

*Fermentação da lactosa*

CONTRIBUIÇÃO PARA O ESTUDO DAS BACTERIAS  
LACTICAS ESPECIFICAS (Syn. vulgar «*Fermentos lacticos*»)

NA SUA APLICAÇÃO EM MEDICINA

Prof. AD. BATISTA RAMIRES

da Academia das Ciências de Lisboa

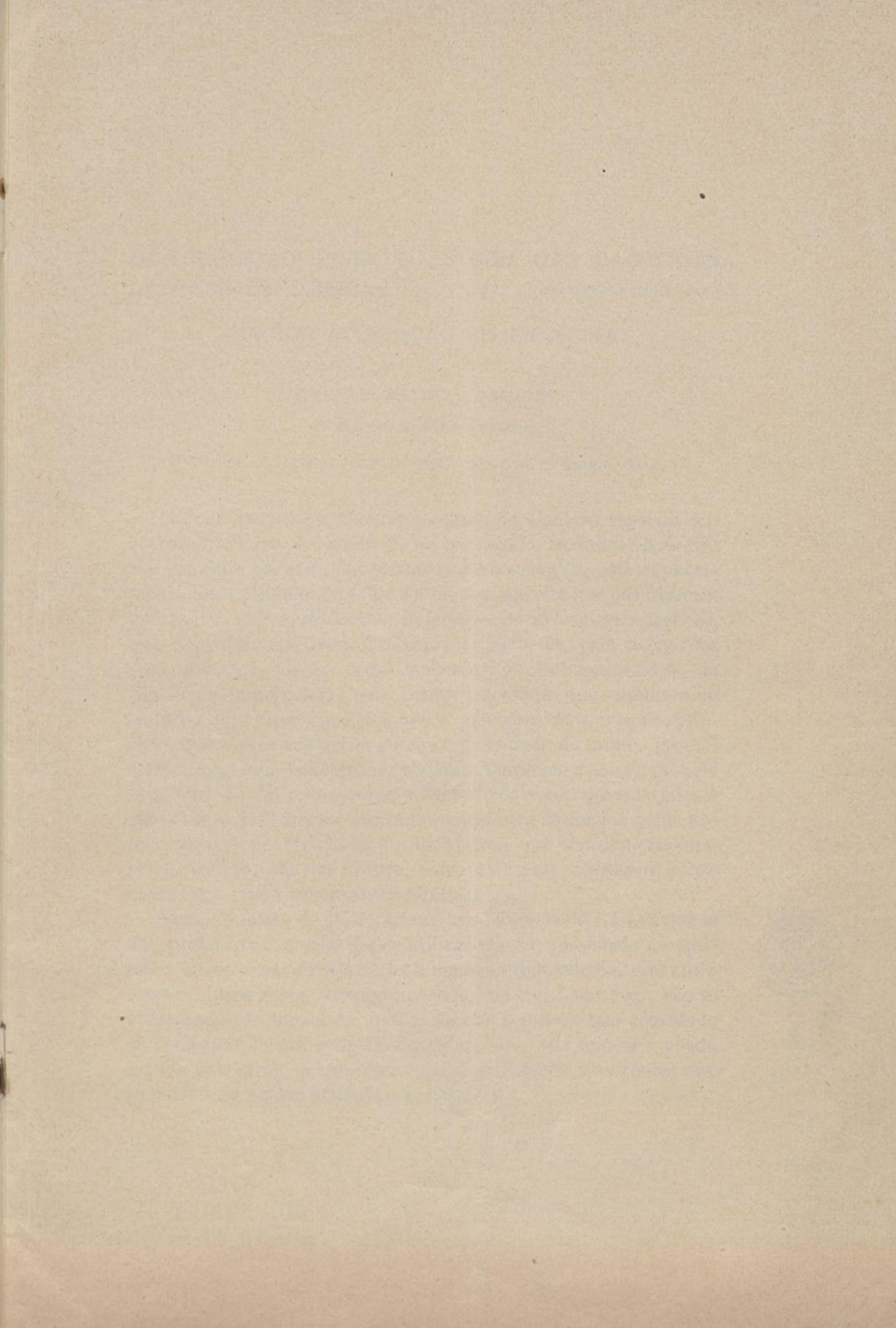
DIRECTOR DO LABORATÓRIO DE MICROBIOLOGIA «FERREIRA LAPA»

1930

Of. Gráfica, L.<sup>da</sup> — Rua Oliveira, (ao Carmo), 8  
LISBOA









# CONTRIBUIÇÃO PARA O ESTUDO DAS BACTERIAS LACTICAS ESPECIFICAS (Syn. vulgar «*Fermentos lacticos*»)

## NA SUA APLICAÇÃO EM MEDICINA

Prof. AD. BATISTA RAMIRES

da Academia das Ciências de Lisboa

DIRECTOR DO LABORATÓRIO DE MICROBIOLOGIA «FERREIRA LAPA»

Merece particular atenção o estudo de algumas especies microbianas de que, ha muito já, na medicina e na indústria se tira rial proveito, podendo êle elevar-se a maior valor, pelo conhecimento mais perfeito da extensão da sua actividade e das diversas influencias que a orientam. Referimo-nos ás bacterias lacticas, que hoje desempenham um papel importante, pela acção das suas diastases, não só como instrumentos de transformação de conhecida importancia, pela maior actividade que conferem ao trabalho de outras especies a que se associam, mas, e muito principalmente, pela sua acção contra a actividade de muitos proteolytas. Logar bem saliente, na verdade, merecem estes sêres, pelo valor rial de um recurso que a bacteriologia entregou ha anos á medicina e á indústria, em notaveis estudos assinados pelos nomes illustres de Metchnikoff e de Massol, que simultaneamente, pode dizer-se, um em França, outro na Suissa, chegaram sôbre o seu valor rial, a conclusões definitivas.

Nesse capítulo da protecção que conferem contra a actividade dos proteolytas, a sua acção útil resulta de um estado de antibiose microbiana, ou seja de uma incompatibilidade cultural entre estes e outros sêres, influido portanto no resultado final, não só a desproporção inicial em que estão uns e outros, mas sobretudo as condições da sua actividade celular; ora, esta tem-se avaliado menos pelo grau de multiplicação e orientação zimogénica que pela cifra da acidez acusada nas culturas.



RC  
INCT  
57  
RAM

Tem sido sempre esse o indicador do valor utilário de uma cultura dessas bacterias no campo das suas applicações práticas, — indicador bem falivel, como adeante mostraremos. Numa pequena memória, erradamente indicámos ha anos esse indicador como meio rapido de apreciação, determinando pela soda  $\frac{N}{10}$  a acidez total das culturas, acred tando nós, como ainda hoje geralmente em Portugal e no estrangeiro se acredita, que nas suas culturas a acidez traduz toda a actividade celular, e que ela é o instrumento único das bact. laticas no combate dos protéolytas; e assim, nós tinhamos estabelecido para uma acidez regular, expressa em acido lactico, o limite minimo de 1,5 % nas culturas de 36 a 48 horas de estufa.

Mas, observações posteriores mostraram-nos que tinhamos dado uma indicação errada, — e o pior é que o erro ficou, cometendo-o hoje quem a segue dentro ou fóra do laboratório, o que entre nós como lá fóra é geral, cumprindo-nos rectifica-la. Antes disso, porém, queremos apontar áquêles a quem interesse este ramo da bacteriologia ou dele faça applicação, a observação de que os bacilos laticos não possuem no leite integral, não obstante ser este o seu meio natural, aquilo a que podemos chamar a sua maior actividade antiputrida, em que — ver-se-ha adiante — a acção da acidez é secundária. Retirados do seu meio natural para meio extranho, de outra constituição ou habitado por especies diferentes, desde que a êle se adaptem, aí adquirem maior actividade em frente de muitos anaerobios. Começa a notar-se em culturas feitas em caldo de peptona e caldo de malte, e mais se nota em culturas em que se semeiam bacterias que atacam a materia proteica (*B. subtilis*, *Pseudom fluorescens*), algumas especies do genero *Tyrothrix*, e outras.

Marshall e Koning foram os primeiros a notar essa influencia, embora observada sob outro aspecto, que depois veio a confirmar-se, — não sendo isso coisa que a nossa razão não veja, à luz da biologia experimental, como um resultado natural da reacção especifica da celula viva, vinda da mesma capacidade potencial, pensamos nós, de onde, por mecanismo semelhante ou outro, vêm todas essas diastases electivas e vêm os anticorpos, etc.

E aqui está uma das razões talvez porque Tissier, cujos trabalhos — de exclusiva applicação em medicina — Metchni-

koff poz tanto em relêvo, prefere sempre as culturas em que não entra o leite, a mesma razão porque, empregando culturas em leite, tem de se recorrer a maiores doses.

Neste ponto, o que nos tem dado melhor resultado são as culturas feitas em caldo de malte com sôro de leite, segundo as necessidades destes bacilos, que são as que podem efectivamente prestar em todos os casos melhor serviço. E, para mais, succede o facto, a notar, pouco frequente mas rial, com algumas especies lacticas, de na mesma cultura baixar a acidês depois de atingir um certo limite. Pareceria á primeira vista, vai em parenthesis, tratar-se de um caso de reversibilidade enzymatica, mas seria absurdo admiti-la, dada a diferença de estructura esteoquimica entre a molecula-acido e a molecula-assucar (1).

No estudo das bacterias lacticas, essas variações da acidês têm sido objecto de divergencias que a todos interessa conhecer, e que aqui merecem referencia Para certo autor (2), que uma vez entrou nesta questão, vendo em tudo erros, essas variações não existem, desde que os individuos e condições de cultura sejam os mesmos, não admitindo em individuos da mesma origem trabalho acidogeneo diferente. Comentando êle o estudo do prof. Charles Richet, que pôs essas variações bem em evidencia, tentou demonstrar que aquêle eminente professor errou por imperfeição de tecnica, e que por egual erraram todos os bacteriologistas que as consignaram.

Teremos errado todos. Mas, o autor daquela memória, pretendendo corrigir o erro, ainda erro maior cometeu. Ao lado de reflexões justas, no decorrer da sua critica notamos faltas, inadmissiveis hoje em quem cultiva a Biologia. A primeira é recusar a estas especies microbianas a influéncia da *individualidade*, já de bem longe reconhecida em todos os sêres, — e impossível não ser assim sem ir contra os principios geraes que regem a vida. Fazendo

---

(1) Notando o facto, comunicámo-lo para fóra, havendo quem o atribua a um mecanismo semelhante ao que ha anos mostrámos (*A amphibiose na fermentação alcoolica* — 1913) explicando o aparecimento do alcool na vida anaerobia da levedura, faltando na vida aerobia, — alcool que, nesta, a propria levedura utiliza, combustando-o, como meio natural de ter em calorias a energia de que carece. Em verdade, não ha duvida, dá-se aqui fenomeno semelhante.

(2) A. Lumière. — «Anais do Instituto Pasteur» n.º 11, pag. 999.

ponto de apoio nas palavras justas de Claude Bernard, de que «os phenomenos da vida têm tanta regularidade como os phenomenos fisico-quimicos, quando se põem em condições identicas», não deu, a esta expressão certa, uma interpretação exacta. Pois, que são, tratando-se de seres vivos, condições identicas? Apenas o conjunto de factores que formam o meio externo, aqueles que estão sob a nossa directa observação? Ao lado dessas condições externas temos de contar as condições intracelulares, e, nessas, a identidade ou igualdade perfeita não existe. A diferença só podemos reconhecê-la, quando podemos, colocando os individuos em identicas condições culturaes, mas sujeitos á acção de uma influência extranha, e vendo depois como eles reagem. A individualidade fisiologica não é mais que uma maneira de reagir dentro da especie. Nós estamos a vê-la a cada momento, notando no mesmo caldo de cultura bacterias que se desenvolvem melhor que outras; notando nos pequenos animais de experiência, da mesma geração, sensibilidade diferente quando são injectados de certa dose de subs. toxica; e é essa desconcertante maneira individual de reagir, tantas vezes tão diferente, uma das grandes difficuldades que se topam na pratica experimental, a mesma que o medico a cada passo encontra no exercicio da sua difficil missão.

Outro erro atribuido ao prof. Richet pelo mesmo auctor, é o das variações de actividade dos bacilos lacticos em meio adicionado de substancias toxicas, — afirmação aquella que contestamos, porque, sendo contrária á verdade por nós reconhecida, tão solidamente como a reconheceu o prof. Richet, e com êle tantos investigadores, sôbre essa verdade assenta o método que adiante propomos na cultura dos «fermentos lacticos» para fins terapêuticos ou industriaes. Estas variações são um facto real, e o autor que não as admite esquece esse phenomeno interessante, descoberto na vida de muitas especies microbianas, e a que Naegeli deu o nome de *acção oligodinâmica*, hoje bem conhecida e escrupulosamente verificada. Importa recorda-la em dois traços rapidos:

Um grande número de seres microbianos, cultivados em meio proprio a que se adicionou um antiséptico (o permanganato de potássio, o sulfato de cobre, o bichloreto de mercurio etc.) revelam êste interessante phenomeno: levada a diluição do antiséptico muito alem da sua acção tóxica, chega-se a uma dose com a qual se ma-

nifesta o surpreendente resultado de uma muito maior actividade vital. Exemplificando: o bichloreto, que acima de  $1/20.000$ , não determinando a morte, pelo menos suspende a actividade multiplicadora da levedura de cerveja, em soluções mais diluídas, mais que  $1/100.000$ , essa actividade cresce, atingindo a levedura na dose de  $1/300.000$  de bichloreto, o seu maximo desenvolvimento. Quere dizer: êste sacharomyceta em presença dêste tóxico naquela dose, aparece-nos com uma actividade notavelmente mais elevada, revelada na formação de um maior número de células. Nessa dose infinitesimal, a substância tóxica actúa, como se vê, como um excitante.

Esta acção, bem marcada por Naegeli, e hoje mais que sufficientemente verificada, observou-a o prof. Richet nos bacilos lacticos, onde nós a notámos também. E, se ela não é mais que o resultado de um erro de técnica, feitos centenas de ensaios com diluições diversas de tóxico, como se explica que todos encontrem esta acção oligodinâmica sempre a mesma, sempre repetindo-se com a mesma regularidade, à volta da mesma diluição de  $1/300.000$ ? Se não considerassemos de boa-fé, sem duvida, quem chegou a tais resultados nas suas experiências, contra tudo até hoje observado e tudo que se pode prever, em frente de todos esses números de acidez, todos, até na casa decimal, matematicamente eguais, poder-se-ia pensar serem números de fantasia. A matemática não entra assim nêstes fenómenos da vida, e, por certo, há aí um erro de analyse maior do que aquele que se atribue ao prof. Richet e a todos que, como nós, aos mesmos resultados têm chegado.

São surpreendentes estas variações, como é tudo que frequêntemente chamamos «anomalias», nome que damos a certos fenómenos unicamente porque não conhecemos ainda o seu ponto de equilibrio dentro das leis naturais. Mas, na vida microbiana há outras não menos estranhas, e que nem por isso deixam de ser factos incontestaveis, por exemplo, o que se passa com a maior parte das bacterias, se não com todas, em frente do alcool, cuja acção antiséptica — anomalia já muito conhecida — é maior no alcool fraco e menor no alcool forte, diminuindo sempre, à medida que se eleva a gradação, e de tal forma que aquilo que ordinariamente chamamos «aguardente» pode ter uma acção imobilisante

aproveitavel, ao passo que o alcool que trivialmente empregamos marcando 90° a 95°, acusa valôr antiséptico desprezivel, e mais ainda o alcool absoluto, que só dá algum efeito útil para muitas especies, ao fim de 24 horas.

Em resumo do que atraz se disse : as variações de acidês, por vezes consideraveis, que o prof. Charles Richet achou na actividade das bacterias lacticas, são um facto rial, e esse elemento acidês não tem maior valôr que aquele que êste illustre fisiologista lhe dá.

Não entrando agora em detalhes desse fenómeno de energetica microbiana, que não cabem aqui, o que importa é pôr de parte essa indicação, ainda errada, vista por outro lado, pois que em contrário do que se tem admitido, a acidês das culturas ou o poder acidogeneo das suas bacterias, pouco tem que vêr com a acção immobilisante que elas exercem.

E' bem certo que o ácido lactico é desfavoravel a um grande número de germes, sobretudo anaerobios, e tão certo isso é que a medicina o aproveita no combate de individuos auctores de alguns desarranjos intestinais. Mas... é precisamente isso que nos tem iludido, seguindo o critério simplista de admitirmos sempre como causa única de um efeito a primeira em que reparamos; e assim, tem-se acreditado que as bacterias lacticas actuam fundamentalmente e exclusivamente pelo acido lactico que produzem. Ora, embora isso vá contra a opinião geral e contra o que tão claro parece — esse *claro* algumas vezes nos engana — nós vamos mostrar que na acção desses individuos não é o acido lactico que desempenha o principal papel, em frente dos anaerobios da putrefacção, e que a sua acção immobilisante, sufficiente em microbioses de pequeno fundo, não tem em outras senão uma função muito indirecta, bem diferente da que todos ainda lhe atribuem.

Antes de mais, convem lembrar que em meio anaerobio, ninguem o ignora, a mesma espécie lactica pode, mudando as condições, dar uma fermentação butyrica— está isso bem observado — seguindo-se-lhe outras fermentações; e ao mesmo tempo importa ainda notar que a acção do acido lactico não se estende senão a um limitado número de especies. Algumas há, e não poucas, que em meio marcando uma já notavel dose de acidês lactica, aí vivem perfeitamente, e não raro tomam o campo, multi-

plicando-se à vontade. Haja em vista, por exemplo, o que succede com diversas espécies estudadas por Winkler, entre outras as do genero *Tyrothrix*, que tão notavelmente nos deu a conhecer Duclaux: — o *T. tenuis*, *T. scaber*, *F. geniculatus*, etc., — que, sendo alguns fortes agentes de putrefacção da materia animal, no entanto vivem perfeitamente ao lado das bacterias lacticas; o mesmo com o *B. fluorescens liquefaciens*, *B. fœtidus*, etc., etc.

Haja ainda em vista o que se passa no leite abandonado ao tempo, em que a fermentação lactica termina sempre por uma fermentação putrida, rompendo através de tudo, de nada valendo a acidês do meio.

Haja mais em vista que especies bem assignaladas em muitas fermentações putridas, elas proprias são produtoras de acido lactico — o *Bact. coli* por exemplo, hoje até classificado no grupo das especies lacticas; outro exemplo temos no «bacilo de Welch», anaerobio da putrefacção, e que, não obstante, é grande productor de acido lactico. Outros se poderiam citar.

No entanto, não damos nós maior pêso a isso. Damol-o a outros factores experimentais que têm sem duvida valôr de grande destaque. Assim, notamos que culturas revelando grande acidês dão nos ensaios de laboratório, em frente dos anaerobios, resultado por vezes bem visivelmente inferior ao de outras culturas de egual multiplicação, mas de muito menor produção acida.

Notamos que fora do laboratório, em certas applicações de que temos conhecimento — dentro da medicina, segundo informações que alguns medicos nos forneceram — vemos bem culturas que accusam uma insignificante, pode dizer-se desprezivel acidês, quasi extincto esse tão conceituado «poder acidogeneo», darem na sua applicação os mais satisfatórios resultados, suspendendo a actividade das bacterias patogenicas do intestino (1).

Isto já merece nota. Mas observamos mais que algumas espe-

---

(1) Entre outros, temos presente, destacando-os por terem o relêvo de observações por assim dizer officiais, os casos registados no Hospital Militar da Estrela, sôbre doentes tratados, uns com desinfectantes quimicos, outros com preparações de «fermentos lacticos», como usam dizer — êstes todos com perfeito successo, segundo nos informaram, revelando-se êste tratamento iniludivelmente superior ao outro. No entanto, as culturas aí empregadas — sabemol-o, porque foram por nós preparadas — tendo excelente multipli-

cies laticas, quando passam do leite, seu meio natural, para meio diferente, como é o caldo de peptona glucosado, a sua acidês desce a números que não raro atingem apenas alguns decimos — dose a que o acido lactico é impotente para entrar uma fermentação putrida em marcha — e, no entanto, no emprêgo dessas culturas em caldo, o resultado final é tão nitido que, não obstante tão baixa acidês, a elas recorre de preferencia na medicina, sobretudo na clinica infantil, o dr. Henri Tissier, um dos mais celebres apostolos francêses dos «fermentos laticos», precisamente nos desarranjos que têm a sua origem nas fermentações putridas do intestino.

Notamos ainda que em diversos casos clinicos de que temos conhecimento, posta em toda a evidência a acção desses «fermentos laticos» — revelada na temperatura, desaparecimento do timpanismo, diminuição dos sulfoconjugados das urinas, etc., — quando tudo fazia esperar que as fezes fossem ácidas, elas surgem alcalinas: — casos de observação portugûesa, e antes, observações de Lürssen, Khüne e Pfeifer.

Notamos ainda que, quando a uma cultura de «fermento lactico» se associa uma cultura de levedura alcoolica, a levedura consome, como é sabido, uma grande parte do ácido lactico que aquela produz, e comtudo essa associação, longe de prejudicar a acção daquêles úteis bacilos em frente dos microbios da putrefação, antes muito nitidamente a exalta, de uma forma assás notavel, como mostraremos adiante.

Finalmente, Belonowsky, em notavel ensaio feito em 3 grupos de ratos, em que ao alimento diário do primeiro grupo foi adicionado leite e ácido lactico vulgar, ao segundo culturas de fermentos laticos em toda a actividade, ao terceiro culturas dos mesmos fermentos mortos pelo calôr moderado (60° a 65°?), feita a analise das fezes, Belonowsky observou resultados nulos do ácido lactico no 1.º grupo, resultados excelentes no 2.º, tratado pelos fermentos vivos, e resultados aproximadamente eguais no grupo tratado por culturas de formentos mortos. Estas últimas

---

cação, acusavam uma actividade de produção ácida verdadeiramente insignificante. E' dever nosso dizer que esta prova, para nós é a que menos vale, pelas condições em que os resultados foram colhidos.

observações, colhidas sob as vistas de Metchinkoff — os ensaios foram feitos no seu laboratório — ficaram esquecidas de todos, não obstante terem sido então publicadas nos «Anais do Instituto Pasteur», continuando a dar-se a esse invocado «poder acidogéneo» das bacterias laticas um valor que em verdade não tem.

Em resumo: O ácido lactico que as bacterias especificas produzem, só por si, tem um valôr muito secundário, por vezes nulo, para entravar a actividade das bacterias proteolyticas e, de uma maneira geral, os germes da putrefacção.

O que acabamos de expôr é bastante para não darmos à acidês o exagerado valôr que se lhe tem attribuído. Tudo leva a crer, observando os resultados de Belonowski — já Metchnikof o suspeitou — que o *B. bulgaricus* e o numeroso grupo dos chamados lacto-bacilos de que ele é o tipo, elaboram um corpo especificamente desconhecido, que ultimamente concluímos ser de naturêsa enzymoide, entravando a actividade de muitas especies microbianas, para as quais o ácido lactico, nas doses em que é produzido, não tem na maioria dos casos acção sequer passageiramente immobilisante. E o que se conclue com relação á especie *bulgaricus*, estende-se aos *B. lebenis*, *B. caucasicus*, estes por certo d'aquelle tipo, e aos *B. bifidus*, *Streptococcus lacticus*, etc., emfim a todos emque se tem notado acção semelhante.

E' um êrro supôr-se que a cifra de acidês acompanha a actividade util das culturas, aquilo a que alguns chamam virulência, emfim, em relação a esses anaerobios. O engano provém de se observar uma certa concordância entre a acidês e a forte coagulação em massa nas culturas em leite. Isso, porém, não significa mais que a presença, ao lado da acidês, de certa quantidade de protease coagulante. Todas as especies estudadas por Gorini, que ele classificou de «coagulantes-caseinolyticas», possuem em alto grau essa qualidade de coagulação em massa, devida à sua forte produção de «chimase», — e no entanto não têm que se saiba, as qualidades dos «bulgaricus», dos «bifidus» e de outros.

A zymogenese, de onde saem todos os corpos diastasicos e enzymoides — no sentido largo que aqui lhe damos — tem na quantidade de cada producto elaborado uma capacidade limitada, e todo o consumo de energia no aumento de um producto, re-

sulta em diminuição de outros, — sendo natural admitir que a formação de «lactoxidase», necessaria á transformação de grandes doses de assucar em ac. lactico, importa uma redução na quantidade dos corpos que, com a mesma origem, têm nestas culturas o seu papel util. De resto, e isto é o que aqui se destaca, todas as observações que temos coligido, tanto portuguezas como estrangeiras, vêm negar de uma maneira formal tal relação.

E' então inteiramente nulo o papel do ac. lactico? Já Tissier e Martelly tinham observado que, neutralizando a reacção acida da cultura em que semearam o *B. putrificus*, a putrefacção avança e segue o caminho habitual, e por nossa vez, realisando no ano passado ensaios semelhantes, vimos que, fazendo a neutralisação completa ou mantendo o meio alcalino por um excesso de carbonato de calcio, a putrefacção continúa sempre; mas, desde que se disponham as coisas para ter uma ligeira acidez, a fermentação putrida não avança. Ora, este resultado — cuja verificação desejamos que os nossos colegas façam — leva-nos á conclusão de que esse corpo que os bacilos lacticos elaboram, e de cuja existencia rial tencionamos dar oportunamente concretos detalhes, carece da presença do acido lactico para exercer a sua acção, — não dependendo esta, vimos pela experiencia citada atraz, senão de ligeira reacção. Nada tem isto que deva surpreender-nos: é caracter de muitos corpos diastasicos que, como a «saccharase» e a «pepsina», por exemplo, requerem meio acido para actuarem como hydrolysantes.

Mas, precisamente porque isso é assim, quem se dedica a preparações desta natureza não deve limitar-se aos meios ordinarios de cultura, que dão resultados illusorios, e nós vamos tentar mostrar porquê.

Já ha muito tinhamos notado que preparações grosseiramente feitas, provenientes de culturas invadidas por outros germes, davam em frente de alguns anaerobios resultados superiores aos que paralelamente se obtinham de *culturas puras*, não obstante a sua perfeita actividade de multiplicação e alto valor acidificante. Esta observação, bem constatada, veio ligar-se a outra semelhante, que vamos mostrar. Ainda uma vez faremos referencia a observações que a clinica nos fornece. O laboratorio está hoje estreitamente ligado a ela, dando-lhe preciosos recursos, e ofere-

cendo-lhe por sua vez a clinica vasto campo de verificação, — e, se o prof. Delbet, na sua notavel memoria sobre a acção dos saes de magnésio no organismo animal, saiu uma vez do seu campo profissional, procurando no esgotamento da terra aravel, por falta de restituição magnésiana, explicação para certos estados pathologicos do homem, não se estranhará que nós, neste estudo, procuremos no campo clinico observações sobre a acção imobilizante exercida pelas bacterias lacticas.

De facto, introduzidas essas especies na medicina, no tratamento de doenças que vêm da microbiose intestinal, d'ahi nos vem grande soma de elementos de apreciação sobre as condições e maneira como actuam, — elementos que de ha anos temos vindo colhendo. Pois bem: na clinica infantil, no tratamento de certos desarranjos intestinaes, onde aquelas especies sob esse nome vulgar de «fermentos lacticos» têm corrente applicação, nem sempre uma cultura pura daqueles individuos dá o mesmo feliz resultado que se obtem com o emprego desse residuo de leitaria a que os franceses chamam «*babeurre*», e que não é mais que o liquido impuro que fica nas batedoras de nata, no fabrico da manteiga, — caldo de bacterias lacticas que se multiplicaram abundantemente durante a fermentação da nata, mas onde vive tambem sempre forte quantidade de germes estranhos de que ela se inquinou, exposta ao ar.

A esta observação, que mostra a influencia de certas especies sobre a zymogenese de outras, a que são contrarias, poderíamos acrescentar as observações do prof. Richet e nossas sobre a acção, tambem favoravel, de certos agentes toxicos na actividade zymogenica das bacterias lacticas. Ficarà isso para mais tarde.

Ora, a verificação desse facto paradoxal, estranho, entre o modo de actuar de duas culturas — uma de certo modo impura, outra pura e em toda a sua actividade — está hoje plenamente feita: a clinica, por observação escrupulosa de notaveis medicos, dá-nos nota dos seus resultados; o laboratorio dá-nos na analise essa verificação. D'ahi veio-nos ha anos o desejo de fazer ensaios nesse sentido, introduzindo individuos microbianos estranhos, alguns de conhecido antagonismo com as bact. lacticas, estando estas em cultura de plena actividade, e seguindo nas gerações a sua acção antiputrida. Comunicámos então para Italia, ao nosso eminente colega prof. De Rossi, da Universidade de Perugia, a nota dos

nossos primeiros ensaios, que fomos continuando até que recentemente chegámos a resultados concordantes para algumas espécies. Tendo duvidas sobre outras, depois de resolvidas, de tudo daremos conta em trabalho definitivo.

Não ha duvida de que algumas especies anaerobias podem estimular nas bact. lacticas a sua actividade zymogenica, em que ha, parece-nos, entre outras, duas funções bem distinctas. Uma é a formação dessa enzima conhecida, productora de acido lactico, outra é a produção de um corpo que aparece e actua nas condições em que se revela aquilo a que uma vez sumariamente se chamou «anticorpos», — nome a que já se não vai dando hoje o sentido que se lhes dava dantes. Chamemos-lhe por enquanto «enzymoides», — o nome generico em que tantas substancias se agrupam, para mais tarde, terminado este estudo, definirmos as suas características especiaes. No entanto, o que já constatamos é que eles aparecem na celula lactica, em frente de uma celula estranha, como o producto immediato da sua reacção.

E sendo isto assim, havendo aqui duas funções tão distinctas, como está assente em nossa convicção, vindo-nos da observação de Belonowski a idéa fundamental, muita coisa se nos explica, até aqui bem estranha. Explicam-se-nos anomalias como aquelas a que atraz nos referimos, e que a principio tomámos como informações ou observações erradas. Explica-se-nos a curva que por vezesem seus resultados apresentam muitas dessas culturas utilizadas em diferentes applicações, não raro nos deixando embaraçados trequentes observações contradictorias.

Por isso, afirmamos que não basta o emprego dos meios ordinarios de cultura, a repetição material diaria, hoje como hontem, das mesmas operações; ao fim de algum tempo n'esse caminho, o preparador terá na sua frente individuos que podem ter todas as características morfológicas, bôa multiplicação e optima actividade acidificante, e no entanto, sem que o suspeite, o que está multiplicando são individuos de character anodino, que vieram perdendo de longe no meio, aparentemente propicio onde se cultivam, toda a sua actividade antiproteolytica.

Cultivados sempre ahi, protegidos contra todas as influencias desfavoraveis, essas celulas não carecem de fabricar o que bem pode ser para elas um instrumento de defesa; essa capacidade

de reacção especifica que reside na zymogenese vae-se apagando, e, no fim de algumas gerações, os individuos que se encontram em um campo de proteolytas podem ter totalmente apagada a sua capacidade immobilizante. E porque sobre isso não temos hoje duvidas, achamos que, quando queremos aproveitar essa capacidade, é absolutamente indispensavel exaltal-a de tempos a tempos, excitando na celula a sua energia de reacção.

Ainda em nenhum laboratorio português ou estrangeiro, que se saiba, se utilisou este conhecimento, e por isso esse desvio de resultados que tanta vez se observa, em preparados de *fermentos lacticos* entregues ao emprego clínico, saídos de culturas feitas embora com cuidado, mas á maneira ordinaria, não tem para nós actualmente outra explicação : decadencia da actividade de reacção, que nada tem com a actividade acidogenea, resultante apenas de passagens frequentes sempre pelo mesmo meio de cultura.

Insistimos pois : — *Na cultura de «fermentos lacticos» para uso therapeutico, deve fazer-se, acima de tudo o estimulo da zymogenese.*

\*

\* \* \*

Chegámos emfim neste estudo ao seu capitulo final, — aquele que deve merecer maior interesse em muitas applicações das bact. lacticas. Não escapa a sua importancia, se uma vez se dér attenção ao que se passa quando, em favoraveis condições de meio, associamos a essas uteis bacterias uma levedura escolhida entre aquelas que, como hoje se sabe, podem formar symbiose com algumas das suas especies, sobretudo com certas «leveduras rosadas». Ao fim de algum tempo, vamos encontrar um muito maior numero de celulas lacticas que o que habitualmente nos dá uma cultura ordinaria, — notavelmente maior, se o ensaio é feito em favoraveis condições de cultura para as duas especies. Isso nos mostra que a levedura exerce uma influencia em alto grau favoravel á multiplicação desses lactobacilos, — como por sua vez estes favorecem a actividade da levedura.

O que se dá com as «leveduras rosadas» dá-se com muitas especies do grupo *saccharomyceta*, embora menos notavelmente, — sendo nula a influencia de algumas.

Ha pois ahi, quando a cultura é perfeita, uma ação de mutualismo importante na vida em comum desses individuos, tão distantes uns dos outros em todas as linhas da sua fisiologia; — simbiose meramente facultativa, mas nem por isso deixando de a caracterisar um forte mutualismo: de um lado a levedura utilizando o ac. lactico produzido — ha leveduras que combustam doses elevadas — do outro, as celulas lacticas utilizando um producto da levedura, que de ha muito supomos ser a «endotryptase». Comunicámos esta opinião ha anos em uma pequena memoria, publicada sob o nome de *Antibiose microbiana* (1918), e tempos depois o prof. De Rossi e Kayser emitiam opinião semelhante. Mas isso é secundario, e sem importancia. O que a tem, e que merece verdadeiro interesse, é podermos aproveitar um recurso que nos permite intensificar fortemente a multiplicação nestas culturas, elevando assim o valor da sua actividade util.

Importa ainda destacar uma outra notavel influéncia das leveduras sôbre a vida das bac. lacticas, que bem merece ser considerada, pois tem no seu emprego uma saliente importancia, que é excusado encarecer: é a maior resisténcia que elas lhes conferem, ou seja a conservação da sua vitalidade por um período muito mais largo, — que, por maior que seja a sua actividade inicial, nas culturas vulgares é bastante limitada. Nas culturas associadas, Worthrup observou que ela se mantinha por mais de um ano; nós temos observado a mesma longevidade na sua actividade immobilisante, com tanto que se adapte a levedura a trabalhar a temperaturas altas e em meio bastante diferente do seu, o que se consegue, muito embora lá se chegue devagar. A levedura de cerveja é a que mais se usa, mas não é a mais aconselhavel.

Em semelhantes trabalhos, toda a dificuldade está em conciliar as necessidades culturaes das duas especies, — e a maior começa ahi, no afastamento das suas exigéncias thermicas, em individuos capazes de dar symbioses úteis. Não pode pois isto ficar entregue a qualquer preparador; mas quem conheça regularmente a vida destes saccharomycetas, aproveitando capacidades de adaptação, pode conseguir excelentes resultados, em multiplicação e em actividade antiproteolytica, desde que tenha o cuidado de exaltar esta, não a deixando extinguir na cultura ordinaria, como se mostrou atraz.

As leveduras «rosadas» prestam-se excelentemente a todo este jogo cultural; das outras, as que oferecem maiores garantias, por estarem já adaptadas, são o *Saccharomyces taettis* e o *S. sardus*. Do lado bacteriano, os «bulgaricus» em cultura ordinaria têm dado boa prova; mas, tendo as suas melhores temperaturas muito elevadas, tudo indica, tratando-se de associações, que entre eles se escolha uma especie já adaptada: *B. mazunis*, o *B. lebenis* ou, talvez melhor, o *Streptobocillus sardus*, estudado por Grixoni. Mas tudo isto, por melhor que seja dentro do laboratório, carece de sansão experimental fóra dele, e essa estamos nós de ha tempo procurando obter.

Temos pois aqui um precioso recurso cultural, sobre o qual nós não fizemos mais que medir-lhe o valor e procurar aperfeiçoá-lo (1). É bem certo que não poucas vezes o interesse do nosso espirito põe azas na imaginação, útil faculdade por vezes no campo da hipotese, mas fóra dela, em sciencia positiva, só por excepção não é guia infiel, — e d'ahi o edificio nas mais belas linhas concebido cai por terra, destruido pela verdade dura do facto experimental. Nesta questão, porém, no que mais interessa, por feliz nos damos de apresentar com alguma segurança — aquela que é possível dentro dos phenomenos da vida — o que respeita ás qualidades destes seres, nas suas modalidades sempre tão dependentes das condições de cultura; e esta segurança provem de virmos notando, desde muito, uma grande concordancia entre o facto experimental do laboratório e o facto experimental, colhido de informação na pratica clinica.

---

(1) Em verdade, precioso recurso é esse, sobretudo em preparações de uso terapêutico, quando combinado ao que nos dá a zymogenese microbiana. E' porém esta uma questão que está fora da indole desta revista, — alem de que, embora nos seja fácil mostrar á luz desses conhecimentos o desacerto que tem havido na preparação dessas pseudo-symbioses, nós temos certo melindre, pelo menos neste momento, em tratar esse aspecto da questão, que no emtanto não abandonamos, preferindo agora que, com relação ao papel que os chamados «fermentos lacticos» desempenham em medicina, nesse campo muitos nos julguem ainda no antigo erro de attribuir ao ácido lactico a sua acção imobilisante.







RÓ  
MU  
LO

CENTRO CIÊNCIA VIVA  
UNIVERSIDADE COIMBRA



\*1329688228\*

