, transmuta-se em uma nova fórma crystallographica: sistema rhombico.

A analyse elementar d'este sal, realizada por Brieger, demonstrou a constituição: $C^5H^{16}Az^2$, que confirmou pela analyse do chlorourato, obtido por decomposição do chloroplatinato pelo acido sulfhydrico e por acção consecutiva do chloreto de ouro.

É a segunda diamina encontrada nos cadaveres humanos.

Putrescina. É a terceira diamina que Brieger isolou dos cadaveres.

Os crystaes lamellares, misturados com a cada-verina, constituem este novo alcaloide, cuja pouca solubilidade em contraste com a solubilidade pronunciada d'aquella base, permite obtel-a pura.

A fórmula empirica, derivada da analyse centesimal, é: $C^4H^{12}Az^2$.

Duas outras bases, já conhecidas, existem nos liquidos d'onde se exauriram a putrescina e a cada-verina. O chloroplatinato de uma crystalliza na fórmula acicular, e a analyse centesimal revelou a composição da neuridina; o da outra apresenta-se com o aspecto lamellar, e a base correspondente é a cholina.

d) *Analyse do figado e baço, submettidos á putrefacção durante sete dias.*

Não me demoro nesta analyse porque não revela

novas ptomainas. Entretanto, ha um facto notavel, digno de menção: a cholina, que é a primeira base da putrefacção, desapareceu aqui, decorridos sete dias sobre o começo do processo de decomposição.

A trimethylamina é muito abundante.

e) *Analyse do figado e baço, submettidos á putrefacção durante tres semanas.*

Brieger isolou, com algumas bases conhecidas, duas novas: a saprina e a mydaleina.

Estudemol-as:

Esgota-se pelo alcool a massa putrefacta; addiciona-se chloreto mercurico ao extracto, de que resulta a formação de um precipitado, que, decomposto pelo acido sulfhydrico, é insolavel no alcool, onde crystalliza com a fórmula acicular.

A analyse elemental designou-lhe a fórmula da putrescina, confirmada pela analyse do chlorourato da mesma base. No alcool, que não dissolveu essa ptomaina, precipitam-se crystaes por evaporação, que se liquefazem no ar humido e se transformam pelo ouro em chlorourato, cuja analyse centesimal conduziu Brieger a assignalar-lhe a fórmula: $C^5H^{16}Az^2$, commum á cadaverina e á saprina.

No caso presente os caracteres crystallographicos e de deliquescencia pugnam pela cadaverina. Uma parte do mesmo alcool, addicionado de chlo-

reto de platina, deposita um precipitado, onde a analyse demonstrou a mesma fórmula empirica, insolúvel na agua, que o crystalliza na forma rhombica. Estes caracteres indicam a existencia de cadaverina.

Saprina. Nas aguas de crystallização da cadaverina a evaporação produz crystaes sedosos aciculares, cuja analyse, feita por Brieger, lhe marca esta fórmula: $C^5 H^{16} Az^2$. É a saprina, de que já designei alguns caracteres.

A saprina e a cadaverina são isómeros, têm a mesma composição centesimal, propriedades químicas muito semelhantes e caracteres physicos muito differentes, que servem de seguro criterio de differenciação.

O chloroplatinato de cadaverina é pouco solúvel na agua, e muito o de saprina. Os crystaes de chloroplatinato de cadaverina pertencem ao systema rhombico, e os de saprina ao acicular, com agulhas sedosas parallelamente dispostas. Finalmente, o chlorhydrato de cadaverina liquefaz-se no ar humido e combina-se com o ouro, e nenhum d'estes caracteres existe na base nova.

Mydaleina. Das aguas de crystallização da saprina retirou Brieger um chloroplatinato, cuja analyse centesimal, incompleta, não lhe permittiu estabelecer a fórmula empirica.

Pelos caracteres physicos, chimicos, physiologicos e analyse elementar não pôde identifiqual-a com nenhuma ptomaina conhecida. Inclina-se a crer que é uma diamina. Deu-lhe o nome de mydaleina.

É de difficil crystallização, que pôde obter-se sob a fórma acicular, depois de uma demora prolongada no excicador. Não se liquefaz no ar humido.

Tenho-me abtido de fazer referencias á acção physiologica das ptomainas cadavericas, porque em nenhuma das mencionadas, excepto na mydaleina, a experiencia nos animaes revelou propriedades toxicas pronunciadas; apenas a cholina em dóse elevada possui as qualidades da muscarina, e a trimethylamina em dóse ainda maior deixa de ser innocente.

Aos quinze dias de putrefacção apparece a primeira ptomaina de notavel toxicidade. Fallarei d'ella mais adiante.

A mydaleina, o mais toxico dos alcaloides encontrados por Brieger, apparece em quantidade respeitavel, decorridas tres semanas.

Eis aqui o quadro dos effeitos physiologicos.

No porquinho da Índia e em coelhos a injecção de alguns milligrammas de mydaleina na circulação venosa produz: hypersecreção salivar, lacrimal, intestinal, etc.; mydriase; elevação de um até dois

gráus da temperatura, precedida de calafrios; e em dóse elevada, parestia dos movimentos voluntarios, respiração penosa e estertorosa, collapso e morte com o coração em diastole.

No cortejo symptomatico determinado por cinco milligrammas de chlorhydrato de mydaleina, injectados na circulação do gato, encontram-se delineados os traços geraes de acção physiologica anterior.

Demonstração da influencia positiva do oxygenio
na formação de ptomainas

Brieger demonstrou que as ptomainas se formam em maior quantidade, quando a decomposição se faz ao ar livre, e, aproveitando-se d'esta circumstancia, completou o estudo de algumas bases anteriores, e confirmou os caracteres de outras.

Este facto é importante no campo da medicina legal. Dos cadaveres inhumados, uns vão para a valla commum dentro de caixões de madeira, outros em sarcophagos de chumbo, impermeaveis ao ar. Uns enterram-se em cemiterios de terreno compacto, outros em terra porosa. As condições de aeração são, por consequencia, diversas, e, portanto, o criterio que deriva dos trabalhos de Brieger, para affirmar a existencia de um envenenamento crimi-

nal, que consiste no facto das primeiras ptomainas toxicas apparecerem de oito a quinze dias, deve pôr-se de prevenção até nova ordem da chimica toxicologica.

A questão da influencia do oxygenio sobre a biologia das bacterias fermentativas nem sempre foi julgada da mesma fórma.

A principio Pasteur admittia a attenuação dos microbios pela acção do gaz vivificador do ar. Bem depressa, porém, Schutzemberger e Naegeli desmentiram essas idéas na parte relativa á levadura, e Jeanneret, Nencki e Brieger, no processo de decomposição.

Cito, como mais importante, só a demonstração dada por Brieger da proposição que serve de epigraphe.

Nessa experiencia a massa em putrefacção, em vez de se conservar ao abrigo do ar como nos casos anteriores, deve ficar ao ar livre, revolvendo-se ainda bastantes vezes durante o dia para ser mais completa a mistura com o gaz vivificador da atmosphera.

Aproveita-se o figado e o baço, que, depois de quatorze dias da operação mencionada, devem analysar-se seguindo o methodo geral, já referido.

No alcool que exauriu o precipitado do chloreto mercurico, precipita-se pelo chloreto de platina

uma mistura de crystaes com a fórma lamellar e acicular, que se podem isolar por crystallizações e recrystallizações successivas.

Os crystaes aciculares pertencem á neuridina, como Brieger demonstrou.

Era relativamente abundante a substancia com a fórma crystallographica lamellar.

Depois de purificada pela transformação em chlorourato e d'esta em novo chloroplatinato, a analyse centesimal levou o sabio allemão a designar-lhe a fórmula da putrescina, já estudada, e que as propriedades chimicas, physicas e physiologicas confirmam.

No liquido, onde se depositam os saes anteriores, ha ainda uma base, que era desconhecida até á época dos trabalhos allemães, e que merece attenção especial, porque, de certo poder toxico, tem importancia grande na medicina legal e na toxicologia.

Não chegou Brieger a caracterizal-a, como exigia a chimica pura, nem sequer lhe determinou a fórmula empirica. Entretanto, conhecem-se-lhe as propriedades physiologicas: a injeccão da pequena dóse obtida determinou intensas evacuações intestinaes com movimentos peristalticos pronunciados.

Ahi ficam reunidos os trabalhos de Brieger sobre as ptomainas dos cadaveres humanos. Talvez pa-

reça poderem summariar-se num capitulo mais restricto; não o fiz, porém, e intencionalmente. Foi para frisar bem as importantes syntheses que d'elles derivam.

Eil-as:

1.^o As ptomainas apparecem muito cedo, durante a putrefacção;

2.^a São sempre as mesmas, seja qual fôr o processo empregado para as extrahir;

3.^a Os progressos da putrefacção destroem algumas e formam outras especies novas;

4.^a Variam com o tempo e com os órgãos analysados;

5.^a O oxygenio augmenta a sua quantidade.

Acabo de terminar o periodo de Brieger relativo ás ptomainas da putrefacção. Confunde-se com a época contemporanea.

Realmente, afóra algum raro trabalho, digno de menção pelo character de rigor chimico de que se acompanha, tudo o mais não póde ser acceite, por emquanto, como verdade scientifica. Nem vale a pena cital-o na sciencia actual.

Mas ao lado d'esses estudos, a escola allemã tem outros importantes sobre as ptomainas dos microbios pathogenas. Em alguns outros centros scientificos, factos de valor sobre o mesmo assumpto

viram a luz da publicidade. Do principal vou fazer uma resenha succinta.

Ptomainas das bacterias pathogenas

Vimos como, depois de muitas fluctuações de adversidade e ventura, se radicou no animo da medicina, a concepção da natureza toxica das molestias infectuosas. Foram, sobretudo, os trabalhos de Selmi que, em tempo remoto, mais vida insufflaram nessa hypothese, verdadeiramente positiva.

Depois numerosos factos se accumularam para lhe formar solidos alicerces, até que Brieger, isolando das culturas dos microbios e dos órgãos doentes algumas ptomainas, que caracterizou como individualidades, deu a demonstração mais completa que é possível alcançar-se.

Mas não posso passar em silencio os principaes nomes de uma grande legião de experimentadores, que antes do sabio allemão multiplicaram a observação e a experiencia para dar fóros de verdade á idéa de Selmi.

Alguns, como Löffler na diptheria, Koch na cholera asiatica, Nicolaier no tetano, não encon-

trando os agentes pathogenas senão em limitadas regiões, quando alarmantes e ruidosos symptomas se manifestavam em órgãos muito remotos, deixaram entrever no horizonte da esperança a confirmação d'essa utilissima hypothese.

Outros, com a descoberta de uma das mais humanitarias conquistas da medicina, estabeleceram de uma maneira inabalavel a acção chimica dos microbios sobre o organismo, determinando effeitos, que, entretanto, são differentes do quadro do estado morbido. Refiro-me ás vaccinas.

Toussaint e Chauveau, apezar da primitiva negação de Pasteur, acharam nos meios de cultura da bacteria do carbunculo substancias chimicas com que conferiram immuidade aos animaes. Este capitulo da prophylaxia foi successivamente ampliado por brilhantes descobertas, sobretudo de Peiper para a febre typhoide, Charrin para a doença pyocyanica, Behring e Kitasato para o tetano e diphteria.

Finalmente, Roux e Yersin, produzindo a diphteria com os liquidos de cultura do bacillo de Löffler, depois de filtrado; Tizzoni, Cattani e Vaillard, determinando nas mesmas circumstancias symptomas typicos do tetano; Manfredi e Traversa, a pathologia do *sptreptococcus*; e mais modernamente Koch, Mafuci e Gamaleia, os tuberculos da tísica;

Klemperer as lesões da pneumonia, etc., deram realidade á presumpção da natureza chimica da infecção.

Mas faltava encontrar a substancia directamente pathogena. Esse problema resolveu-o Brieger. Vejamos como.

Bacillo typhico

A cultura em abundante quantidade de liquido, filtrada depois de se ter desenvolvido durante bastantes semanas á temperatura de 30°, ajunta-se uma solução alcoolica de chloreto mercurico; decompõe-se o precipitado pelo acido sulfhydrico; e transforma-se num chloroourato.

A quantidade que Brieger obteve foi tão pequena, que mal lhe chegou para o estudo chimico e physiologico. A analyse centesimal ficou muito incompleta. Comtudo, assignalou-lhe a fórmula provavel: $C^7 H^{17} Az O^3$.

Nos porquinhos da India determinou hypersecreção salivar, paresia dos movimentos com o cortejo habitual, mydriase, insensibilidade da iris á luz, enfraquecimento progressivo cardiaco e respiratorio, evacuações diarrheicas muito abundantes

e morte, passadas vinte e quatro a quarenta e oito horas.

Bacillo de Nicolaier

Eis as ptomainas encontradas no caldo de carne e nos órgãos amputados dos doentes de tetano e extrahidos pelo methodo geral de Brieger.

Tetanina. A analyse do chloroplatinato permitiu que se lhe estabelecesse a fórmula empirica: $C^{13}H^{30}Az^3O^4$. O chlorhydrato goza de notavel deliquescencia. Injectada, mesmo em pequena dóse, em ratinhos, determinou o *trismus* e o tetano, precedidos de prostração.

Tetanotoxina. Fórmula chimica: $C^6H^{14}Az$. Exhala cheiro desagradavel. Injectada nos mesmos animaes produz calafrios, inquietação, acceleração e depois retardamento do pulso e da respiração, e finalmente convulsões generalizadas, terminadas por paraly-sias.

Espasmotoxina. Brieger realizou a analyse centesimal do chloroplatinato d'esta base; mas não foi além da determinação da quantidade de platina.

Tem sobre os animaes acção convulsiva e por fim mortifera.

Uma quarta base, cujo chloroplatinato é deli-

quescente, crystalliza sob a fórma lamellar, e ainda não foi completamente analysado sob o ponto de vista chimico, encontra-se nas culturas do bacillo do tetano. Determina a hypersecreção das lagrimas e da saliva.

Kitasato e Weil não encontraram senão a tetanina e tetanotoxina, seguindo todos os preceitos de Brieger, nem lhes reconheceram poder toxico tão pronunciado, como este auctor affirma.

Staphilococcus pyogenes aureus

Produce uma ptomaina, primeiramente isolada por Brieger de culturas em caldo de carne e em carne.

Ao liquido, formado pelos microbios á custa da carne, ou á cultura no caldo, ajunta-se chloreto mercurico; separando o precipitado e addicionando alcool, depositam-se crystaes com a fórma acicular.

Brieger só uma coisa apurou no estudo d'esta base: a qualidade de se comportar do mesmo modo que alcaloides perante os reagentes proprios.

Analyse elementar e acção physiologica ainda hoje são completamente ignoradas.

Bacillo de Koch (*da cholera asiatica*)

A Brieger, a Villiers e a Pouchet deve a sciencia os seus conhecimentos sobre as ptomainas d'esta bacteria.

Brieger achou as bases seguintes: 1.^a a methylguanidina $C^2H^7Az^3$ com a propriedade de produzir convulsões; 2.^a a dimethylena-diamina $C^2H^8Az^2$ com identica acção physiologica; 3.^a uma substancia alcalina, que produz a paralyisia, a algidez, o retardamento do coração e diarrhea sanguinolenta.

Villiers encontrou, nos orgãos de um choleric, um alcaloide, cuja fórmula não determinou, com um cheiro pronunciado de espinheiro e com a propriedade do chlorhydrato crystallizar na fórma acicular. As propriedades chemicas eram as dos alcaloides. É caracteristica a sua propriedade physiologica: determina alternadamente acceleração e retardamento de pulso.

Tem aqui cabimento um facto notavel de Pouchet, que, durante a analyse das ptomainas do vibrião de Koch, revelou a existencia de perigosas bases volateis.

Dos órgãos de um cholérico extrahiu uma base pyridica, que, depois de a transformar em chlorhydrato, tentou crystallizar pela evaporação. Algumas horas depois d'essa operação foi accommettido dos symptomas de um intoxicamento, que refere nestes termos: «O principio dos symptomas manifestou-se dezeseis horas após as inalações dos vapores da base. Estes symptomas consistiram em: calafrio extremamente intenso e prolongado com penosa sensação de resfriamento; irregularidade do pulso; caimbras dolorosas dos membros com tremor; nauseas; anuria; glycosuria; e catarro gastrico, que se prolongou durante bastante tempo».

Bacillo pyocyanico

A coloração azul do pus, produzido pelo bacillo pyocyanico, é devida a duas substancias, a pyocyanina e a pyoxanthina.

Pyocyanina. Crystalliza na fórma prismatica. Tem os caracteres chimicos das ptomainas. Ignora-se a sua composição centesimal, bem como a acção physiologica.

Pyoxanthina. É um producto de oxydação da base

anterior. Goza simultaneamente da propriedade acida e basica.

Bouchard continua a senda traçada por Brieger.

Numerosas analyses de urinas normaes e pathologicas tem realizado, as quaes o levaram a entregar á sciencia importantes descobertas. Nas urinas normaes encontrou um certo poder toxico, variavel com a vigilia ou o somno, narcotico no primeiro caso, e com a propriedade de produzir convulsões no segundo. Na sua opinião esses venenos são leucomainas.

Nas urinas pathologicas tambem encontrou substancias com os caracteres chimicos dos alcaloides e com a propriedade physiologica de determinar nos animaes o mesmo estado que soffria o doente de que foram recolhidas.

São de grande utilidade estes trabalhos, mas não bastam. É necessario determinar a individualidade d'esses alcaloides e caracterizal-os como exige a chimica actual. Só depois d'isso é que podem advir proveitosas consequencias para a pathologia e para a therapeutica.

Ahi fica o resumo das principaes ptomainas conhecidas na sciencia actual. Nem todos as admittem. Fundados nas analyses negativas de chi-

micos de reputação, suspeitam, e affirmam até, que esses productos são artificiaes, determinados pela natureza das operações para os extrahir, e não formados pelos microbios.

Entretanto, não vejo razão que fundamente essa opinião.

Se Gautier não encontrou muitas ptomainas de Selmi, nem Brieger as de Gautier, e se Weil não isolou as tetaninas de Brieger e nunca Bassi conseguiu extrahir a typhotoxina, talvez fosse porque a extracção se não realizasse nas mesmas circunstancias.

A diversidade da materia de analyse e o tempo decorrido desde as primeiras transformações organicas até ao momento da sua caracterização, sendo factores importantes da variabilidade dos productos das bacterias, contém, provavelmente, a chave do enigma, que alguém interpreta pela formação de productos artificiaes. Pelo menos aquella explicação é apoiada pelas syntheses resultantes do trabalho de Brieger sobre a putrefacção, generalizadas até ás bacterias pathogenas.

Não são, porém, convicções inabalaveis as considerações que acabo de consignar. Constituem apenas a critica theorica d'esses factos, feita através dos conhecimentos de chimica organica e biologica, colhidos na litteratura chimica de superior

reputação nos centros scientificos; porque sem a possibilidade de ter orientado os meus trabalhos practicos no sentido de verificar a legitimidade d'esses productos, não posso apresentar factos de investigação propria para servir de solido alicerce a essa ideia.

E se eu não tenho feição para dar assentimento cego, suggerido apenas pelo nome de mestres eminentes, ás importantes descobertas de chimica toxicologica, que causaram impressão em todo o mundo, feitas por Selmi, Otto, Gautier, Brieger, etc., mas contestadas por homens de reputação; tambem me não deixo seduzir por qualquer suspeita, implantada no meu espirito só por lucubrações no terreno da theoria, se tantas vezes utilissima nas suas affirmações, tantas outras fallaz nas suas presumpções.

Origem das ptomainas

O problema da genese das ptomainas jaz envolto na mais profunda noite, e só alguma rara estrella scintilla atravez da escuridão.

Muito ao longe, comtudo, parece entrever-se a

aurora d'este importante capitulo da chimica biologica.

E aqui ainda o glorioso nome de Brieger, infinitas vezes gravado na toxicologia medico-legal, subscreve as raras paginas d'esse immenso livro da physiologia das bacterias.

Quaes os principios immediatos d'onde as ptomainas derivam? Qual a serie de modificações chemicas desde a substancia primitiva até ao apparecimento do alcaloide? São sempre desdobramentos, ou o microbio terá poder synthetico na genese das ptomainas? Que relação de origem e de fim haverá entre essas differentes bases?

Essas interrogações são outras tantas syntheses ainda sem solução; outros tantos problemas abertos á actividade da chimica e da medicina.

Apenas sobre duas bases, que são tambem physiologicas, a cholina e a nevrina, e sobre a trimethylamina conhece a sciencia alguns factos positivos, e possui hypotheses plausiveis.

É incontestavel que da lecithina, importante producto de desassimilação das substancias azotadas, é que a cholina deriva. Tem-no demonstrado a experiencia, a putrefacção artificial d'aquelle corpo chimico.

É muito provavel que da cholina derive a nevrina. Mas por emquanto a unica razão, que ampara

está hypothese, é a possibilidade da respectiva equação chimica, e o desaparecimento d'aquella base com o apparecimento d'esta. As tentativas, porém, para realizar essa transformação todas têm tido insuccesso.

Apenas aquellas duas razões imperam no espirito da chimica para não repudiar genese tão simples.

Mas quaes são as condições do processo de decomposição, que a realizam? Ainda hoje se ignoram.

Relativamente á trimethylamina apenas se sabe, pela voz da experiencia, que a cholina a póde originar. E mais nada.

(1) W. D. Halimont, *see 1875 Chem. Physiology of Test.*
 West London, 1871.

SUBSTANCIAS ALBUMINOIDES

Ha alguns annos que o estudo das *toxinas* dos microbios tomou nova direcção.

Era conhecida na sciencia a existencia de substancias proteicas venenosas ⁽¹⁾ no vegetal e no animal.

Sabia-se, depois dos trabalhos publicados na Philadelphia por Weir Mitchell e Reichardt: que as serpentes, sobretudo as de campainhas, segregam temiveis venenos albuminoides (peptonas e globulinas); que a *cobra capello* tambem produz virus da mesma natureza (globulina, serina e acidalbumina), como o domonstrou Norris Wolfenden em Londres; e, finalmente, pelos trabalhos de Kobert, que no reino animal ha ainda uma classe de seres, as ara-

(1) W. D. Halliburton, pag. 137. *Chemical Physiology (of Text-Book)*. London, 1891.

nhas, que têm para a lucta pela vida propriedades analogas.

Estas descobertas estenderam-se até ao reino vegetal, onde foram identificadas com albuminoides substancias venenosas, encontradas nos grãos do ricino *commum*, no fructo do *papayer* e no do tre-moço amarello.

Estes factos imperaram no animo dos bacteriologistas, e fizeram-lhes conceber a ideia de que os microbiostambem deviam combater com armas identicas. D'ahi os diversos trabalhos realizados com o fim de procurar as pretendidas albuminoides.

A analyse dos principaes, feita nas paginas seguintes, não me deixa convencido da legitimidade das suas conclusões.

Encarando mesmo o assumpto *à priori*, a secreção de proteicas faz surgir duvidas.

Tal phenomeno iria de encontro a uma grande lei de economia vital, pelo desperdicio de materias que constituem a base primordial da vida. E se é certo que ha animaes em que se dá esta infracção, são elles em tão limitado numero, que não justificam a generalização a uma enorme familia de seres vivos, como são os microbios.

Neste trabalho não me occupo das diastases. É propositado este meu proceder. Realmente, a chi-

mica ainda não assentou definitivamente sobre a significação de diastase.

Se por esta denominação se entende qualquer substancia, que em muito pequena dóse determina modificações profundas e prolongadas, então é evidente que as bacterias gozam do poder de segregar fermentos. Mas se esse nome se applica a substancias com aquella propriedade e com os caracteres chimicos das proteicas, como pretende a corrente dominante na chimica, então a questão confunde-se com a existencia de substancias albuminoides, que não me parece demonstrada, como vamos ver.

I

Analyse dos trabalhos de Brieger e Fraenkel sobre a formação de substancias albuminoides pelos bacillos de Löffler e de Eberth e pelo vibrião de Koch

Foram os trabalhos de Brieger e Fraenkel que inauguraram a nova era das *toxinas* albuminoides. A primeira experiencia realizaram-na com o bacillo de Löffler, cultivando-o no caldo de carne addicio-

nado de soro sanguineo, e analysando o liquido de cultura, filtrado depois de desenvolvido.

Eis as reacções e as operações empregadas:

Saturaram o meio de cultura com sulfato de ammonio, dyalisaram o precipitado, e submetteram-no á acção do alcool. Depois de dissolvido em agua, precipitava pelos acidos mineraes concentrados, sulfato de cobre, bichloreto de mercurio, ferrocyaneto de potassio, mas não pela ebullicão, sal marinho, sulfato de sodio, sulfato de magnesio e acetato de chumbo. Dava a reacção do *biureto* e a de Millon. Tinha por consequencia os caracteres de uma proteica, que aquelles auctores affirmaram ser a *toxina* do microbio.

Esta asserção seduziu a principio todos os bacteriologistas, mas uma analyse rigorosa, revelando nella illicita conclusão, já collocou a opinião medica de sobreaviso.

Realmente, basta reparar em que Brieger e Fraenkel cultivaram a bacteria num caldo esterilizado pela ebullicão, que podia hydratar as proteicas, e a que adicionaram soro, para ver o pouco rigor da conclusão.

Este modo de ver não é de hoje.

Logo depois d'esses trabalhos, outros sahiram do laboratorio de Koch, subscriptos por Wassermann e Proskauer, que emittiam o mesmo parecer, fun-

dando-se em que uma notavel differença, sob o ponto de vista da toxicidade, separa o veneno de Brieger e Fraenkel do da cultura impura de Roux Yersin e do precipitado que produziram com o phosphato de calcio.

II

**Analyse dos trabalhos de Hankin sobre as albumoses
do *bacillus anthracis***

Começa o auctor por fazer uma resenha das differentes publicações sobre as substancias proteicas das bacterias, inclinando-se a suppôr que pertencem á classe das albumoses.

Depois entra no assumpto, estendendo as suas experiencias até á investigação das propriedades physiologicas do producto do bacillo.

Criticarei apenas a parte chimica, por ser a mais relacionada com o objecto da minha dissertação, e porque é base dos trabalhos physiologicos.

Eis o caminho que seguiu para demonstrar a existencia de albumoses, segregadas pela bacteria do carbunculo.

Cultivou-a na batata, que, depois de lhe raspar a camada superficial após o desenvolvimento da cultura, introduziu numa mistura de agua e de fibrina, adicionada de algumas gottas de uma solução de thymol. Analysou diariamente esta mistura, onde denotou progressivo augmento da reacção rosa do *biureto*. Passado tempo, filtrou-a pelo filtro Chamberland, saturou-a com sulfato de ammonio, e dyalisou em agua o precipitado, que na sua opinião era de albumose.

Critica. Vejamos até onde chega a veracidade d'esta conclusão.

Hankin servia-se da batata como meio de cultura. Para a esterilizar submetteu-a com certeza a temperaturas elevadas, no autoclave ou por outro processo qualquer. Sendo assim, lembra perguntar: não poderão as substancias albuminoides da batata hydratar-se e desdobrar-se á custa de calor tão forte? Não poderão os acidos da batata ajudar essa transformação e até peptonizar a fibrina empregada na experiencia? Nenhuma razão se oppõe a essas hypotheses, e, portanto, antes de se erigir a affirmacção de Hankin em verdade scientifica, é necessario repetir varias vezes as mesmas operações e seguir o caminho que implicitamente fica traçado no que acabo de dizer.

III

**Analyse dos trabalhos sobre a alcalialbumina
dos microbios (Buchner)**

Buchner extrahiu de algumas bacterias, principalmente do bacillo typhico e do pyocyanico, pela digestão dos seus cadaveres em soluto de potassa a 5^o/₀₀₀ uma substancia albuminoide, a que Nencki chamou mycoproteina, e que elle denominou alcalialbumina, fundado nas reacções chemicas. Dissolve-se nos acidos concentrados e nos alcalis diluidos, d'onde a precipitam os acidos diluidos; supporta, sem se decompôr, temperaturas elevadas e prolongadas; dá as reacções xanthoproteica, de Millon e de Adamkiewicz; não é precipitada pelo calor nem pelo chloreto de sodio concentrado; e, finalmente, precipita-se pelo sulfato de magnesia, sulfato de cobre, chloreto de platina, chloreto de ouro, saes de chumbo, acido picrico, acido tartrico e alcool absoluto.

O auctor considerou esta substancia como a *toxina* do microbio. Entretanto, é facil provar que

das suas experiencias não é permittido deduzir essa affirmação, não só porque póde extrahir-se alcalialbumina nas circumstancias indicadas por Buchner, visto o cadaver das bacterias ser formado de substancias albuminoides, que os alcalis modificam nesse sentido, mas ainda porque nada demonstra ser no extracto a alcalialbumina o toxico e não qualquer outra substancia misturada.

Fiz uma experiencia para ver se realmente se obtinha a alcalialbumina pelo processo de Buchner, e cheguei a resultados positivos.

Nos cadaveres de bacillo fluorescente, cultivado num dos liquidos mineraes, adiante indicados, fiz actuar o soluto de Buchner, depois de ter lavado com agua os corpos das bacterias.

No liquido extractivo davam-se estas reacções, que não appareceram no meio cultural, cultivado e filtrado: leve precipitação pelo acido azotico, soluvel no phosphato de sodio a 10 %; e leve precipitado pelo ferrocyanoeto de potassio. Davam-se tambem as reacções xanthoproteica e violeta do *biureto*. Havia evidentemente alcalialbumina.

IV

**Analyse dos trabalhos de Wesbrook
sobre as substancias proteicas do vibrião de Koch**

Cultura no caldo de alcali-albumina. O liquido de cultura foi preparado pelo processo que vou indicar.

No soro de sangue (de boi ou carneiro), depois de expulsos os globulos por meio de um aparelho de força centrifuga, precipita-se a albumina, de que se separa pelo siphão o liquido dissolvente. Dige-re-se a proteica precipitada, durante algum tempo, em soda caustica diluida na quantidade de agua distillada sextupla do soro empregado. Filtra-se e esteriliza-se no autoclave ou por ebullições repe-tidas.

Wesbrook semeou este caldo com o vibrião da cholera (virus exaltado de Haffkine), desenvolveu a cultura á temperatura de 35°, e analysou-a passa-das tres semanas.

A analyse bacteriologica revelou-lhe a transfor-

mação dos komma-bacillos em coccus, e à analyse chimica, as reacções seguintes.

Não apparecia a côr de rosa no caldo antes de semeado, pela acção do sulfato de cobre e potassa. Do caldo cultivado, depois de filtrado, separou as substancias proteicas precipitadas pelo alcool das coagulaveis por: neutralização pelo acido chlorhydrico e filtração consecutiva para separar o alcalalbumina; evaporação no vacuo e a 40' até obter uma massa xaroposa; tratamento demorado pelo alcool absoluto; dissolução em agua distillada das substancias soluveis do residuo; e, finalmente, dialyse de quarenta e oito horas para extrahir as materias crystalloides.

Nesta solução formava-se precipitado abundante por saturação com sulfato de ammonio, e pequeno precipitado com chloreto de sodio, augmentando pela addição de algumas gottas de acido acetico. O calor não a precipitava. Manifestava-se a reacção rosa do *biureto*.

Wesbrook julgou poder identificar, fundado nestes caracteres, algumas substancias, formadas pelos microbios no meio nutritivo, com a protoalbumose e deuterio-albumose.

No liquido onde se fez a dialyse, apparecia leve precipitado pelo sulfato de ammonio e chloreto de sodio, e a reacção do *biureto*.

Concluiu que havia peptonas.

Como contraprova da identificação das albumoses precipitou por neutralização no liquido cultivado, depois de filtrado, a alcalialbumina não digerida e as albumoses pelo sulfato de ammonio, seguindo no mais a restante technica do processo anterior.

Critica. Nesta analyse chimica bastante incompleta ha affirmações muito contestaveis, como vou demonstrar, acompanhando o auctor, par e passo, nos seus trabalhos analyticos.

Em primeiro logar, que auctoridade chimica de qualquer nacionalidade permittirá affirmar ou suspeitar a ausencia de albumoses ou peptonos num liquido com alcalialbumina dissolvida por não se manifestar a côr rosa da reacção do *biureto*?

Ora, se essa reacção negativa nada póde indicar sobre a identificação de taes proteicas, não será possivel que a protoalbumose e a deuteroalbumose, caracterizadas pelo chloreto de sodio e acido acetico, sejam substancias existentes no caldo antes de semeado, onde a alcalialbumina dissimula a reacção rosa do *biureto*?

Não terá probabilidades esta hypothese no caso presente, em que a esterilização foi obtida por temperaturas elevadas, que geralmente desdobram e hydratam as substancias proteicas, como todos

os chimicos affirmam, e como eu proprio tive occasião de observar?

Como inferir, da reacção do *biureto* no liquido de dialyse e da formação de precipitado pelo sulfato de ammonio ou chloreto de sodio, a presença de peptona? Qualquer chimico affirmará que taes reacções só revelam as albumoses.

Em summa, a affirmativa de Wesbrook sobre a formação de albumoses e peptonas no caldo de alcalialbumina pelo bacillo da cholera, não pôde sustentar-se com os argumentos de que o auctor se vale.

Mas não é só pelo lado controverso das conclusões, que o trabalho chimico que nos occupa, cahe sob a alçada da critica. A sua insufficiencia é imperdoavel

Não se justifica um trabalho de chimica tão incompleto para deduzir conclusões tão arrojadas. O auctor tinha o estRICTO dever de realizar a analyse do meio de alcalialbumina com o proposito de o caracterizar.

Cumpria ao auctor ensaiar as reacções caracteristicas da peptona no liquido cultivado e filtrado, para não exarar a gratuita affirmação de que a peptona dialisa completamente.

No processo de contraprova por precipitação pelo sulfato de ammonio ha os mesmos defeitos na parte

commum aos dois processos, aggravados com um methodo de separação de alcalialbumina, que a não precipita completamente.

Basta attender á extrema difficuldade de neutralizar rigorosamente o liquido, e á solubilidade da alcalialbumina, embora pouco pronunciada, nos liquidos neutros para avaliar a justiça com que termino a critica deste trabalho de Wesbroock.

Cultura no ovo. Seguiu o processo de Scholl e Hueppe.

Inoculou o virus em ovos frescos, cobriu-os de uma camada de collodio, e desenvolveu a cultura na estufa a 35°, durante tres semanas.

Decorridas ellas, fez actuar por pouco tempo o alcool sobre o conteúdo do ovo, e do precipitado extrahiu pela agua distillada as presumidas albumoses e peptonas. A solução obtida era turva e não limpava por filtrações repetidas, alcalina, e manifestava as reacções que vou descrever.

- 1.^a Leve reacção do *biureto*.
- 2.^a Precipitado abundante pelo calor (de globulina na opinião do auctor).
- 3.^a Volumoso precipitado por saturação com sulfato de ammonio ou chloreto de sodio.

Critica. Neste capitulo da publicação de Wesbroock ostenta-se a mesma extraordinaria deficiencia, que frisei nos antecedentes.

O auctor não ensaiou sombra de reacção para procurar qualquer proteica, que não seja albumose ou peptona.

Não lhe perpassou pela mente a possibilidade da formação de casealbumina, alcalialbumina e acidalbumina, apesar de essas substancias serem termos intermedios do desdobraimento e hydratação das proteicas em albumoses e peptonas, que o auctor tanto desejava encontrar no metabolismo do vibrião de Kock.

Na caracterização das proteicas que menciona, foi muito incompleto. Para reconhecer as diferentes variedades de albumoses e a peptona, não basta um pequeno quadro composto de tres reacções, O problema não é tão simples. Não traço aqui o caminho para o resolver com o fim de não repetir inutilmente o que fiz em qualquer das minhas analyses.

O auctor não é explicito sobre qual das reacções do *biureto* encontrou, se a roxa (das albumoses e peptonas) ou se a violeta (das albuminas mais complexas). Qualquer que seja, porém, não se deve confiar, sem outras razões, dependente das proteicas bacterianas. Cumpre repetir a experiencia, pois que, havendo entre as substancias proteicas do ovo uma com propriedades zymoticas, possivel se torna que ella determine o processo de hydratação dos albuminoides.

Albumoses do exsudado peritoneal dos porquinhos da India vaccinados com as albumoses anteriores. A serosidade peritoneal, aspirada dos cadaveres dos animaes com as precauções precisas para evitar a contaminação, foi submettida á acção do alcool absoluto durante cinco semanas, para coagular e precipitar as substancias albuminoides.

O precipitado exauriu-se pela agua distillada, que foi concentrada no vacuo e á temperatura de 40°, bem como o alcool, obtendo-se dois extractos com as propriedades seguintes.

Extracto aquoso.

- 1.^a Não se manifestou a reacção do *biureto*.
- 2.^a A ebullicão diminuiu a turvação.
- 3.^a No ensaio da reacção xanthoproteica não se manifestou a côr alaranjada depois da addição do ammoniaco.
- 4.^a O reagente de Millon produziu ligeiro precipitado vermelho.

Os caracteres do extracto alcoolico não indicam a presença de nenhuma substancia albuminoide.

Critica. No extracto aquoso alguma coisa ha, que possa induzir na ideia de albumoses ou peptona.

Realmente, a reacção xanthoproteica, embora incompleta, e a precipitação pelo reagente de Millon talvez façam crer nellas, quem se não recordar

das recentes investigações de Salkowsky (1) sobre a genese das reacções de côr d'esta classe de corpos chimicos.

A molecula albuminoide é um edificio atomico complexo, em cuja constituição entram radicaes diversos, salientando-se os aromaticos, produzidos em muitos processos de hidratação e desdobramento, a que estão subordinados os ensaios córantes.

Tres grupos aromaticos identificou Salkowsky na putrefracção das materias proteicas: 1.º o grupo phenol, comprehendendo a tyrosina e os hydroxidos aromaticos, phenol e cresol; 2.º o grupo do phenilo, abrangendo os acidos phenil-acetico e phenil-propionico; 3.º o grupo do indol, cujos membros mais importantes são o scatol e o acido scatol-carboxilico.

É o primeiro destes grupos, e sobretudo a tyrosina, que determina o precipitado vermelho pelo nitrato acido de mercurio e ebullicão, e a reacção xanthoproteica.

Aos outros tambem se lhes subordinam reacções córantes, cujas relações aqui não menciono, por se não referirem ao ponto particular que viso explicar.

(1) W. D. Halliburton, *loc. cit.*

Sendo, como dito fica, o radical tyrosina que se cõra nas analyses mencionadas, e devendo essa substancia, que é um producto de desassimilação dos microbios, existir no extracto aquoso, é permittido duvidar da origem albumosica ou peptonica d'aquelles ensaios.

V

**Analyse dos trabalhos de Uschinsky
sobre as peptonas dos bacillos de Löffler e Nicolaier**

Uschinsky, cultivando estes bacillos no meio de cultura abaixo indicado, onde se desenvolveram tão exuberantemente como no caldo de carne, viu no liquido, depois de filtrado, manifestarem-se as reacções seguintes: reacção de Millon; reacção xanthoproteica; precipitação pelo alcool forte; ligeira precipitação esverdeada pelo ferrocyaneto de potassio acetico e inalterabilidade pelo sulfato de ammonio. Concluiu d'ahi a existencia de peptona.

É certo que essas reacções são determinadas pelos productos do metabolismo das bacterias, pois que não apparecem no liquido por cultivar, como

tive occasião de ver na analyse que fiz. Mas não me parece que devam attribuir-se a qualquer proteica, visto não se conhecer nenhuma que as possua, nem Westbrook, repetindo a experiencia de Unschinsky, encontrar a reacção do *biureto*, que é característica das substancias albuminoides.

Eis o meio de cultura: agua—1000 grammas; glicerina—30 a 40 grammas; chloreto de sodio 5 a 7 grammas; chloreto de calcio—0,1 gramma; sulfato de magnesio—0,2 a 0,4 grammas; phosphato de potassio—2 a 2,5 grammas; lactato de ammonio—6 a 7 grammas; asparaginato de sodio—3 a 5 grammas.

Termino aqui a critica dos principaes trabalhos, que servem de base á opinião corrente de que os microbios segregam ou formam materias proteicas. Por ella se vê a deficiencia e a incorrecção que os caracteriza. Parece-me, portanto, fundado nessas considerações e nas analyses que apresento nas paginas seguintes, que se não póde actualmente dar como provada a existencia de albuminoides, produzidos no metabolismo das bacterias.

SEGUNDA PARTE

TRABALHOS ORIGINAES

I

Tentativas para isolar e cultivar o bacillo de Koch

Estudei praticamente o metabolismo das bacterias apenas sob o ponto de vista das substancias proteicas. A razão é esta: para a caracterização dos alcaloides, cujo interesse é paralelo ao das albuminas, precisava de grande quantidade de liquido de cultura, onde muito tardava o desenvolvimento dos microbios. De resto todos os chimicos confessam que a analyse dos alcaloides não é mais difficil que a das albuminas.

Contra os meus desejos não inclui nos quadros

de analyse nenhum sobre o bacillo da tuberculose.

Nutria, realmente, grande empenho, suggerido pela impressão que a descoberta despertou e pelo glorioso nome que a subscreveu, de estudar a *tuberculina*, na composição chimica, nas propriedades physiologicas e therapeuticas. Foram, porém, mal succedidos os esforços que empreguei para realizar os meus intentos.

Muito tarde, appareceu no gabinete de bacteriologia uma cultura d'esse bacillo em gelose; mas devia estar morta, pois nem desabrocharam as sementeiras no caldo de carne e no de peptona nem floresceu a cultura-mãe á temperatura de 36°.

Trabalhei para o isolar dos escarros de um tísico, cujo diagnostico clinico foi confirmado pelo microscopio, seguindo o methodo das culturas em placas (1). Apenas me convenci da difficuldade, dita e

(1) Eis, a largos traços, o methodo seguido :

Dilui duas gottas de escarro num centimetro cubico de agua distillada, para formar a primeira diluição; duas gottas d'esta na mesma quantidade de liquido, e assim successivamente até á quarta diluição.

Verti em quatro tubos de ensaio a quantidade de gelose glycerinada e fundida, que as placas comportam.

A cada um addicionei duas gottas das respectivas diluições, depois de baixar a temperatura ao menor grau de liquefação, visto

redita, de obter por tal meio colonias puras d'esse microbio, que, desenvolvendo-se muito lentamente em contraste com a exuberante vegetação das especies associadas, é quasi sempre por ellas abafado.

Com os mesmos esscarros inoculei o peritoneo de tres porquinhos da India (1). Decorrido muito tempo,

o calor elevado ser deprimente, e até mortifero, da vitalidade dos microbios.

Ainda liquida, foi a gelose estendida em tenue camada sobre quatro placas, e estas conservadas á temperatura de 36°, segundo os preceitos da bacteriologia. Vigiei-as todos os dias, destruindo com chloreto de cal a 1% as colonias exoticas e indigenas. Admiraveis vegetações de bolores invadiram a cultura; *coccus* do pus e, parece-me, *pneumococcus* de Friedlaender, caracterizados pelo microscopio, tambem soffreram grande destruição; mas não encontrei nenhum bacillo da tuberculose.

(1) Processo empregado na operação:

Dilui seis gottas em quatro centimetros cubicos de agua distillada, e com a seringa de Pravaz injectei tres centimetros cubicos d'esta solução, repartidos egualmente, no peritoneo de tres porquinhos da India, depois de ter cauterizado a thermocauterio a pelle do abdomen

Resultados da inoculação:

Um morreu, decorridos tres dias, sem nenhum symptoma apparente, precursor. A autopsia revelou peritonite simples.

Os outros pareciam de perfeita saude, durante seis semanas. Depois sobreveio inappetencia e dyspnea; fezes normaes. [Não tracei a escala thermometrica por não haver thermometro apropriado.

Morreram, passados quatro dias, com intervallo d'algumas horas.

Não lhes fiz a autopsia porque já não os pretendia para os meus trabalhos. Realizou-a o sr. Ch. Lepierre, para aproveitar os orgãos

quando já não podia aproveitar o fructo d'essa experiencia, morreram dois animaes de tuberculose mesenterica.

Parece que tudo conspirava para mallograr as minhas esperanças.

O sr. Ch. Lepierre, a quem apresento o meu agradecimento, obsequiou-me com substancia de inoculação de diferentes culturas, que trouxe do Instituto Pasteur, comprehendida a do bacillo de Koch. Foi semeado no caldo de peptona com phosphatos e glycerina, mas não vegetou; no caldo de carne, addicionado das mesmas substancias nutritivas, que se contaminou com bolores exuberantemente desenvolvidos á superficie, não obstante os delicados cuidados, mas no fundo do frasco de Erlenmeyer não appareceram as characteristics colonias da bacteria.

Em summa, tive de abandonar os meus intentos e de restringir as minhas observações aos microbios que consegui.

tuberculosos para culturas, cujos resultados obsequiosamente me communicou: derramamento seroso nas cavidades pleuraes; alguns tuberculos disseminados pelos pulmões; e muitos infiltrados pelo peritoneo, baço e figado.

II

Analyse chimica de diferentes meios de cultura

Bacillus coli communis

a) Cultura no caldo de peptona com glicerina e glycose (1)

2/8/94. Semeada com materia de uma cultura de
13/7/id. Temperatura do desenvolvi-
mento — 36°.

4/id. Leve turvação homogenea, branca.

(1) Os caldos de carne e de peptona, em que se não indicar pre-
paração especial, foram feitas pelas formulas seguintes:

Caldo de carne. Carne de boi — 500 grammas; agua — 1000
grammas. Fiz decocção durante duas horas,
escumei, addicionei a quantidade de agua eva-
porada para obter o volume primitivo, neu-
tralizei com o bicarbonato de sodio e ajuntei
6 grammas de chloreto de sodio.

Caldo de peptona. Peptona — 2 grammas; agua — 100 grammas;
glycerina — 1 gramma; glycose — 1 gramma.
Neutralizei pelo bicarbonato de sodio.

A esterilização foi feita pela fervura, tres vezes repetida.

11/id. Turvação pronunciada. Véo tenue á superficie, que a menor agitação desfaz.

20/id. Algum deposito.

Analyse. Depois de filtrado tres vezes, o liquido de cultura conservou-se turvo.
Reacção acida.

Acido azotico

Acido acetico

Alcool a 90°

Potassa a 10%

Reacção de Heller

Soluto saturado de chloreto de sodio— $\frac{1}{3}$ do volume liquido, acido acetico—algumas gottas e ebullicão

Reacção do biureto

Reagente de Tanret

Ferrocyaneto de potassio, acetico

Soluto acido de phosphomolybdato de sodio

Turvação soluvel no excesso.

Não precipita.

Mais turvo.

Precipitado aos flocos, branco.

Resultado negativo.

Não precipita.

Côr violeta-roxa.

Precipitado amarello, amorpho, soluvel a quente, no alcool e insoluel no reagente de Errera.

Não precipita.

Precipitado amarello, amorpho.

CONCLUSÃO: Não ha albumina, globulina, alcalalbumina, acidalbumina, casealbumina, albumoses, nuclealbumina e mucina. Ha peptona. Veja-se a analyse do caldo.

Analyse do caldo sem cultura (1)

○ Reacção acida. Persiste a turvação depois de filtrado.

<i>Alcool a 90°</i>	Augmenta a turvação.
<i>Acido azotico</i>	Não se torna limpido.
<i>Acido acetico</i>	Não se torna limpido.
<i>Potassa a 10%</i>	Pequeno precipitado, aos flocos.
<i>Reacção do biureto</i>	Côr violeta-roxa.

CONCLUSÃO: Além da peptona, existe uma substancia, persistente depois da cultura, que não conseguiu identificar.

b) Cultura no caldo de carne

2/id. Sem. id. Desenvolvimento semelhante ao da cultura em peptona, mas mais abundante.

22/id. *Analyse.* Liquido turvo depois de filtrado.
Reacção neutra.

(1) Este caldo já estava preparado. As esterilizações repetidas, provavelmente, alteraram-lhe a composição.

<i>Soluto saturado de chloreto de sodio — 1/3 volume liquido, leve acidificação e ebulição</i>	Não precipita
<i>Reacção de Heller</i>	Não precipita.
<i>Leve acidificação e ebulição</i>	Não precipita.
<i>Reacção xanthoproteica</i>	Muito nitida.
<i>Reacção do biureto</i>	Côr violeta azul.
<i>Ferrocyaneto de potassio, acetico</i>	Não precipita.
<i>Alcool a 90°</i>	Precipitado amorpho, branco, insolúvel no excesso.
<i>Acido azotico</i>	Turvação solúvel no excesso.
<i>Acido acetico</i>	Turvação solúvel no excesso.
<i>Potassa a 100/0</i>	Augmenta a turvação.
<i>Sulfato de ammonio (saturação)</i>	Precipitado grumoso.
<i>Reacção do biureto (depois de separar o precipitado anterior)</i>	Não se manifesta.

CONCLUSÃO: O liquido de cultura não contém nenhuma substancia proteica, atraz designada, nem peptona. Existe gelatina. Vej. analyse do caldo.

Analise do caldo sem cultura (1)

Reacção acida. Liquido turvo depois de filtrado.

<i>Reacção do biureto</i>	Côr violeta-azul.
<i>Sulfato de ammonio (saturação)</i>	Precipitado grumoso.
<i>Reacção xanthoproteica (depois de separar o precipitado anterior)</i>	Resultado negativo.

(1) Este caldo já estava preparado.

<i>Reacção do biureto (depois de se- parar o precipitado anterior)</i>	Resultado negativo.
<i>Acido azotico</i>	Turvação soluvel no excesso.
<i>Acido acetico</i>	Não precipita.
<i>Potassa a 10%</i>	Precipitado aos flocos, parcial- mente soluvel nos acidos.
<i>Ferrocyaneto de potassio, acetico</i>	Não precipita.

CONCLUSÃO: Ha gelatina. A preparação do caldo não hydratou nenhuma substancia albuminoide. No caldo e na cultura existe uma substancia indeterminada, com os mesmos caracteres chimicos da referida no caldo de peptona. Ha phosphatos livres.

c) Cultura no caldo d'alcalialbumina (1)

12/id. Semeada com materia de uma cultura de
2/id.

(1) Preparei-o como recommenda Armand Gauthier (*Cours de Chimie*, tom. III, pag. 169, Paris, 1892).

A tres claras de ovo addicionei tres vezes egual volume de agua e algumas gottas de acido acetico para precipitar a globulina, que separei por filtração. Ajuntei ao liquido filtrado a quantidade de agua bastante para lhe elevar o volume a dez vezes o da clara dos ovos. Alcalinizei na proporção de 5 decigrammas de soda para 1 litro de liquido. E aqueci o soluto a banho-maria, durante algumas horas.

20/id. Desenvolvimento pouco abundante. Não ha pellicula nem deposito.

Analyse. Reacção alcalina.

<i>Soluto saturado de chloreto de sodio — 1/3 volume liquido, leve acidificação e ebullicão (a)</i>	Abundante precipitado branco-amarellado, grumoso, soluvel no phosphato de sodio a 10% e na agua de cal, saturada.
<i>Reacção do biureto (depois de filtrado o liquido anterior)</i>	Não se manifesta.
<i>Reacção xanthoproteica (depois de filtrado o liquido anterior)</i>	Não se manifesta.
<i>Acido picrico (depois de filtrado o liquido anterior)</i>	Não precipita.
<i>Acido acetico</i>	Abundante precipitado amorpho, compacto, soluvel no excesso, no phosphato de sodio a 1/10 e na agua de cal.
<i>Acido azotico (depois de separar o precipitado anterior)</i>	Não precipita.
<i>Calor a 60° (approxim.)</i>	Nenhuma alteração.
<i>Ebullicão</i>	Nenhuma alteração.
<i>Sulfato de magnesio (saturação)</i>	Abundante precipitado, grumoso e amorpho.
<i>Reagente de Tanret (depois de separar o precipitado anterior)</i>	Precipitado branco, cristallizado
<i>Reacção do biureto (depois de separar o precipitado anterior)</i>	Não se manifesta.
<i>Reacção (a) (depois de separar o precipitado anterior)</i>	Não precipita.

CONCLUSÃO: Ha alcalialbumina; não ha nenhum dos outros albuminoides mencionados.

Analyse do caldo sem cultura

Resultados identicos aos da analyse anterior.

d) Cultura no liquido mineral de Cohn, modificado (1)

22/id. Semeado com materia de uma cultura de
12/id. Temperatura de desenvolvimento
— 36°

26/id. Liquido turvo, de côr branca amarellada,
coberto de um tenue véo, que se dissipa
ao menor abalo.

3/9/id. Caracteres anteriores mais apparentes.
Deposito.

Analyse. Reacção alcalina. Turvo depois
de repetidas filtrações.

Potassa a 10%

Acido azotico

Acido acetico

Mais turvo.

Turvação soluvel no excesso.

Turvação soluvel no excesso. Não
precipita.

(1) Eis a fórmula: Agua distillada — 200 grammas; tartarato de ammoniaco — 2 grammas; phosphato de potassa — 2 grammas; sulfato de magnesio — 1 gramma.

Falta-lhe o phosphato tribasico de cal.

Alcool a 90°

Reacção do biureto

Reacção xanthoproteica

Ferrocyaneto de potassio, acetico

Acido picrico

Reagente de Tanret

Soluto saturado do chloreto de sodio — $\frac{1}{3}$, acidificação pelo acido acetico e ebullicão

Ether sulfurico

Precipitado branco, filamentososo, insolúvel a quente, no excesso, na agua de cal saturada e solúvel no phosphato de sodio a 10%.

Não se manifesta.

Quasi imperceptível.

Não precipita.

Não precipita.

Augmenta a turvação, que não se dissolve a quente.

Não precipita.

Augmenta a turvação. Emulsão fugaz.

CONCLUSÃO: Não ha substancias proteicas.

Analyse do liquido mineral sem cultura

Alcool a 90°

Reacção xanthoproteica

Reagente de Tanret

Acido picrico

Ether sulfurico

Precipitado não filamentososo, insolúvel na agua de cal, a quente e solúvel no phosphato sodio a 10%.

Quasi imperceptível.

Turvação homogenea.

Não precipita.

Não turva. Emulsão pela agitação, fugaz.

CONCLUSÃO: As substancias, precipitadas pelo alcool no liquido cultivado e por cultivar, differem só no aspecto do precipitado.

Vibrião de Lisboa (1)

a) Cultura no caldo de peptona com glicerina e glycose

- 4/id. Semeado com materia de uma cultura de
13/7/id. Temperatura do desenvolvi-
mento — 36°.
- 12/id. Turvação insignificante.
- 15/id. Vegetação fraca. Véo muito tenue e diffi-
cil de observar, porque o mais pequeno
movimento o destrua.
- 26/id. Pouco desenvolvido. Véo com os mesmos
caracteres.

Analyse. Reacção neutra. Cór amarella,
desmaiada. Liquido mucilaginoso.

Acido acetico

Precipitado aos floeos, e insolú-
vel no excesso, no phosphato
de sodio a 10% e solúvel na
agua de cal, saturada.

(1) É a bacteria encontrada nos doentes da epidemia que ultima-
mente grassou em Lisboa. Na opinião dos srs. dr. Luiz Pereira da
Costa e Ch. Lepierre é o *bacillus mesentericus vulgaris*. Segundo o
sr. Chantemesse é o vibrião de Koch attenuado.

<i>Precipitado (depois de lavado em agua) e hydrato de calcio, sob a influencia do calor</i>	Não se desenvolve ammoniaco.
<i>Ferrocyaneto de potassio, acetico</i>	Não precipita.
<i>Reacção do biureto</i>	Côr violeta azul.
<i>Reagente de Tanret</i>	Precipitado pulverulento, insolvel no reagente de Errera.
<i>Reacção xanthoproteica</i>	Muito nitida.
<i>Reagente de Spiegel</i>	Precipitado branco.
<i>Reacção de Sirw-Roberts</i>	Não se manifesta.
<i>Soluto saturado de chloreto de sodio—$\frac{1}{3}$ volume liquido, acidificação leve e ebullição</i>	Não precipita.
<i>Sulfato de ammonio (saturação)</i>	Precipitado grumoso.
<i>Reacção do biureto (depois da precipitação anterior e filtração)</i>	Não se manifesta.
<i>Soluto acido de phosphomolybdato de sodio</i>	Não precipita.

CONCLUSÃO: Exceptuada a peptona, não existe nenhuma substancia proteica. Ha uma gomma (1).

Ainda tentei a experimentação nos animaes, que, a breve trecho, abandonei. Para seguir fielmente os preceitos d'esse methodo, quasi sempre empregado sem rigor, precisava obter a substancia pura, o

(1) Para completar os traços geraes do estudo chimico d'esta gomma, cumpria fazer a analyse elementar para lhe determinar a formula; mas a perda de tempo com a solução do problema não é compensada pela sua importancia, apenas theorica.

que demandava grande quantidade de matéria impura, que não possuía.

Analyse do caldo sem cultura

Reacção alcalina.

Acido acetico

Reacção do biureto

Reagente de Tanret

Sulfato de ammonio (saturação)

Não precipita.

Côr roxa.

Precipitado solúvel a quente e no alcool.

Não precipita.

b) Cultura no caldo de carne

5/id. Sem. id. Desenvolvimento em tudo paralelo ao da cultura no soluto de peptona.

27/id. *Analyse.* Reacção neutra.

Acido acetico

Precipitado (depois de lavado em agua) e hydrato de calcio, sob a influencia do calor

Ebullição (depois de separar o precipitado do acido acetico)

Soluto saturado de chloreto de so-

Precipitado aos flocos, insolúvel no excesso, no phosphato de sodio a 10% e solúvel na agua de cal, saturada.

Não desenvolve ammoniaco.

Não precipita.

Não precipita.

<i>dio</i> — $\frac{1}{3}$ volume liquido, acidificação e ebulição	
<i>Acido azotico</i>	Não precipita.
<i>Ferrocyaneto de potassio, acetico</i>	Não precipita.
<i>Calor a 60° (approxim.)</i>	Não precipita.
<i>Reacção do biureto</i>	Côr violeta azul, desmaiada.
<i>Sulfato de cobre</i>	Precipitado abundante, amorfo e compacto.
<i>Reacção xanthoproteica</i>	Nítida.
<i>Sulfato de ammonio (saturação)</i>	Precipitado grumoso.
<i>Reacção do biureto (depois de separar o precipitado anterior)</i>	Não apparece.
<i>Soluto acido de phosphomolybdato de soda (depois de separar o precipitado anterior)</i>	Não precipita.
<i>Potassa a 100/0</i>	Precipitado crystallizado, insolúvel no excesso e soluvel no acido azotico.
<i>Potassa a 100/0 (no liquido filtrado depois de precipitar pelo acido acetico)</i>	Precipitado crystallizado, insolúvel no excesso e soluvel no acido azotico.

CONCLUSÃO: Existe uma gomma indeterminada e gelatina. Não ha as substancias proteicas a que me tenho referido.

Analyse do caldo sem cultura

Reacção alcalina.

<i>Acido acetico</i>	Não precipita.
<i>Reacção do biureto</i>	Côr violeta desmaiada.
<i>Soluto saturado de chloreto de so-</i>	Não precipita.

<i>dio</i> — $\frac{1}{3}$ volume liquido, acidificação leve e ebulição.	
<i>Acido azotico</i>	Não precipita.
<i>Calor a 60° (approxim.)</i>	Não precipita.
<i>Ferrocyaneto de potassio, acetico</i>	Não precipita.
<i>Sulfato de ammonio (saturação)</i>	Precipitado grumoso.
<i>Reacção do biureto (depois de separar o precipitado anterior)</i>	Não se manifesta.
<i>Reagente de Tanret (depois de separar o precipitado anterior)</i>	Não precipita.

CONCLUSÃO: A preparação do caldo não hydratou as substancias proteicas da carne.

e) Cultura na gelatina com peptona (1)

8/5/id. Sem.

12/8/id. Gelatina liquifeita. Deposito no fundo do tubo de cultura. Liquido limpido.

Analyse. Reacção alcalina.

<i>Acido acetico</i>	Precipitado aos flocos, insolúvel no excesso, no phosphato de sodio a 10% e solúvel na agua de cal, saturada.
<i>Precipitado (depois de lavado em</i>	Não se desenvolve ammoniaco.

(1) Existia na collecção de culturas do gabinete de bacteriologia. Preparação do meio de cultura: Gelatina—10 p.; agua—100 p. Faz-se fundir a banho-maria e ajunta-se 2 p. de peptona.

<i>agua) e hydrato de calcio, sob a influencia do calor</i>	
<i>Acido azotico</i>	Não precipita.
<i>Reacção do biureto</i>	Pouco distincta (côr azul), e só depois de grande diluição.
<i>Reagente de Tanret</i>	Precipitado abundante, compacto, insolúvel no alcool e a quente.
<i>Ebullição</i>	Não precipita.
<i>Reacção de Heller</i>	Não se manifesta.
<i>Sulfato de magnésio (saturação)</i>	Precipitado grumoso, aumentando durante algum tempo.
<i>Ligeira acidificação pelo acido acetico e ebulição (depois de separar o anterior precipitado)</i>	Não precipita.
<i>Reacção xanthoproteica (depois de separar o anterior precipitado)</i>	Não se manifesta.
<i>Ferrocyaneto de potassio, acetico</i>	Não precipita.
<i>Sulfato de ammonio (saturação)</i>	Abundante precipitado grumoso.
<i>Reagente de Tanret (depois de separar o precipitado anterior)</i>	Não precipita.
<i>Soluto acido de phosphomolybdato de sodio</i>	Não precipita.

CONCLUSÃO: Desappareceu a peptona. Formou-se uma gomma. Ha gelatina. Não existe nenhuma das proteicas referidas nas analyses anteriores.

*

* *

O vibrião de Lisboa não vegetou no caldo de alcalialbumina, nem no liquido mineral de Cohn.

*
* *
*

As analyses sobre os meios culturaes, sementeados com o vibrião de Lisboa, revelam factos que, dada a constancia do metabolismo das bacterias, constituem valiosos elementos de diagnostico bacteriologico: o vibrião fórma uma gomma e destroe rapidamente toda a peptona.

Como adiante se verá na analyse dos productos do vibrião de Koch da cholera de Paris, esta bacteria nem fórma gomma soluvel nem destroe completamente a peptona.

Ahi está, portanto, mais um argumento para sustentar a opinião proferida pelo gabinete de bacteriologia da faculdade de medicina, de que o vibrião de Koch e o vibrião de Lisboa são duas especies distinctas.

Vibrião de Koch (*da cholera de Paris*)

1) Cultura no caldo de peptona com glicerina e glycose

3/id. Semeado com materia de uma cultura de
20/7/id.

- 8/id. Regular desenvolvimento. Pellicula muito fina.
- 16/id. Mais desenvolvido. Véo menos fragil. Algum deposito.
- 22/id. A agitação não desfaz todo o véo, que se reduz a pequenos retalhos. Deposito abundante.
- Analyse.* Reacção acida. Côr amarella. Liquido turvo depois de filtrado.

Calor a 60° (approxim.)

Ebullição

Acido acetico

Soluto saturado de chloreto de sodio— $\frac{1}{3}$ volume liquido, ligeira acidificação e ebulição

Acido azotico

Reagente de Tanret

Reagente de Errera

Reacção do biureto

Ferrocyaneto de potassio, acetico

Acido picrico

Potassa a 10⁰/₀

Ammoniac

Sulfato de ammonio (saturação)

Reacção xanthoproteica

Não précipita.

Não precipita.

Não precipita. Não limpa.

Não precipita.

Não precipita. A turvação desaparece no excesso.

Precipitado fino, branco, solavel a quente e no alcool.

Precipitado fino, amorpho.

Côr violeta-roxa

Não precipita.

Precipitado pulverulento.

Augmenta a turvação, que não se dissolve no phosphato de sodio a 10⁰/₀.

Augmenta a turvação, que não se dissolve no phosphato de sodio a 10⁰/₀.

Não precipita.

Nitida.

CONCLUSÃO: A peptona não desapareceu. Não se formou nenhuma substancia albuminoide. Ha as reacções do corpo encontrado no caldo de peptona do *bacillus coli communis*, antes de cultivado, que, provavelmente, deriva das substancias associadas á peptona.

b) Cultura no caldo de carne

- 3/id. Sem. id. Desenvolvimento com os mesmos caracteres que o da cultura em peptona, mas mais pronunciado. (Utilizei-me do mesmo caldo que serviu para a cultura do *bacillus coli communis*).
- 24/id. *Analyse*. Reacção acida. Liquido turvo depois de filtrado.

<i>Soluto saturado de chloreto de sodio</i> — $\frac{1}{3}$ volume liquido, ligeira acidificação e ebulição	Não precipita.
<i>Reacção do biureto</i>	Côr violeta-azul.
<i>Reagente de Tanret</i>	Precipitado fino, insolúvel no alcohol.
<i>Alcool a 90°</i>	Precipitado fino amorfo.
<i>Calor (até 100°)</i>	Não precipita.
<i>Acido acetico</i>	Não limpa a turvação.
<i>Acido azotico</i>	Turvação solúvel no excesso.

<i>Potassa a 10%</i>	Augmenta a turvação, insolúvel no excesso.
<i>Ammoniaco</i>	Augmenta a turvação, insolúvel no excesso.
<i>Ferrocyaneto de potassio, acetico</i>	Não precipita.
<i>Sulfato de ammonio (saturação)</i>	Precipitado grumoso.
<i>Reacção do biureto (depois de separar o precipitado anterior)</i>	Não apparece.
<i>Reacção xanthoproteica</i>	Não apparece.
<i>Soluto acido de phosphomolybdato de sodio</i>	Não precipita.

CONCLUSÃO: Não existem substancias proteicas.

O vibrião de Koch não se desenvolveu no caldo de alcalialbumina, nem no liquido de Cohn.

Bacillo fluorescente (*especie nova*) (1)

a) Cultura no caldo de peptona com glicerina e glycose

6/id. Semeado com materia de uma cultura de
13/7/id. Temperatura do desenvolvi-

(1) Apparecida na agua de uma cisterna do sr. Dr. Epiphanio Marques, cujo estudo bacteriologico será publicado brevemente, nos *Annaes de l'Institut Pasteur* pelo sr. Ch. Lepierre.

É uma bacteria pathogena para os animaes (porquinho da India e coelho).

- mento — 36°. (Caldo que serviu para o *bacillus coli communis*).
- 10/id. Membrana espessa que cahe inteira no fundo do vaso. Ligeira fluorescencia.
- 23/id. Caracteres anteriores mais pronunciados.
- 6/9/id. Abundante deposito. Fluorescencia intensa.
- Analyse.* Reacção alcalina. Liquido turvo depois de filtrado.

Acido azotico

Desapparece a fluorescencia, reaparecendo pelo calor. Augmenta a turvação, solúvel no excesso.

Acido acetico

Augmenta a turvação, solúvel no excesso, insolúvel no phosphato de sodio a 10% e na agua de cal. Desapparece a fluorescencia.

Potassa a 10%

Augmenta a turvação, insolúvel no excesso.

Ammoniac

Augmenta a turvação, insolúvel no excesso. Cór alaranjada.

Alcool a 90°

Precipitado fino, branco, amorpho, solúvel em agua e insolúvel no reagente de Errera.

Ebullição

Não precipita.

Calor a 60° (approxim.)

Não precipita.

Reacção de Adamkiewicz

Não se manifesta.

Reacção de Piotrowsky

Cór roxa.

Reacção de Sirw-Roberts

Negativa.

Reacção xanthoproteica

Muito nitida.

<i>Soluto saturado de chloreto de sodio—$\frac{1}{3}$ volume liquido, acidificação ligeira e ebullição</i>	Não precipita.
<i>Ferrocyaneto de potassio, acetico</i>	Não precipita.
<i>Soluto acido de phosphomolybdato de sodio</i>	Precipitado pulverulento.

CONCLUSÃO: Não desapareceu a peptona, nem se formaram substancias proteicas.

b) Cultura no caldo de carne

6/id. Sem. id. Desenvolvimento aparentemente paralelo ao da cultura em caldo de peptona.

5/9/id. *Analyse.* Reacção alcalina. Liquido viscoso.

<i>Reacção de Adamkiévics</i>	Negativa.
<i>Sulfato de ammonio (saturação)</i>	Precipitado grumoso, pouco abundante.
<i>Reacção do biureto (depois de separar o precipitado anterior)</i>	Negativa.
<i>Reagente de Tanret (depois de separar o precipitado anterior)</i>	Não precipita.
<i>Reacção xanthoproteica (depois de separar o precipitado anterior)</i>	Muito nitida.
<i>Ferrocyaneto de potassio, acetico</i>	Não precipita.
<i>Calor a 60° (approxim.)</i>	Não precipita.

<i>Ebullição</i>	Não precipita.
<i>Reacção de Sirw-Roberts</i>	Não se manifesta.
<i>Acido azotico</i>	Não precipita.
<i>Acido acetico</i>	Precipitado aos flocos, soluvel na agua de cal e insoluel no phosphato de sodio a 10%. Não se desenvolve ammoniaco.
<i>Precipitado (lavado em agua) e hydrato de calcio, sob a influen- cia do calor</i>	

CONCLUSÃO: Não se formou nenhuma substancia proteica. Apareceu uma gomma, cuja fórmula não determinei; tambem não a experimentei nos animaes pelos motivos já indicados.

c) Cultura em liquido mineral (4)

8/6/id. Sem.

12/8/id. *Analyse*. Liquido de intensa côr amarella.

Fluorescencia notavel. Abundante de-

(4) Fórmula do liquido de cultura:

Agua—100 grammas; succinato de ammonio—2 grammas; glycerina—3 grammas; phosphato acido de potassio—0,5 grammas; sulfato de magnesio—0,1 gramma; chloreto de sodio—0,2 grammas.

Esta cultura pertencia á collecção do gabinete de bacteriologia,

posito de bacterias. Liquido muito lim-
pido depois de filtrado. Reacção alcali-
lina.

<i>Acido acetico</i>	Precipitado aos focos, insolúvel no excesso, no phosphato de sodio a 10% e insolúvel na agua de cal.
<i>Precipitado (depois de lavado em agua) e hydrato de calcio, sob a influencia do calor</i>	Não se desenvolve ammoniaco.
<i>Acido azotico (depois de separar o precipitado anterior)</i>	Não precipita.
<i>Calor a 60° (approxim.)</i>	Não precipita.
<i>Ebullição</i>	Não precipita.
<i>Soluto saturado de chloreto de sodio — 1/3 volume liquido, acidificação pelo acido acetico e ebulição</i>	Precipitado pulverulento, insolúvel na agua.
<i>Reagente de Spiegel</i>	Não precipita.
<i>Reacção de Sirw-Roberts</i>	Não se manifesta.
<i>Reacção do biureto</i>	Côr violeta-azul.
<i>Reagente de Tanret</i>	Precipitado pulverulento, insolúvel no alcool e a quente.
<i>Sulfato de cobre</i>	Precipitado compacto, amorpho.
<i>Soluto acido de phosphomolybdato de sodio</i>	Precipitado pouco abundante.
<i>Reacção do biureto (depois de separar o precipitado pelo acido acetico)</i>	Não se produz.
<i>Sulfato de ammonio (saturação)</i>	Precipitado grumoso.
<i>Reacção xanthoproteica (depois de separar o precipitado anterior)</i>	Não se manifesta.
<i>Reagente de Tanret (depois de separar o precipitado anterior)</i>	Não precipita.

<i>Soluto acido de phosphomolybdato de sodio (depois de separar o precipitado anterior)</i>	Não precipita.
<i>Sulfato de magnesio (saturação)</i>	Precipitado grumoso.
<i>Reagente de Millon (depois de separar o precipitado anterior)</i>	Não apparece precipitado córado de vermelho.
<i>Ferrocyaneto de potassio, acetico</i>	Não precipita.

CONCLUSÃO: Existe uma gomme (indeterminada) pouco abundante. Não ha substancias albuminoides.

d) Cultura em liquido mineral (1)

8/6/id. Sem.

14/8/id. *Analyse*. Reacção alcalina. Liquido fluorescente, amarello e viscoso.

<i>Acido azotico</i>	Desapparece a fluorescencia. Não precipita.
<i>Reacção de Adamkiewicz</i>	Não se manifesta.

(1) Fórmula do liquido:

Agua—100 grammas; asparagina—2 grammas; glycerina—3 grammas; phosphato acido de potassio—0,5 grammas; chloreto de sodio—0,1 gramma; sulfato de magnesio—0,1 gramma.

Esta cultura tambem era da collecção do gabinete.

<i>Reacção de Piotrowsky</i>	Côr violeta-azul.
<i>Soluto saturado de chloreto de sodio — 1/3 volume liquido, acidificação pelo acido acetico e ebulição</i>	Precipitado fino, insolavel na agua.
<i>Reacção de Sirw-Roberts</i>	Não se manifesta.
<i>Ferrocyaneto de potassio, acetico</i>	Não precipita.
<i>Acido acetico</i>	Desapparece a fluorescencia. Precipitado aos flocos, insolavel no phosphato acido de sodio a 100/0, no excesso e solavel na agua de cal.
<i>Precipitado (depois de lavado em agua) e hydrato de calcio, sob a influencia do calor</i>	Não se desenvolve ammoniaco.
<i>Sulfato de ammonio (saturação)</i>	Precipitado grumoso.
<i>Reagente de Tanret (depois de separar o precipitado anterior)</i>	Não precipita.
<i>Sulfato de magnesio (saturação)</i>	Precipitado grumoso.
<i>Reacção do biureto (depois de separar o precipitado anterior)</i>	Não se manifesta.
<i>Calor até 100°</i>	Não precipita.

CONCLUSÃO: Existe uma gomma (indefinida). Não ha albuminoides.

Ainda fiz a analyse chimica de uma cultura do bacillo fluorescente, em um liquido mineral, com 5 grammas de asparagina. A gomma era mais abundante.

Esta bacteria não se desenvolveu no caldo de alcalialbumina.

Bacillo typhico

a) Cultura no caldo de peptona com glicerina e glicose

16/8/id. Semeado em caldo identico ao da cultura do *bacillus coli communis* (1).

7/9/id. *Analyse*. Desenvolvimento regular. Nunca vi pellicula. Deposito pouco abundante. Reacção acida. Liquido turvo, depois de filtrado.

<i>Reacção de Piotrowsky</i>	Côr violeta-roxa.
<i>Reacção de Adamkiewicz</i>	Côr purpura muito ligeira.
<i>Soluto saturado de chloreto de sodio</i> — 1/3 volume liquido, acidificação pelo acido acetico e ebulição	Não precipita.
<i>Sulfato de magnesio (saturação)</i>	Não precipita.
<i>Sulfato de ammonio (saturação)</i>	Não precipita.
<i>Ferrocyaneto de potassio, acetico</i>	Não precipita.
<i>Reagente de Millon</i>	Côr avermelhada.

(1) A materia para semear esta cultura foi colhida n'uma cultura em gelatina, que o sr. Ch. Lepierre trouxe do Instituto Pasteur. Eguamente a do *streptococcus aureus*.

<i>Calor até 100°</i>	Não precipita.
<i>Acido azotico</i>	Augmenta a turvação, solúvel no excesso.
<i>Acido chlorhydrico</i>	Augmenta a turvação, solúvel no excesso.
<i>Potassa a 10⁰/₀</i>	Precipitado aos flocos, insolúvel no excesso.
<i>Ammoniaco</i>	Precipitado aos flocos, insolúvel no excesso.
<i>Acido picrico</i>	Precipitado amarelo.

CONCLUSÃO: Não desapareceu a peptona, nem se formaram substancias albuminoides.

b) Cultura no caldo de carne

16/8/id. Semeado em caldo identico ao da cultura do *bacillus coli communis*.

8/9/id. *Analyse*. Mais desenvolvido que no caldo de peptona. Deposito pouco abundante. Líquido turvo. Côr amarella. Reacção acida.

<i>Acido acetico</i>	Augmenta a turvação, solúvel no excesso.
<i>Acido azotico</i>	Augmenta a turvação, solúvel no excesso.
<i>Potassa a 10⁰/₀</i>	Precipitado fino, amorpho.
<i>Ammoniaco</i>	Precipitado fino, amorpho.

<i>Alcool a 90°</i>	Precipitado aos flocos.
<i>Reacção de Piotrowsky</i>	Côr violeta-azul.
<i>Reacção de Adamkiewicz</i>	Não se manifesta.
<i>Soluto saturado de chloreto de sodio — 1/3 volume liquido, acidificação ligeira pelo acido acetico e ebullição</i>	Não precipita.
<i>Calor até 100°</i>	Não precipita.
<i>Sulfato de ammonio (saturação)</i>	Precipitado grumoso.
<i>Reacção xanthoproteica (depois de separar o precipitado anterior)</i>	Não se manifesta.
<i>Soluto acido de phosphomolybdato de sodio (depois de separar o precipitado anterior)</i>	Não precipita.
<i>Sulfato de magnesio (saturação)</i>	Precipitado grumoso.
<i>Reagente de Tanret (depois de separar o precipitado anterior)</i>	Não precipita.
<i>Ferrocyaneto de potassio, acetico</i>	Não precipita.

CONCLUSÃO: Não se formou nenhum albuminoide.

O bacillo typhico não se desenvolveu no caldo de alcalialbumina, nem no liquido mineral de Cohn.

Staphilococcus aureus

a) Cultura no caldo de peptona com glicerina e glicose

16/8/id. Sem.

31/id. *Analyse.* Desenvolvimento regular. Véo á superficie, não contínuo. Deposito. Cór amarella de ouro. Liquido limpido depois de filtrado.

<i>Reacção de Millon e ebulição</i>	Ligeiro precipitado córado de vermelho.
<i>Reacção de Piotrowsky</i>	Cór violeta-roxa.
<i>Reagente de Spiegel</i>	Precipitado regular.
<i>Reacção de Sirw-Roberts</i>	Não se manifesta.
<i>Sulfato de ammonio (saturação)</i>	Não precipita.
<i>Acido azotico</i>	Não precipita.
<i>Calor até á ebulição</i>	Não precipita.
<i>Soluto saturado de chloreto de sodio — 1/3 volume liquido, acidificação pelo acido acetico e ebulição</i>	Não precipita.
<i>Ferrocyaneto de potassio, acetico</i>	Não precipita.
<i>Reagente de Errera</i>	Precipitado fino, amorpho.
<i>Acido acetico</i>	Não precipita.

CONCLUSÃO: Não desapareceu a peptona. Não se formou nenhuma substancia proteica.

b) Cultura no caldo de alcalialbumina

22/id. Semeado com materia colhida na cultura em peptona de 16/id.

6/9/id. *Analyse.* Desenvolvimento pouco pronunciado. Sem deposito. Sem pellicula. Reacção alcalina.

Acido acetico

Precipitado abundante, compacto, solúvel no excesso, no phosphato acido de sodio a 10% e na agua de cal.

Soluto saturado de chloreto de sodio — 1/3 volume liquido, acidificação pelo acido acetico e ebullicão (a)

Precipitado grumoso, abundante, solúvel no phosphato acido de sodio a 10%.

Reacção do biureto

Côr violeta-roxa.

Ebullição (depois de separar o precipitado pelo acido acetico)

Não precipita.

Filtrando depois da reacção (a) e deixando arrefecer o liquido filtrado

Não apparece precipitado.

Sulfato de magnesio (saturação)

Precipitado grumoso.

Reacção xanthoproteica (depois de separar o precipitado anterior)

Não se manifesta.

Reagente de Tanret (depois de separar o precipitado anterior)

Não precipita.

Sulfato de magnesio (depois de separar o precipitado pelo acido acetico)

Não precipita.

<i>Ferrocyaneto de potassio acetico</i> (depois de separar o precipitado pelo acido acetico)	Não precipita.
<i>Soluto acido de phosphomolybdato</i> de sodio (depois de separar o precipitado pelo acido acetico)	Não precipita.

CONCLUSÃO: Não se formou nenhum albuminoide.

O *streptococcus aureus* não se desenvolveu no liquido mineral de Cohn.

Não fiz a analyse da cultura em caldo de carne, porque se contaminou ao introduzir mais liquido, quando a vegetação já era notavel.

Estas analyses, bastante numerosas, mas insufficientes para se formular desde já uma generalisação, revelam factos em contradicção com as ideias sobre a natureza albuminoide dos venenos das bacterias, admittidas hoje na sciencia.

É corrente a opinião de Christmas, de que o *staphilococcus aureus* segrega uma substancia proteica toxica, e de que são da mesma natureza os venenos do vibrião de Koch e do bacillo de Eberth. Menciono só estes microbios, porque pertencem ao quadro dos meus trabalhos.

Entretanto, as meticulosas analyses chimicas que realizei pelos mais recentes processos aconselhados

nos auctores de mais notavel reputação, não confirmam aquellas affirmações, que correm na bacteriologia como verdades incontestaveis.

Onde estará o erro?

Sem duvida ha muitos trabalhos sobre o assumpto, em que a critica rigorosa revela notaveis deficiencias e conclusões illegitimas. As considerações que me suggeriu a excursão atravez da litteratura microbiologica propria, dispensam o que neste logar tinha cabimento.

É possivel que ao chegar aqui, ao fim do meu trabalho, lembre perguntar qual o intuito de tão numerosas reacções chimicas, que tantas horas consumiram? quaes as vistas assenhoreadas por esses quadros analyticos?

É simples a resposta.

No curto prefacio que precede a dissertação, ha considerações para responder aos espiritos mais exigentes, mas que não desejem ver a sciencia a preoccupar-se só com assumptos de immediato interesse practico.

Na realidade, ahi proclama-se que são do futuro os principaes problemas sobre que o metabolismo das bacterias ha de espargir intensa luz; só quando esse ramo de microbiologia estiver desenvolvido e não desabrochado apenas, é que surgirá a almejada solução de tantos enigmas.

Até então é necessario colligir factos, para depois estabelecer relações, crear syntheses e deduzir importantes consequencias; em summa, para edificar a sciencia.

É essa a evolução racional de todas as sciencias, o processo da sua organização, de que não pôde desviar-se o metabolismo microbiologico.

Eahi fica uma collecção d'elles a estender o rol dos conhecidos e á espera dos vindouros, para depois se architectar um trabalho de conjuncto, em cujo ambito deparar-se-ha a desejada solução de tantos mysterios da medicina.

BIBLIOGRAPHIA

- L. BRIEGER, *Microbes, Ptomaines et Maladies*, trad. ROUSSY et WINTER, Paris, 1887.
- W. D. HALLIBURTON (M. D., B. Sc., M. R. C. P.), *Chemical Physiology, (of book-text)*, London, 1891.
- C. NEUBAUER, JUL. VOGEL, *Analyse des Harns, Anleitung zur qualitativen und quantitativen*, Wiesbaden, 1890.
- N. GAMALEIA, *Poisons bactériens*, Paris, 1892.
- ARMAND GAUTIER, *Cours de Chimie*, tom. III, Paris, 1892.
- Encyclopédie chimique*, pub. sous la direct. de Fremy, tom. IX, *chimie des liquides et des tissus de l'organisme*, Paris, 1892.
- WURTZ, *Dictionnaire de chimie*, 2.^e suppl., A-B, Paris, 1892.

ED. WILLM et HANRIOT, *Traité de Chimie minérale et organique*, tome IV, Paris, 1889.

CHARRIN, *Poisons de l'organisme*, Paris.

WURTZ, *Technique Bactériologique*, Paris.

Centralblatt für Bakteriologie und Parasitenkunde,
Iena den. 9 September, 1893.

Annales de l'Institut Pasteur, pag. 469, 1888.

» » pag. 380, 1890.

» » pag. 632, 1892.

» » pag. 318, 1894.

1895

.....

PRIMERA PARTE

.....

8	I
10	II
18	III

.....

25	I
30	II
35	III
37	IV

INDICE

Pag.

PREFACIO xi

PRIMEIRA PARTE

Ptomainas

I	3
II	Periodo de Selmi e Gauthier.....	10
III	Periodo de Brieger.....	19

Ptomainas da putrefacção

I	Ptomainas da carne dos mammiferos, putrefacta.....	25
II	Ptomainas do peixe putrefacto.....	30
III	Ptomainas do queijo putrefacto.....	35
IV	Ptomainas da gelatina putrefacta.....	37

	Pag.
V Ptomainas do cadaver humano.....	41
Demonstração do apparecimento precoce de ptomainas.	43
Demonstração da variabilidade de ptomainas com os órgãos analysados e o tempo de putrefacção.....	44
Demonstração da influencia positiva do oxygenio na for- mação de ptomainas.....	51

Ptomainas das bacterias pathogenas

Bacillo typhico.....	57
Bacillo de Nicolaier.....	58
Staphilocooccus pyogenes aureus.....	59
Bacillo de Koch (<i>da cholera asiatica</i>).....	60
Bacillo pyocyanico.....	61
ORIGEM DAS PTOMAINAS.....	64

Substancias albuminoides

I Analyse dos trabalhos de Brieger e Fraenkel sobre a for- mação de substancias albuminoides pelos bacillos de Löffler e de Eberth e pelo vibrião de Koch.....	69
II Analyse dos trabalhos de Hankin sobre as albumoses do <i>bacillus anthracis</i>	71
III Analyse dos trabalhos sobre a alcalialbumina dos micro- bios (Buchner).....	73
IV Analyse dos trabalhos de Westbrook sobre as substancias proteicas do vibrião de Koch.....	75
V Analyse dos trabalhos de Uschinsky sobre as peptonas dos bacillos de Löffler e Nicolaier.....	83

SEGUNDA PARTE

Trabalhos originaes

	Pag.
I Tentativas para isolar e cultivar o bacillo de Koch.....	87
II Analyse chimica de diferentes meios de cultura	91

Bacillus coli communis

a) Cultura no caldo de peptona com glicerina e glycose	91
Analyse do caldo sem cultura.....	93
b) Cultura no caldo de carne.....	"
Analyse do caldo sem cultura	94
c) Cultura no caldo de alcalialbumina	95
Analyse do caldo sem cultura.....	97
d) Cultura no liquido mineral de Cohn, modificado.....	"
Analyse do liquido mineral sem cultura	98

Vibrião de Lisboa

a) Cultura no caldo de peptona com glicerina e glycose.....	99
Analyse do caldo sem cultura.....	101
b) Cultura no caldo de carne.....	"
Analyse do caldo sem cultura	102
c) Cultura na gelatina com peptona	103

Vibrião de Koch (*da cholera de Paris*)

a) Cultura no caldo de peptona com glicerina e glycose	105
b) Cultura no caldo de carne.....	107

Bacillo fluorescente (specie nova)

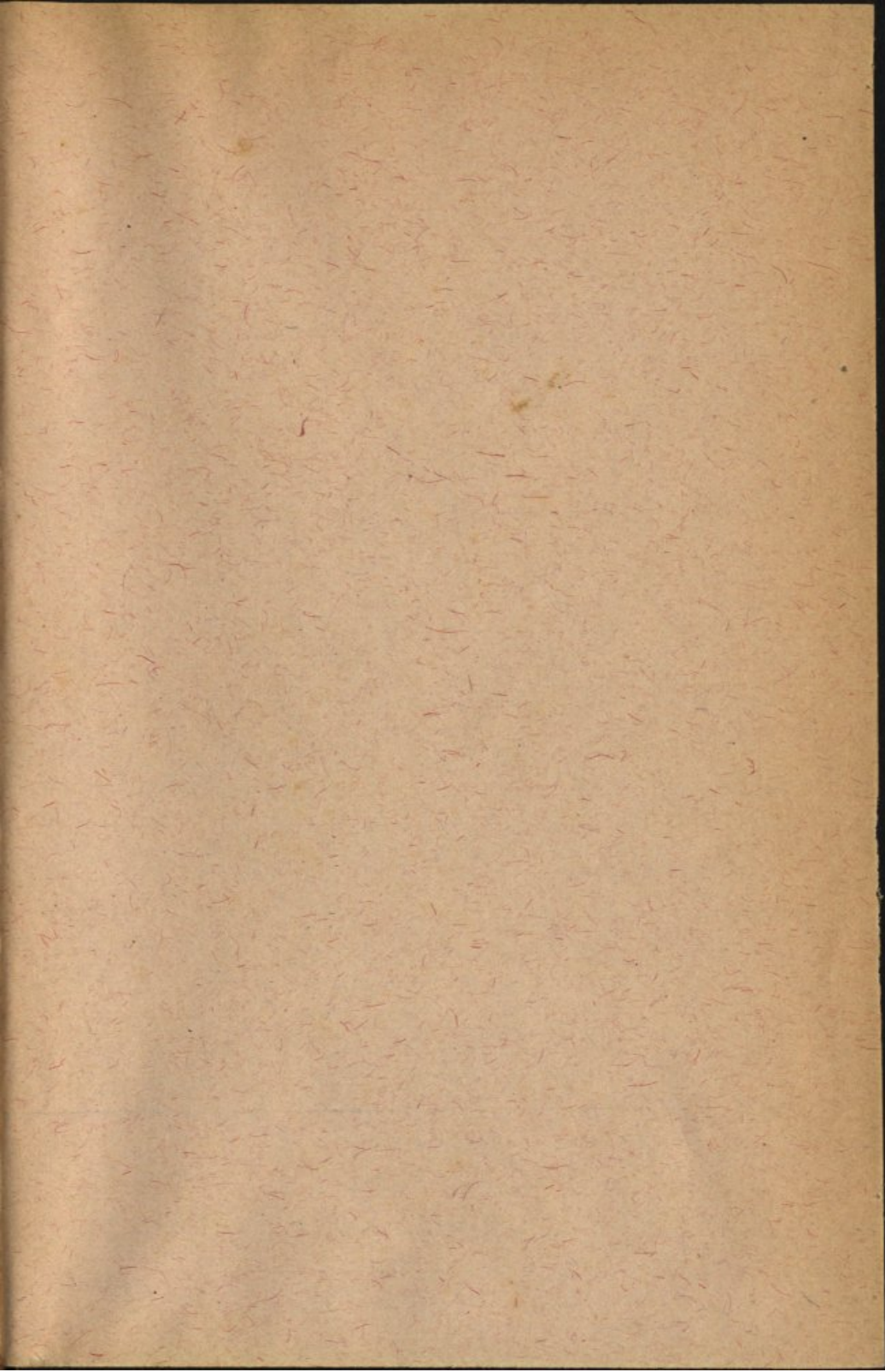
	Pag.
a) Cultura no caldo de peptona com glicerina e glycose.....	108
b) Cultura no caldo de carne.....	110
c) Cultura em liquido mineral.....	111
d) Cultura em liquido mineral.....	113

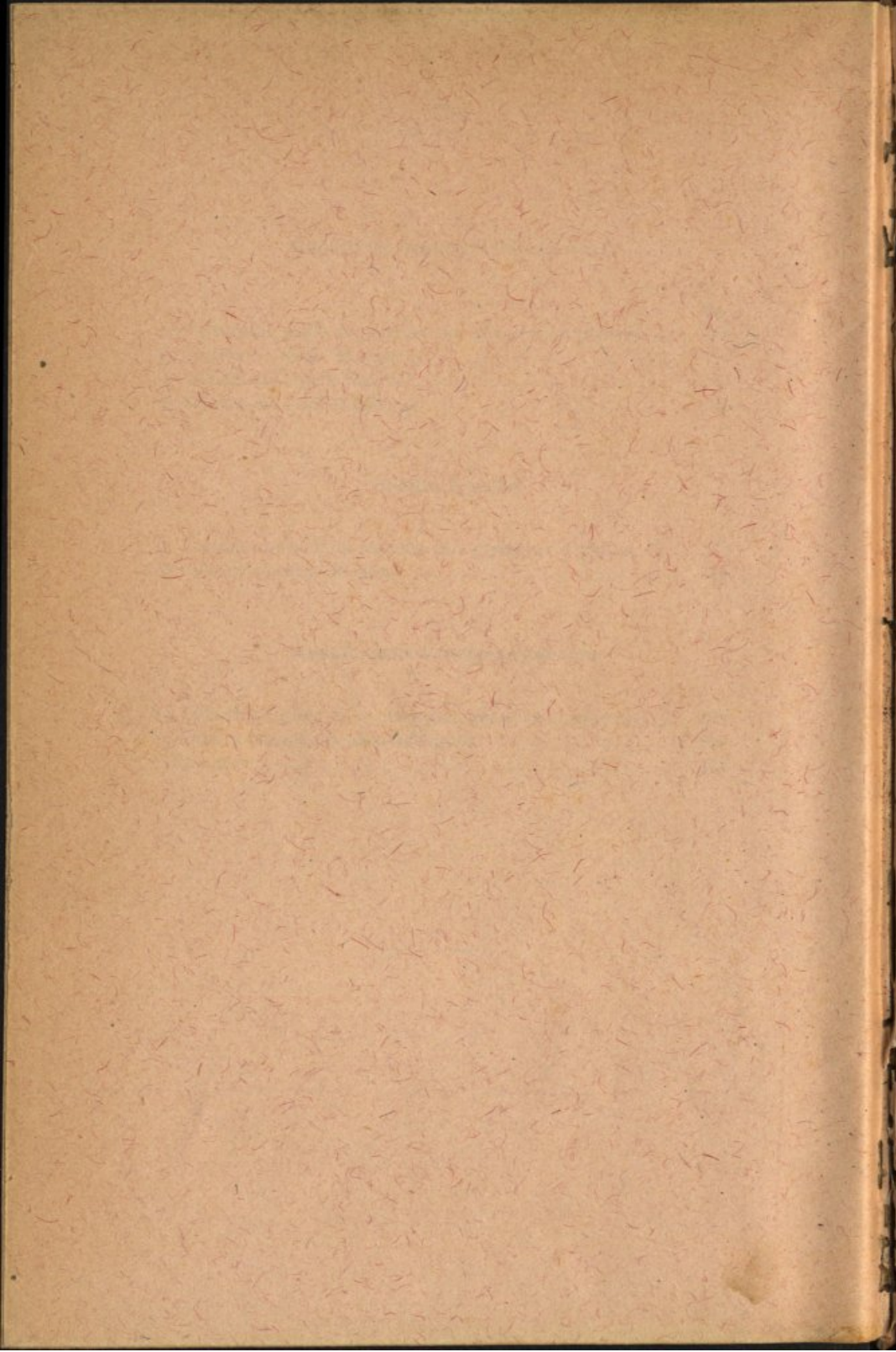
Bacillo typhico

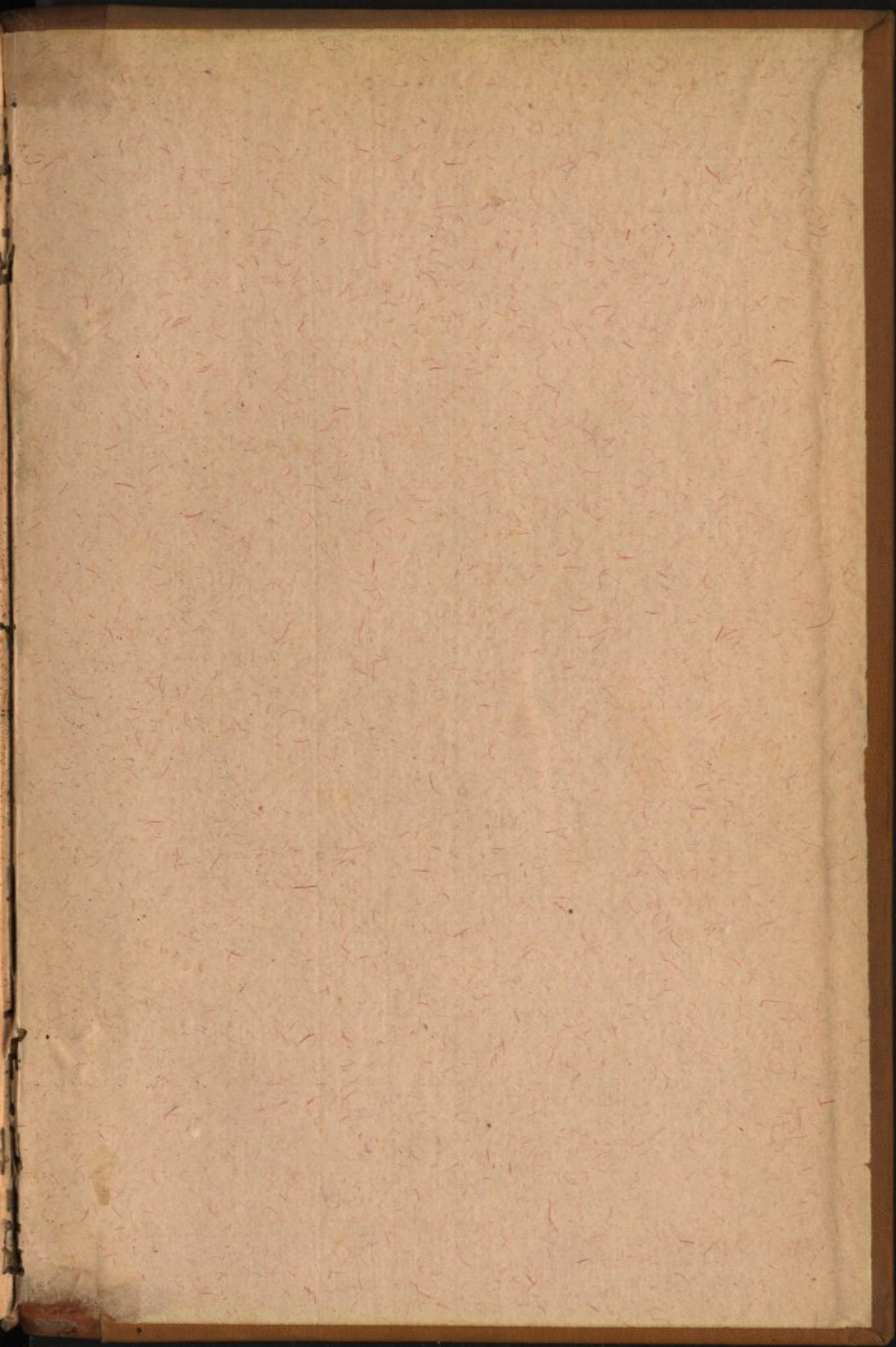
a) Cultura no caldo de peptona com glicerina e glycose	115
b) Cultura no caldo de carne	116

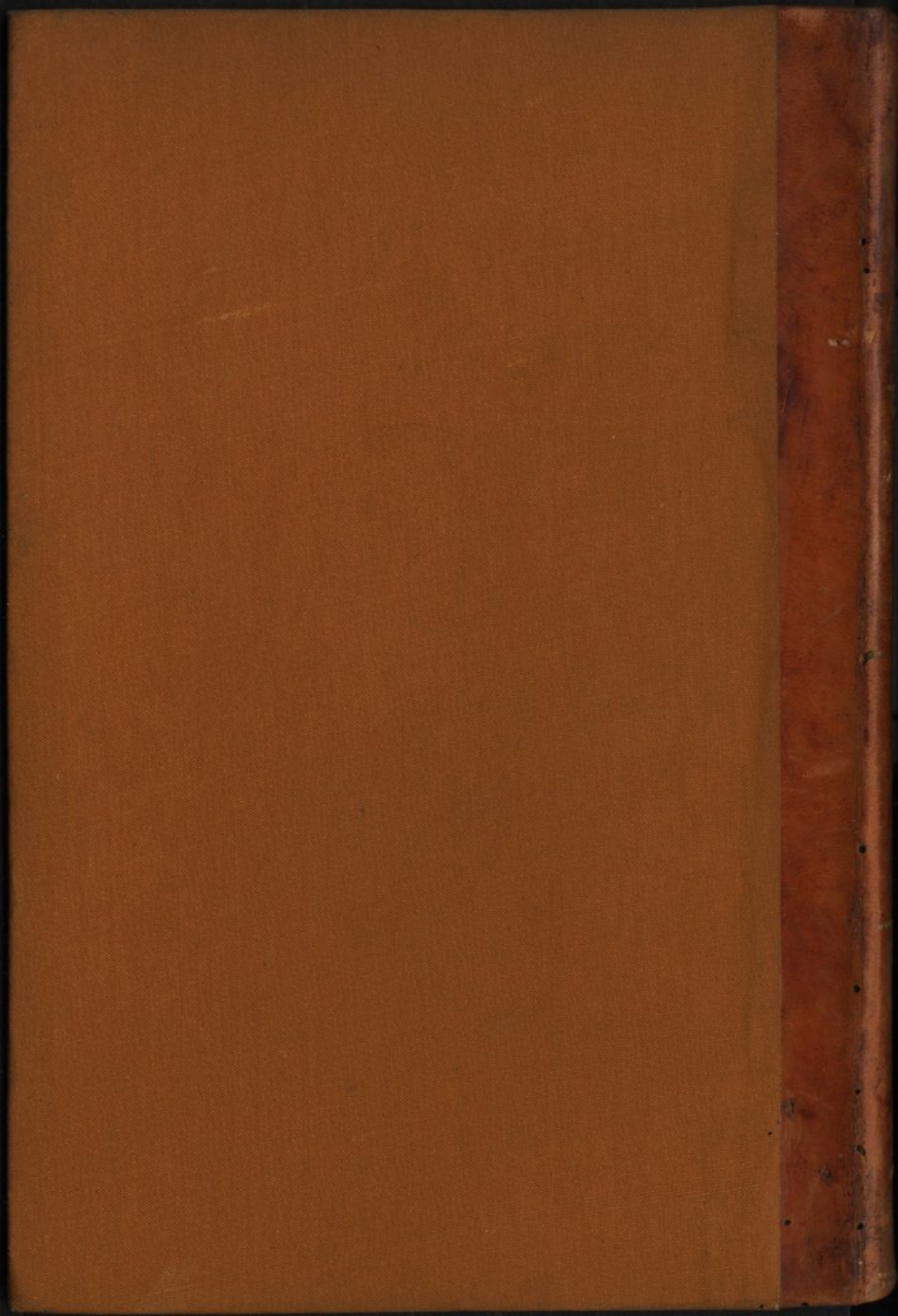
Staphilococcus pyogenes aureus

a) Cultura no caldo de peptona com glicerina e glycose.....	118
b) Cultura no caldo de alcalialbumina.....	119
BIBLIOGRAPHIA	123









MEDICINA

S. BASTO - DISSERTAÇÃO INAUGURAL

1894