

D'O Brazil-Medico, quatro

numeros de Dezembro de 1897

CLINICA PEDIATRICA

Microbiologia e therapeutica da coqueluche

PELO DR. MONCORVO FILHO

Director interino do Gabinete de Bacteriologia e Anatomia Pathologica e chefe de clinica do Serviço de creanças da Polyclinica do Rio de Janeiro, etc.

Somos levados a escrever o presente trabalho para que, de vez, fique assentada a theoria microbiana da coqueluche e, mais que isso, fóra de duvida o seu agente infectuoso, já perfeitamente estudado.

Experimentamos verdadeiro desgosto sempre que, ao abrirmos qualquer livro referente á pathogenia de tão aggressiva molestia, deparamos com a obscuridade e a controversia que envolvem a parte concernente á sua natureza bacteriana.

Não encontro motivos que possam justificar semelhante facto. Ainda no excellente trabalho do Professor Wurtz, chefe do Laboratorio de Pathologia Experimental da Faculdade de Medicina de Paris (1), livro recente, não peço a surpresa causou-nos a classificação da coqueluche entre «as molestias infectuosas ou presumidas taes, cujos agentes são duvidosos ou desconhecidos». E, no emtanto, todos os requisitos, exigidos para a demonstração bacteriologica dessa affecção, já não são sufficientemente satisfeitos pelas investigações do Dr. Moncorvo, de 1883 a 1887, completadas e comprovadas, a nosso ver, de modo precise pelas pesquisas que empreendemos de 1890 até a presente data, isto é, ha cerca de 6 annos.

(1) *Precis de bacteriologie clinique*. Paris—1895.

Os nossos estudos, bastante demonstrativos, têm sido largamente publicados e já contraprovados por alguns auctores dignos de nota; não obstante, porém, todas as vezes que um tratadista se refere á coqueluche põe em duvida a sua natureza parasitaria, esquecendo, por outro lado, as nossas investigações, por serem naturalmente brasileiras.

PRIMEIRA PARTE

MICROBIOLOGIA DA COQUELUCHE

Foi em 1414 que se iniciaram na Europa os primeiros estudos a respeito da coqueluche (2).

Só, porém, em 1867, Poulet em uma communição, feita a Academia de Sciencias de Paris, aventou a idéa da natureza microbiana desta molestia. Este observador declarou ter encontrado nos catarrhos de coqueluchentos um verdadeiro mundo de infusorios, pela maior parte semelhantes, aos da especie denominada *Monas termo* ou *bacterium termo*, com uma fórma bacillar fusiforme.

Segundo, porém, alguns auctores italianos, taes como Guidi, de Florenza—(La pertosse e le sue vicende scientifiche—1889), a ideia da origem microbiana da coqueluche foi pela primeira vez assignalada por Cezari em 1867 (isto é no mesmo anno das observações de Poulet).

Cezari denominou o seu parasita *Oidium pertossi*, que se apresentava sob a forma de filamentos e curvados.

(2) Brouzet, Pinel, Chambon, Valdschmit, Rosen, Butter, Hourham, Padalme, Laennec, Wall, Vals, Hamilton, Billard, Albertson, Troussais, Baron, Troussseau, Richard, Tyfo, Flint, Guersan, Frank, Hufeland, Lobel, Albers, Roche, Grisole, Blache, Schoffer, Banier, Mathai, Jahn, Breschel, Webster, Desruelles, Sanders, Fildock, Heliot et Berthoz, Germain Sé, Gueneau de Mussy, Beau, Vanhroug et Leu, Darvin, Watson, etc. interpretaram, depois de varias investigações do modo o mais diverso, a causa da coqueluche, sem terem, no entretanto, sequer de longe attribuido a um germen infectuoso.

No anno de 1873, Letzerich esclareceu melhor esta questão, affirmando ter visto nos esputos de coqueluchentos *micrococcus* em cadeias; observou; tambem a proliferação destas bacterias por meio de espóros. Cultivou-os ainda em agua assucarada ou amidonada, em que notou a apparição de um *mycelio*, classificando-os, em conclusão, como pertencentes á classe dos cogumelos (*Ustilaginea*).

Diz Letzerich haver inoculado taes *micrococci* em coelhos, os quaes contrahiram uma *tosse especial*, a que succumbiram.

Atrahido pelos resultados de Letzerich, Henke, um anno depois, em 1874, emprehendeu alguns estudos acerca do microbio da coqueluche. Este pesquisador verificou pelo exame do catarrho a presença de *cellulas arredondadas*, de 10 a 20 millesimos de millimetro, com contorno e alguns nucleos, além de elevado numero de *espóros* dotados de movimentos. Os germens por elle encontrados no catarrho da coqueluche não o eram, entretanto, no da bronchite simples, se bem que com apurado interesse examinasse mucosidades de doentes affectados d'esta ultima molestia.

Tschamer, de Gratz, ainda em 1874, querendo pôr em prova os ensaios bacteriologicos de Letzerich, chegou a seguinte conclusão: sem auxilio mesmo do microscopio os esputos apresentavam um caracter particular, contendo em suspensão não pequeno numero de corpusculos amarells, de volume igual ao de uma cabeça de alfinete aproximadamente.

Nesses corpusculos verificou um *mycelio* reticulado e *espóros* redondos e ovaes, de côr amarella ou vermelha carregada, que classificou entre os *cryptogamos*.

Sobre a casca da laranja em putrefação julgou haver encontrado um micro-organismo identico ao da coqueluche, apresentando a fôrma de um deposito pulverulento, o qual, por si proprio inhalado, acarretou-lhe, ao cabo de 12 dias quintas de tosse por elle reputadas de coqueluche. O Dr. Oltramare,

de Genova, achou tambem em 1881 os mesmos elementos descriptos por Letzerich. Birch-Hirschfeld veio, entretanto, posteriormente contestar as conclusões dos seus predecessores no tocante a natureza da coqueluche.

Em uma epoca mais recente, em 1883, Burger de Bom, procedendo á novos estudos a tal respeito, asseverou ser a coqueluche produzida por um parasita, que deste modo descreveu: um pequeno *bastone* ou *bacillo* ellypsoides e allongado, de dimensão variavel, o qual, examinado por meio do *appareilho* Abbé, apresentava um estrangulamento central, dando-lhe uma forma analoga a de uma ampulheta.

Por vezes os pequenos bastonetes dispunham-se em cadeias ou espargiam-se pelo campo microscopico, sob a forma de pequenas massas irregulares; colorindo-os pela anilina, Burger obteve o *bacillo* perfeitamente distincto de outros germens communs á saliva, taes como o *leptotrix buccalis*, cujos espóros são de volume notavel. Tal germen, assim descripto, não foi pelo mesmo observador verificado em nenhum outro producto da expectoração.

Elle não completou com rigor seus trabalhos acerca de tão importante assumpto, pois não praticou culturas, como tambem não fez inoculações que viessem mostrar a evidencia e a identidade do seu *bacillo*.

Taes eram os conhecimentos adquiridos, quando, em 1883, meu pae, o Dr. Moncorvo, fez as suas primeiras pesquisas sobre o germen da coqueluche.

No primeiro trabalho, que sobre o assumpto publicou (3), lê-se o seguinte:

« Nos catarrhos regeitados immediatamente, antes do exame, á simples inspecção, foi-nos dado descobrir *uma grande quantidade de pequenas massas amarellas, irregularmente redondas, do volume approximado de uma cabeça de alfinete, immersas nas mucosidades.* »

(3) De la nature de la Coqueluche et de son traitement par la resorine—1883. Pg. 28.

«Nestes esputos submettidos ao exame microscopico, sem addição de reactivo algum, nem mesmo de qualquer materia cõrante, observamos o que passamos a descrever, como resumo dos differentes exames: Encontramos *cellulas epitheliaes* pavimentosas, polyedricas, irregulares e providas de um nucleo, globulos de pús, mais ou menos numerosos, *globulinos* e uma *quantidade consideravel de micrococci*; todos esses elementos existiam mergulhados em um *materia amorpha*, fortemente agglutinante, que constituia a ganga deste magma (microscopio Verick, modelo antigo—500 diametros).

«As *cellulas epitheliaes* mostravam-se de volume e formas diversas, providas todas de um nucleo e de um duplo contorno. O que se via de mais interessante era a infiltração de *espóros* (4), *infinitamente pequenos e brilhantes*, verdadeiros *micrococci* ovoides ou alongados, que existiam em profusão no interior das *cellulas*, guardando a mesma disposição na substancia amorpha que os cercava, isto é, a disposição em *series lineares*, em cadeias ou rosarios, ou em grupos, que variavam de *dois, tres, quatro*, ou finalmente eram *isolados* e distinctos uns dos outros, se bem que muito approximados, em virtude de seu numero consideravel.

«Em todo o resto da preparação, prosegue o auctor, os *micrococci* se mostravam em abundancia extraordinaria, formando em differentes pontos verdadeiras *zoogleas*, ou grupos de *espóros* agglomerados por uma materia unitiva amorpha.

«Nas nossas preparações, continúa o Dr. Moncorvo, a presença e a proliferação dos *micrococci*, proporcional a marcha da coqueluche e, por outro lado, sua diminuição na epocha terminal da molestia, sob a influencia da medicação, parecem-me constituir indícios muito significativos da relação de causalidade entre a coqueluche e o germen desenvolvido sobre a mucosa laryngeana.» (5)

(4) O atraso da bacteriologia da epocha explica a accepção de *espóros* dada aos *micrococci*.

Dr. Moncorvo Filho.

(5) Comunicação feita ao 9º Congresso Internacional de Medicina, realisado em Washington—1887.

No início do anno de 1886, o Dr. Moncorvo emprehendeu, e desta vez com auxilio da technica bacteriologica mais adiantada, novas investigações acerca do micro-germen em questão; ahi foi poderosamente auxiliado pelo illustrado clinico Dr. Jayme Silvado, então seu assistente, que, em sua brilhante these de doutoramento (6), inseriu o resultado de taes experiencias.

Por essa occasião foram praticadas, pelos dois experimentadores, culturas e inoculações em cobayas com resultado.

A excellente these a que nos referimos é acompanhada de quatro desenhos do micro-parasita da coqueluche, pelo auctor mandados copiar directamente do campo das preparações.

Elles representam o microbio no catarrho e nas culturas.

Quando eram publicados os resultados destas novas pesquisas brasileiras, Afanassiew, conceituado bacteriologista russo, ainda no anno 1886 (7), foi levado por interesse proprio a examinar os esputos secretados por quatro de seus filhos, accommetidos de coqueluche.

Nesse genero de pesquisas, aquelle observador russo, acercando-se de todas as precauções, adoptou a seguinte technica:

Antes da extracção das mucosidades laryngeas, lavava a cavidade buccal com uma solução de permanganato de potassio e em seguida com agua fervida. Nestas mucosidades, assim retiradas com a

devida cautella, reconheceu a existencia de *globulos de pus*, *cellulas epitheliales* e, finalmente, por meio da coloração com o violeta de genciana, verificou um numero variavel de germens. Passando a cultivar-os em caldos de gelatina peptonizada, no agar-agar e em placas de vidro, viu apparecerem, no espaço de quatro dias, colonias diferentes, circulares ou ovaes, com bordas levemente franjadas, cõr de canella clara, contendo *bacillos* de 2 a 2 e meio micromillimetros.

(6) Da Coqueluche (these inaugural). Rio de Janeiro—1887.

(7) Vrath—1887—Ns. 33, 34, etc.

Esses *bacillos* offerciam, segundo o auctor, grande similhaça com o *bacillus albus* (da agua) e o *bacillus acidi lactici* (da fermentação lactica), tendo, porém, como caracter particular o modo de desenvolvimento das colonias e certas outras propriedades, taes como: copioso e rapido desenvolvimento no agar-agar peptonisado em uma temperatura de 37° a 38°, com maior pujança ainda que na gelatina ou no sôro do sangue.

Em complemento de seus estudos, praticou diversas inoculações em pequenos coelhos e cães ainda novos, ao todo dezoito, nelles verificando mais ou menos claramente a reproducção do mal, ao mesmo tempo que um estado de collapso e grande abaixamento de temperatura, ao que succedia a morte.

A autopsia demonstrou-lhe haverem estes animaes succumbido em sua maior parte de broncho-pneumonia, verificando-se na cavidade laryngeana de grande numero d'elles a presença do bacillo.

Induzido por este ultimo observador, um clinico da cidade de Kasan, Semtchenko fez, em 1887, analogas pesquisas microscopicas que se accordaram com as conclusões firmadas por Afanassiew.

Wendt encontrou o bacillo de Afanassiew em todos os casos de coqueluche que examinou. Elle não isolou os senão no periodo das quintas.

Em uma cammunição, enviada pelo Dr. Moncorvo ao *Congresso Internacional de Therapeutica e de Materia Medica de Paris*—(1890) (8), sobre a natureza e tratamento da coqueluche, além do que já havia exposto em seus dois primeiros livros (1883 e 1885), accrescenta os seguintes dados: «Que com o auxilio de uma technica mais aperfeçoada verificou que os *micrococci*, sempre encontrados nos escarros dos coqueluchentos, eram *alongados, em forma de bastonete*, o que poude observar a custa de um augmento duplo daquelle usado em seus estudos primitivos.

Novas culturas e inoculações vieram identificar o agente microscopico em questão.

(8) Compte Rendu des séances du Congrès International de Therapeutique et de Matière Médicale tenue à Paris du 1^{er} au 3 Aout 1889.

Para assegurar a inoculação do mal em cobayas, o Dr. Moncorvo provocava-lhes previamente a irritação do larynge por meio de substancias diversas.

Durante as pesquisas e experiencias verificou ainda que os cães adultos, submettidos as mesmas provas, escapavam aos seus effeitos. Chegou mesmo a introduzir directamente o microbio no larynge após a laryngotomia, e nem mesmo assim esses animaes apresentaram sequer symptoma algum de coqueluche.

Uma importante conclusão se deprehe de das investigações experimentaes do Dr. Moncorvo, isto é, que não se póde olvidar a condição particular do contagio do mal.

De facto, os animaes, cujo larynge era previamente descamado pelos irritantes, raramente escapavam á inoculação.

Isto explica a razão pela qual um certo numero de creanças subtrahe-se ao contagio da coqueluche, em condições muitas vezes favoraveis para adquiril-a em uma outra época; em circumstancias, todavia, menos propicias na apparencia para a transmissão da molestia.

E que a integridade perfeita do epithelio laryngeano constitue um obstaculo á penetração do germen. A menor desprotecção desta mucosa abre, pois, a porta ao parasita coqueluchento, de onde a grande frequencia da affecção no decurso do sarampão ou de qualquer inflammação da arvore bronchica.

Esta interpretação, sustentada em 1830 pelos Drs. Moncorvo e Jayme Silvado, encontra hoje a mais perfeita confirmação nos memoraveis trabalhos dos eminentes bacterioscopistas Roux e Yersin, com referencia á diphteria.

Esta nossa pequena digressão teve expressamente por fim chamar a attenção dos clinicos para essas particularidades, que têm, com relação á therapeutica e prophylaxia da molestia, uma importancia capital.

E não é sem motivo que assim nos exprimimos. Quantas creanças temos visto escaparem ao contagio da coqueluche, á custa da antiseptia da mucosa buccal laryngeana, com o emprego exclusivo dos agen-

tes contra aquella affecção demonstrados parasiticidas, taes como: a *resorcina*, o *asaprol*, o *acido citrico* ou *limão*, e a *creolina* (Moncorvo, Moncorvo Filho e Jayme Silvano).

Confirmando, com as suas proprias observações clinicas, o notorio exito do methodo therapeutico adoptado por meu pae contra a coqueluche (emborações na região periglottica com uma solução de resorcina a 10 %), um eminente pediatra inglez, o Dr. Barlow, de Manchester, soccorrendo-se do auxilio do Dr. Broadbent para o exame microscopico dos espustos, verificou o mesmo já assignalado pelo Dr. Moncorvo, como se póde julgar do seguinte trecho, extrahido da longa memoria sobre o assumpto publicada por aquelle clinico no *The Lancet*, de Londres:

«Examinado com objectiva de immersão (perto de 800 diametros) e colorido préviamente com violeta de methyla, viam-se numerosos nucleos de *globulos de pús*, algumas *materias fibrinosas* e *cellulas epitheliaes*; em muitas destas ultimas havia um numero extraordinario de pequenos *micrococci*, dispostos regularmente em cadeias ou em grupos (*zoogleas*); semelhantes *micrococci* foram vistos em outras partes da preparação, porém em muito menor numero; as *cellulas epitheliaes* parecem ser a séde principal desses organismos.»

Ainda, em 1889, appareceu na Italia um minucioso trabalho do Dr. G. Guidi (La pertosse e le sue vicende scientifiche—Florenza—1889), no qual elle se esforça por confirmar as conclusões de Afanassiew, trazendo em seu apoio suas proprias investigações microscopicas. Nestas, foi aquelle professor auxiliado pelo naturalista italiano Dr. Ugolino Martelli.

Taes eram as noções microbiologicas sobre a coqueluche, quando, em 1890, fomos levado a proceder a novas investigações sobre o mesmo assumpto, soccorrendo-nos de uma technica mais aperfeçoada.

Sem a menor ideia preconcebida, temol-as repetidamente executado, não só no Laboratorio de Biologia do Ministerio da Industria, quando delle fomos assistente, como no Laboratorio de Bacteriologia da Polyclinica do Rio, de onde somos actualmente di-

tes contra aquella affecção demonstrados parasiticidas, taes como: a *resorcina*, o *asaprol*, o *acido citrico* ou *limão*, e a *creolina* (Moncorvo, Moncorvo Filho e Jayme Silvano).

Confirmando, com as suas proprias observações clinicas, o notorio exito do methodo therapeutico adoptado por meu pae contra a coqueluche (embrocações na região periglottica com uma solução de resorcina a 10 %), um eminente pediatra inglez, o Dr. Barlow, de Manchester, soccorrendo-se do auxilio do Dr. Broadbent para o exame microscopico dos esputos, verificou o mesmo já assignalado pelo Dr. Moncorvo, como se póde julgar do seguinte trecho, extrahido da longa memoria sobre o assumpto publicada por aquelle clinico no *The Lancet*, de Londres:

«Examinado com objectiva de immersão (perto de 800 diametros) e colorido préviamente com violeta de methyla, viam-se numerosos nucleos de *globulos de pís*, algumas *materias fibrinosas e cellulas epitheliaes*; em muitas destas ultimas havia um numero extraordinario de pequenos *micrococci*, dispostos regularmente em cadeias ou em grupos (*zoogleas*); semelhantes *micrococci* foram vistos em outras partes da preparação, porém em muito menor numero; as *cellulas epitheliaes* parecem ser a séde principal desses organismos.»

Ainda, em 1889, appareceu na Italia um minucioso trabalho do Dr. G. Guidi (La pertosse e le sue vicende scientifiche—Florenza—1889), no qual elle se esforça por confirmar as conclusões de Afanassiew, trazendo em seu apoio suas proprias investigações microscopicas. Nestas, foi aquelle professor auxiliado pelo naturalista italiano Dr. Ugolino Martelli.

Taes eram as noções microbiologicas sobre a coqueluche, quando, em 1890, fomos levado a proceder a novas investigações sobre o mesmo assumpto, soccorrendo-nos de uma technica mais aperfeiçoada.

Sem a menor ideia preconcebida, temol-as repetidamente executado, não só no Laboratorio de Biologia do Ministerio da Industria, quando delle fomos assistente, como no Laboratorio de Bacteriologia da Polyclinica do Rio, de onde somos actualmente di-

rector interino.

Nessa ordem de pesquisas, esforçamo-nos por seguir a pratica e o methodo adoptados por aquelles que se hão consagrados a analogos estudos, sendo os doentes, pertencentes ao Serviço de Pediatria da Polyclinica do Rio, escrupulosamente examinados.

Cerca de 50 casos clinicos serviram para os nossos estudos bacteriologicos. 15

I

TECNICA SEGUIDA NA EXTRACÇÃO DO CATARRHO

As pesquisas sobre o esputo são difficéis; e bem se comprehende que, apesar de todas as cautelas, após mesmo cuidadosa desinfecção da cavidade buccal do doente com fortes soluções antisepticas, não se póde, no emtanto, evitar que alguns germens, dos muitos contidos na saliva normal, sejam acarretados.

Distinguir, de entre elles, aquelle causador da affecção foi tarefa bastante penosa.

Antes da extracção do catarrho laryngeano, praticavamos a rigorosa desinfecção da cavidade buccopharyngeana, de modo a evitar quanto possivel a presença de organismos extranhos aos da coqueluche.

Para recolher as mucosidades usámos ora de um pincel de haste longa de arame, ora de uma pequena pelota de algodão hydrophilo appensa a uma haste de madeira (*écouillions*), todos estes instrumentos préviamente esterilizados durante 2 horas, á temperatura de 180° na estufa de Gay-Lussac ou do autoclave de Chamberland. Além disso, alguns provetes eram tambem esterilizados e fechados com pelotas de algodão aseptico.

Praticava-se a desinfecção buccal com permanganato de potassio, agua esterilizada, resorcina ou saprol.

Com o auxilio do pincel ou da haste de madeira já referida (*écouvillon*) era retirada da região laryngeana, no momento da quinta, a maior quantidade possível de catarrho; esses instrumentos eram logo introduzidos nos tubos preparados adréde e subtraídos ao contacto do ar, por meio da rolha de algodão lyndrophilo.

II

PREPARAÇÕES MICROSCOPICAS

A technica seguida em nossos exames bacteriologicos foi a seguinte :

Antes de tudo, o material de que usavamos era sempre rigorosamente esterilizado, de modo a evitar qualquer duvida ou causa de erro.

Nas mucosidades expellidas recentemente observava-se, além de seu aspecto gelatinoso ou viscoso, de côr cinzenta esbranquiçada, facto mais notavel nos casos de coqueluche grave ou hypercoqueluche, pontos aqui e acolá de uma coloração variando do branco amarellado ao amarello de ouro.

Era nesses pontos justamente, que os germens mostravam-se mais abundantes; d'ahi serem elles por nós preferidos para a confecção das preparações microscopicas.

Depositada sobre uma lamina bem limpida uma pequena parcella daquelle producto pathologico, e examinada ao microscopico sem auxilio de substancia corante, com addição apenas de uma gotta de agua, distinguia-se o seguinte:

Globulos de pús, ou de sangue, em alguns casos mais agudos; um numero variavel de cellulas epitheliaes, pavimentosas algumas, outras de fórmias diversas, nucleadas, infiltradas porém todas de microorganismos, além de alguns germens communs á

saliva normal e mecanicamente acarretados; um elevado numero de *micrococci* alongados, raramente globulares, tendo por vezes um pequeno estrangulamento central, apresentando um certo brilho. 17

Estes microbios se dispõem irregularmente; assim, formando cadeias, curtas ou longas, curvas ou rectas, ora isolados, as mais das vezes constituindo então diplococcus, ora em grupos ou zoogreas, sendo porém quasi que invariavel o seu *habitat* predilecto as cellulas epitheliaes que d'elle se infiltram.

Esse *micrococco* é de pequena dimensão, podendo esta variar de um germen para outro, conforme certas condições; elle mede approximadamente um millesimo de millimetro.

Nas preparações coloridas recorremos á technica mais geralmente usada, conservando-as fechadas no balsamo de Canadá.

O microorganismo coloriu-se bem pelas cores basicas da anilina, sendo porém, a *violeta de methyla* ou de *genciana*, a *fuschina* e principalmente a *solução de Ziehl* pouco concentrada, as substancias que mais uteis se mostraram na coloração do germen especifico da coqueluche.

Para chegar a estas conclusões ensaiámos um grande numero de materias corantes, entre as quaes: a *henatoxilina*, o *azul de methyla*, a *veswina*, o *jaune d'or*, a *rosina*, o *brun de Bismarck* e o *picrocarminato de amoniaco*. O *azul de methyla* communica difficilmente a coloração ao germen.

Attento deve ser o exame das preparações do esputo de um coqueluchento, afim de evitar as causas de erro, tão communs em bacteriologia, aqui representadas pela possível presença de algumas das muitas especies de microorganismos da saliva normal, constituidas em seu maior numero pelos *spirochetes*

salivares, leptotrix buccalis, sarcina ventriculi, os spóros do *oidium albicans*, o *Leptomitus* (cogumellos das aphas), o *Volvox* (infusorio da saburra) vibrações diferentes, *micrococci streptococci* diversos, etc., que accidentalmente podem ser acarretados. 18

O microbio da coqueluche cujos principaes caracteres no escarro, acabámos de referir, apresentam-se com grande pujança, no dos doentes ainda não submettidos ao tratamento antiseptico local, diminuindo progressivamente com elle e finalmente coincidindo o desaparecimento do microbio com a cura do coqueluchento.

III

CULTURA DO GERMEN

Bem verificados a constancia e o elevado numero de germens especiaes no catarrho dos pequenos doentes, por outro lado seguindo o methodo indicado em taes circumstancias, tornava-se necessario provar serem esses germens, não só susceptiveis de cultura, mas tambem de transplantarem-se a animaes reproduzindo a molestia com os seus principaes caracteres. Passámos, pois, a proceder a culturas, utilizando-nos dos seguintes meios: caldo liquido de carne, gelatina com glucose—processo Loeffler, gelatina solida, agar-agar, agua assucarada, agua amydonada, pão regado com este ultimo liquido, ou simplesmente com agua esterilizada, batata, cenoura, nabo, etc., etc.

Das culturas artificiaes que praticámos nesses diferentes meios, resultou verificarmos ser o *caldo de agar agar peptonizado* aquelle que melhor se prestou ao fim desejado.

A sementeação feita do catarrho de um coqueluchento, na superficie do agar-agar solido, deixa per-

ceber, ao cabo de 24 a 32 horas, ao longo da estria (conforme a temperatura ambiente), uma multidão de gottinhas muito transparentes e quasi imperceptíveis; ao cabo, porém, de dous ou tres dias essas pequenas colonias augmentam de volume e tomam então o aspecto de delgadas laminas de *gordura coahada*; são a principio circulares, occupando posteriormente grande parte da superficie do meio de cultura pela junção das referidas colonias bordo a bordo.

Outros germens costumavam tambem desenvolver-se no mesmo meio nutritivo; conseguimos, porém, culturas perfeitamente puras, pelo methodo, das transplantações seriadas.

Preparações feitas com pequena parcella de uma colonia retirada de cultura pura, e levadas ao campo do microscopio, deixavam perceber o seguinte: um numero extraordinario de *cocci* alongados, ora em cadeias de 3, 6 ou mesmo 8 e ainda apresentando alguns outros um alongamento, simulando um *bastonele*. (Exames praticados com o microscopio de Zeiss — grande augmento; objectiva de imersão).

Nos caldos liquidos observámos a formação de uma substancia esbranquiçada que, no fim de alguns dias de repouso, depositava-se no fundo do balãozinho de cultura. Experimentámos fazer esta substancia actuar sobre um pouco de sangue fresco, no campo do microscopio, e tivemos ensejo de verificar que ella não alterou em nada os elementos figurados daquelle liquido animal.

Essa substancia será a mesma que Griffiths encontrou nas urinas dos coqueluchentos? (1) E' o que

(1) A. B. Griffiths extrahindo varias ptomainas urinaarias em diversas moléstias infectuosas, e fez tambem com relação á coqueluche. Diz elle ter conseguido obter das urinas dos coqueluchentos uma substancia branca crystallina, cuja formula é $C^{11}H^{10}AsO^6$. Acrescenta: que um facto interessante a consultar seria verificar se o bacillo descoberto por Afansiew nos esputos, produz esta mesma ptomaina em suas culturas. Faz outrossim, notar que a ptomaina referida não existe absolutamente na urina normal.

posteriores e novas pesquisas virão esclarecer. O que parece poder-se desde já afirmar, não actuando essa substancia sobre os globulos vermelhos, é ser a coqueluche uma affecção localisada á região laryngeana, sem alteração do sangue, não acarretando perturbações febris, as quaes são sempre a consequência de uma complicação sobrevinda no decurso da molestia (Cadet de Gassicourt, Moncorvo, Moncorvo Filho, Jayme Silvano, etc.) Estas considerações estão *in totum*, de accôrdo com a theoria moderna da natureza microbiana local da affecção.

Das nossas pesquisas bacteriologicas parece-nos poder concluir que o germen por nós capitulado de *pathogenico* da coqueluche esterilisa-se completamente a 100,° podendo, não obstante, resistir ao frio de 10 ou 15 grãos acima de zero. O seu *optimum* medeia entre 35 e 45°.

A 50° c. resiste, parecendo só a 60° c. deixar de proliferar.

Estas verificações estão ainda de accôrdo com o que se observa quanto á clinica e quanto á prophylaxia.

IV

ACÇÃO DE DIVERSOS AGENTES THERAPEUTICOS SOBRE O MICROBIO

Passamos agora a expôr o resultado dos nossos ensaios com relação á acção de certos agentes therapeuticos sobre o microorganismo em estudo, seguindo os preceitos que Bouchard (2) indica para taes verificações.

(2) *Thérapeutique des maladies infectieuses. — Antisepsie. — Paris, 1891.*

ACIDO BORICO

Estudámos a influencia directa do acido borico sobre o germen e verificámos que este se mostrava indifferente ; para isso usámos de uma solução saturada.

Applicada sobre uma sementeação em um caldo de agar agar notámos, ao cabo de duas semanas, o apparecimento de colonias nas quaes encontrámos, ao microscopio, grande abundancia de germens.

Este resultado se acha de alguma sorte de accôrdo com o que observou Pane, na Italia (3), em suas investigações ácerca da acção do acido borico sobre varios outros microbios pathogenicos.

BENZONAPHTOL

Como tivéssemos á mão o benzonaphtol, lembrámo-nos de applical-o e verificámos a completa estase do desenvolvimento do germen, em todas as culturas tratadas por esta substancia ; o excellente resultado della obtido não tem entretanto applicação pratica no tratamento da coqueluche, por dois motivos : em primeiro lugar, por ser insolúvel, em segundo, por ser irritante, tornando assim de difficil uso sobre a delicada mucosa do larynge.

Não obstante esse facto, observámos que a acção directa do benzonaphtol (em solução alcoolica) destróe em pouco tempo o microbio, modificando-lhe a fórma.

Tres ou quatro minutos depois desse resultado, todos os microbios se haviam transformado em uma substancia amorpha.

ACIDO PHENICO

Atacado o germen por uma solução phenicada a 5 %, verificámos após cuidadoso exame, nenhuma

(3) *Sulle condizioni che modificano il potere antisettico di alcune sostanze*—Atti della Reale Accademia Medica di Roma—1891.

modificação operar-se quanto á sua fórma.

Nos caldos de gelatina liquida em que inoculámos o germen, embora depois de 2 dias de contacto apenas apresentassem uma leve turvação, o exame microscopico demonstrou entretanto não pequeno numero de parasitas da coqueluche.

Com a mesma proporção de acido phenico, Pane conseguiu destruir o *bacillo do carbunculo* e o *staphylococcus aureus*; o mesmo, porém, succedeu como se vê nas nossas pesquisas, relativas ao germen da coqueluche.

PERMANGANATO DE POTASSIO

Empregando uma solução d'este agente, tambem a 5 %, tivemos o ensejo de ver o microbio resistir no campo da preparação, durante algum tempo, sem alteração de sua fórma, parecendo não ser, dos mais poderosos antisepticos contra o parasita da coqueluche.

Em contacto durante dois dias com a cultura, o permanganato não obstou que o germen apparecesse sob a fórma de raras colonias escuras, quasi imperceptiveis.

O exame microscopico fez-nos descobrir grande numero dos microorganismos pathogenicos.

SALICYLATO DE SODIO

Recorrendo igualmente a esta substancia, com o mesmo intuito, verificámos ser inteiramente nulla a sua influencia.

O resultado da acção do salicylato sobre as culturas foi o seguinte: o exame microscopico do caldo, que se tornava muito turvo no fim 2 dias, demonstrou-nos uma exaggerada proliferação de germens perfeitamente nutridos.

Supponos mesmo haver este sal auxiliado o seu desenvolvimento.

SUBLIMADO CORROSIVO

Uma fraca solução de 1:10.000 de bichloreto de mercurio, introduzida em uma preparação do germen da coqueluche, parece extingui-lo 3 minutos depois.

Nas culturas, porém, observámos no fim de 48 horas, alguns microbios, embora aquellas nada de anormal apresentassem ao exame microscopico.

ACIDO CITRICO

Este acido em solução a 10 % forneceu-nos excellent resultado.

Observámos quasi immediatamente depois de pô-lo em contacto com a preparação do germen, que era este aniquilado.

Foi bastante vantajoso o resultado que obtivemos da acção directa desse agente sobre as culturas em que inoculámos o germen; em nenhuma appareceram colonias, mesmo muito tempo depois.

O que obtivemos parece-nos de importancia; desse facto tirámos grande proveito para a clinica, como adiante se verá.

QUININA

Uma solução a 50 % deste alcaloide, em contacto com o germen, não o alterou absolutamente.

Sobre as culturas, não impedio que apparecessem as colonias caracteristicas (temp. 26°, cent.), no fim de 18 a 24 horas, confirmando assim a sua acção completamente nulla.

ANTIPYRINA

Agitava-se a acção germicida da antipyrina sobre o *bacillo de Loeffler*, quando fazíamos esta ordem de trabalhos, de modo que achámos de utilidade conhecer também a acção desse agente sobre o microbio da coqueluche.

Como para os agentes antecedentes, atacámos directamente, no campo do microscopio, uma preparação de cultura do microorganismo em plena vitalidade e desenvolvimento, por uma solução a 10 % de antipyrina e obtivemos o seguinte resultado: nenhuma modificação apreciável, parecendo não sofrer elle cousa alguma da acção da solução de antipyrina.

Repetimos por diversas vezes a experiencia, e c mesmo nos foi sempre dado observar.

O germen mostrou-se indifferente, mesmo durante muitas horas depois.

Introduzindo nas culturas a mesma solução de antipyrina, no fim de 18 horas, obtivemos uma extraordinaria proliferação de germens que não soffreram a menor attenuação sob a influencia daquella substancia.

A elevação de temperatura a 35° favoreceu bastante o desenvolvimento das colonias, confirmando assim a acção completamente nulla da antipyrina.

ASAPROL

Uma solução deste agente a 1 % sobre o germen ou sobre as culturas, demonstrou gozar evidentemente de uma acção parasitica notavel, acção essa muito approximada da do acido citrico e da resorcina.

Seria fastidioso repetir aqui as incontestáveis vantagens da resorcina como específico contra a coqueluche; não obstante, é nosso dever assinalar as curiosas observações que tivemos occasião de notar.

Começaremos pela verificação directa daquelle antiseptico sobre o microbio.

Como procedemos nas anteriores experiencias de microbios cultivados, isto é, perfeitamente nutridos e em plena vitalidade, com 1 gotta de uma solução a 10 % de resorcina, os germens perderam quasi immediatamente a sua fórma, cessando a sua proliferação.

Os germens coloriram-se mal, depois de atacados pela resorcina.

Tivemos o ensejo de repetir varias vezes, em perfeita identidade de condições, estas experiencias, sendo-nos sempre proporcionado observar a destruição do germen em alguns segundos.

Levámos mais longe as nossas pesquisas; aproveitámos tambem a cultura para a comprovação do facto experimental.

Tocámos o caldo peptonizado de agar-agar com uma solução a 10 % de resorcina e, em seguida, transplantámos, de uma exuberante cultura, uma grande parte de seus germens para o caldo em questão.

Mesmo um anno depois, os caldos de agar-agar não deixaram perceber o mais insignificante vestigio de proliferação, nem sequer pudemos encontrar as bacterias para lá transplantadas.

Este notavel resultado interessou-nos deveras, por isso que vem claramente comprovar o effeito therapeutico demonstrado pela clinica.

Assim, por exemplo, foi-nos dado, não raramente, examinar antes de qualquer tratamento o catarro de doentes de coqueluche grave, apreciar então uma abundancia extraordinaria de germens e acompanhar gradualmente o rapido decrescimento, depois da applicação topica da resorcina.

Em alguns casos mesmo houve desaparecimento completo em 24 horas, tempo em que se cu-

raram os doentes !

Mais satisfactorios não podiam ser os resultados que obtivemos, onde ficou mais uma vez patente a efficacia da resorcina, pela sua acção directa sobre o micro-organismo productor da coqueluche.

No correr de todas as nossas experiencias sobre os effeitos directos de alguns medicamentos preconisados no tratamento da coqueluche, como se vê nas nossas anteriores observações, a resorcina foi um dos que melhor resultado nos forneceram.

Pane affirma, no seu já citado trabalho, que a acção da resorcina sobre o *staphylococcus pyogenus aureus* é nulla, e que as suas vantagens na clinica não correspondem ás experiencias de laboratorio !

Não obstante partir essa opinião de uma fonte muito abalisada, pedimos permissão para discordar—no tocante a coqueluche—por isso que as pesquisas precedentes deram resultado inteiramente opposto.

Convém fazer notar que as culturas usadas para o ensaio dessas diferentes substancias sobre o microbio da coqueluche eram perfeitamente puras, de modo a obviar qualquer duvida sobre os resultados obtidos.

Acham-se resumidas no seguinte quadro as experiencias que acabamos de relatar.

ACÇÃO ANTISEPTICA DE ALGUMAS SUBSTANCIAS SOBRE O GERMEN DA COQUELUCHE

Permanganato de potassio.—Dose: 5 %.—Acção directa sobre o germen: nulla.—Acção sobre as culturas: apparecimento de colonias ao cabo de 3 dias.

Salicylato de sodio.—Dose: 5 %.—Acção directa sobre o germen: nenhuma modificação.—Acção sobre culturas: enorme desenvolvimento de germens, denunciando-se pela turvação do caldo.

Antipyrina.—Dose: 10%.—Acção directa sobre o germen: não houve alteração alguma mesmo depois de muitas horas de contacto.—Acção sobre as culturas: em 18 horas grande proliferação de germens sob o aspecto de colónias cõr de canella pallida ou branca, com o augmento da temperatura tiveram grande desenvolvimento.

Acido phenico.—Dose: 5%.—Acção directa sobre o germen: nenhuma acção apreciavel sobre o germen.—Acção sobre as culturas: se bem que o caldo não apresentasse senão ligeira turvação, observado ao microscopio, mostrava numero regular do micro-organismos pathogenicos.

Sublimado corrosivo.—Dose: 1:10.000.—Acção directa sobre o germen: alteração rapida.—Acção sobre as culturas: nenhuma colonia.

Acido borico.—Dose: solução saturada.—Acção directa sobre o germen: nenhuma alteração do germen.—Acção sobre as culturas: ao cabo de 16 dias, mais ou menos, appareceram lentamente colónias brancas da bacteria pathogenica.

Benzonaphtol.—Dose: 5%.—Acção directa sobre os germens: alteração rapida.—Acção sobre as culturas: nenhuma colonia.

Acido citrico.—Dose: 10%.—Acção directa sobre os germens: acção notavel sobre a sua morphologia.—Acção sobre as culturas: ausencia absoluta de colónias.

Resorcina.—Dose: 10%.—Acção directa sobre os germens: destruição immediata.—Acção sobre as culturas: não appareceu sequer um germen mesmo depois de um anno.

Asaprol.—Dose: 1%.—Acção directa sobre os germens: destruição rapida.—Acção sobre as culturas: culturas estereis.

Quinina.—Dose: 50%.—Acção directa sob o bacillo: nulla.—Acção sobre as culturas: colónias brancas no fim de 18 a 24 horas.

Do quadro precedente verifica-se que, dos agentes therapeuticos ensaiados em nossas experiencias, só o sublimado, o benzonaphtol, o acido citrico o asaprol e a resorcina deram satisfactorios resultados. Os dous primeiros não têm applicação pratica na região periglottica, pois são corrosivos da mucosa e toxicos de difficil uso como se sabe (1).

O acido citrico, o asaprol e a resorcina, porém, produziram sobre o microbio da coqueluche o effeito desejado.

A resorcina, como se sabe, foi introduzida no tratamento daquella affecção sob a fórma de embrocções periglotticas pelo Dr. Moncorvo, sendo o seu methodo therapeutico já de ha muito conhecido no estrangeiro, sob o nome de *methodo brasileiro* (Charles Eloy).

O acido citrico, no emtanto, por nós pela primeira vez ensaiado nas investigações sobre o microgermen da coqueluche, exerceu sobre elle tão evidente influencia, que não trepidamos em experimental-o na clinica.

Os resultados verdadeiramente felizes, por nós collidos do emprego da solução citrica em embrocções na garganta, estão relatados na segunda parte deste trabalho, quando nos referimos a therapeutica.

O asaprol foi tambem pela primeira vez empregado pelo Dr. Moncorvo, sendo os resultados obtidos bastante animadores.

V

TRANSMISSÃO AOS ANIMAES

No que se refere a esta parte da experimentação de laboratorio, as nossas investigações, mais numerosas que as de Afanassiew e de outros auctores, são por outro lado muito mais concludentes, visto como o cortejo symptomatico, mais ou menos completo da coqueluche, pudemos obter em um certo numero de

(1) Para alguns auctores como Tarnier (*Asepsie et antisepsie chirurgicale*, 1893) o sublimado corrosivo deve considerar-se o mais perigoso dos antisepticos e contra-indicada sua applicação sobre outra mucosa que não a vaginal.

animaes, sobre os quaes experimentamos.

Na inoculação do microbio da coqueluche usamos de gatos, cães, cobayas, ratos brancos, gallinhas, etc.

Muitos ratos brancos, inoculados com previa erosão da garganta, não demonstraram o menor signal apparente da molestia, muito tempo mesmo depois, parecendo possuirem estes animaes um certo gráo de immunidadade.

Diversos cães foram inoculados com a cultura pura do microbio especifico em caldo de agar: os de tenra idade adquiriram com facilidade a affecção, accusando um delles leves symptomas da molestia.

A mucosidade retirada do fundo da garganta daquelles animaes demonstrou abundancia de germens.

Um gato, inoculado com a cultura em batata, teve, ao cabo de quatro dias, alguns symptomas, traduzidos pela tristeza, abatimento, embaraço no miar, chegando posteriormente a ter alguma tosse. Restabeleceu-se entretanto.

Um grande numero de cobayas, inoculadas com culturas em meios diversos, facilmente adquiriram a molestia, cujos symptomas característicos se deixavam perfeitamente perceber sob a forma de tosse convulsiva, quintosa, prostração, abaixamento da temperatura, etc. Alguns destes animaes succumbiram ao cabo de alguns dias e da autopsia podemos verificar grande copia de mucos na região tracheo-laryngeana; essa secreção, que examinada ao microscopio deixou ver o germen especifico em elevado numero, serviu mais de uma vez para a sementeação em caldos de agar, onde vimos apparecer as colonias caracteristicas do germen da coqueluche.

Algumas gallinhas, que tambem foram submetidas á experiencia, concorreram ainda para demonstrar a especificação do parasita productor da affecção. Esta se apresentou nestas aves sob uma forma interessante.

Mantinhão o bico entre-aberto, movimentos bruscos da cabeça, rouquejando de vez em quando; a garganta estava cheia de espessa mucosidade que,

examinada ao microscópio, denunciou com evidencia o germen pathogenico, revelando-se todos estes phenomenos muito claros, ao cabo de seis a dez dias depois da pulverisação, ou mesmo da inoculação do microbio da cultura em caldos de agar, na sua tracheoarteria.

Serviram, pois, para a identificação do microbio da coqueluche cerca de 50 animaes, dos quaes só os ratos brancos mostraram completa immunidadade para a molestia.

Em todos os animaes em que experimentamos a transmissão da coqueluche, longe de observar no decurso dos phenomenos pathogenicos *hyperthermia*, verificamos sempre *abaixamento da temperatura*, em geral de um grão, em outros casos de um grão e meio.

Os animaes nos quaes os symptomas morbidos francamente se desenhavam, o peso decrescia rapidamente até a morte, recuperando-o aquelles que caminhavam para a cura.

Destas experimentações *in anima vili* parece ser possivel concluir:

- 1.º Que os ratos brancos são de alguma sorte refractarios a coqueluche.
- 2.º Que os cães adultos, como succede com a especie humana, difficilmente contrahem-n'a, ao contrario do que parece succeder aos cães ainda novos.
- 3.º Que os gallinaceos, comquanto exprimam a tosse com caracteres peculiares a de outros vestebra- dos superiores, não se mostram comtudo refractarios a cultura do germen na sua tracheo-arteria.
- 4.º Que a coqueluche desenhou-se com os seus caracteres proprios nas pequenas cobayas inoculadas com as culturas puras do germen, quer extrahido directamente das creanças affectadas, quer do laryn- ge de outrás cobayas.

Estas nossas investigações foram comunicadas ao Gremio dos Internos dos Hospitales do Rio de Janeiro e reproduzidas em um trabalho publicado pelo Dr. Moncorvo em Junho de 1892, sob o titulo: «Coqueluche, son microbe, son traitement par la resorcine» (carta dirigida ao Dr. H. Gillet), nos Annales de la Policlinique de Paris.

Em 23 de Junho do mesmo anno fizemos inserir em um jornal diario, então de grande circulação no Rio de Janeiro, *O Figaro*, um resumo do nosso referido trabalho, que foi na mesma data entregue á publicidade sob a forma de brochura (2).

O Buletin de Medicina do Chile (Outubro 1892), *Os Annales del Circulo Medico Argentino* (Outubro 1892), a *Revista de Higiene Infantil* (Buenos Ayres, Novembro 1892), a *Revista Medica de Chile* e *Chronica Medica de Lima* (Perú, 1892,) publicaram em hespanhol o mesmo trabalho.

Durante todo o anno de 1892, os nossos estudos foram divulgados não só no Brazil, como no estrangeiro, por meio de publicações e communicações enviadas a varias sociedades medicas.

Sómente por valor historico citaremos aqui a pretensa descoberta do Dr. Deichler, de Bremen.

Em Setembro de 1891 appareceu sobre ella a seguinte noticia, resumida no Archivo Italiano de Pediatria (de G. Somma).

« Em uma communicação feita ao Congresso dos Naturalistas (Bremen, 1890), o Dr. Deichler poz em duvida o poder especifico do micro-organismo descrito por Afanassiew.

« Examinando uma gotta de esputo fresco, encontrou numerosos elementos; achou corpos estranhos que outra cousa não eram senão *protozoarios*.

(2) *Moncorvo Filho* — De microbio da Coqueluche — Rio de Janeiro — 1892 — Br. 1/4.

Estas nossas investigações foram comunicadas ao Gremio dos Internos dos Hospitales do Rio de Janeiro e reproduzidas em um trabalho publicado pelo Dr. Moncorvo em Junho de 1892, sob o titulo: «Coqueluche, son microbe, son traitement par la resorcine» (carta dirigida ao Dr. H. Gillet), nos Annales de la Policlinique de Paris.

Em 23 de Junho do mesmo anno fizemos inserir em um jornal diario, então de grande circulação no Rio de Janeiro, *O Figaro*, um resumo do nosso referido trabalho, que foi na mesma data entregue á publicidade sob a forma de brochura (2).

O Buletin de Medicina do Chile (Outubro 1892), *Os Annales del Circulo Medico Argentino* (Outubro 1892), a *Revista de Higiene Infantil* (Buenos Ayres, Novembro 1892), a *Revista Medica do Chile* e *Chronica Medica de Lima* (Perú, 1892,) publicaram em hespanhol o mesmo trabalho.

Durante todo o anno de 1892, os nossos estudos foram divulgados não só no Brazil, como no estrangeiro, por meio de publicações e communicações enviadas a varias sociedades medicas.

Sómente por valor historico citaremos aqui a pretensa descoberta do Dr. Deichler, de Bremen.

Em Setembro de 1891 appareceu sobre ella a seguinte noticia, resumida no Archivo Italiano de Pediatria (de G. Somma).

« Em uma communicação feita ao Congresso dos Naturalistas (Bremen, 1890), o Dr. Deichler poz em duvida o poder especifico do micro-organismo descripto por Afanassiew.

« Examinando uma gotta de esputo fresco, encontrou numerosos elementos; achou corpos estranhos que outra cousa não eram senão *protozoarios*.

(2) *Moncorvo Filho* — Do microbio da Coqueluche — Rio de Janeiro — 1892 — Br. 1/4.

Estes existiam frequentemente, durante o periodo mais grave da infecção; apresentavam-se sob a forma de corpusculos redondos ou ovais, pallidos e pouco mais volumosos que as cellulas lymphoides; alguns apresentavam dimensões muito consideraveis, sendo quatro a seis vezes maiores que as cellulas do epithelio buccal.

« Possuiam um protoplasma finamente granuloso, contendo um nucleo e uma parede provida em seu bordo de uma franja de cilios vibrateis; o protoplasma da cellula viva era animado de movimento bronniario.

« Os protozoarios eram facilmente reconhecidos pelo seu reflexo metallico, verde amarellado; alguns apresentavam prolongamentos acuminados, outros simples asprezas em sua superficie. Junto aos de forma redonda, outros haviam com a forma de feradura.

« Todas estas cellulas eram providas de cilios vibrateis, tendo movimentos mais semelhantes aos dos infuzorios, do que aos dos epithelios.

« O mesmo não verificou em relação aos *protozoarios* de outra forma vesicular assáz volumosa, providos de movimento ameboide e dotados de uma coloração cambiante devida a refração da sua parede ».

Foi Deichler o unico até agora a aventar a ideia de um *protozario* como sendo o verdadeiro agente infectuoso do morbo que nos occupamos.

Estava a questão neste ponto, quando novas pesquisas bacteriologicas foram publicadas sobre o parasita da coqueluche, as quaes parece-nos não fizeram mais do que confirmar os nossos longos e difficéis estudos já anteriormente publicados.

Assim, na sessão de 9 de Novembro de 1892 da *Sociedade Medica* de Berlim, isto é, 7 mezes depois de publicados os nossos trabalhos originaes sobre o *germen da coqueluche*, J. Ritter apresentou uma communicação mais ou menos nos seguintes termos:

« Tem-se muitas e repetidas vezes procurado isolar o microbio da coqueluche, mas sem resultado.

« Depois, porém, de infructíferas tentativas, observei um dia uma creança que apresentava graves lesões do terço inferior da trachea, emquanto que o resto deste conducto, bem como o larynge, estavam apenas levemente alterados.

« Sendo levado a examinar a secreção bronchica deste doente, utilizei-me do methodo indicado por Koch para obter culturas puras por meio dos *crachats*. Na expectoração encontrei *globulos amarelltos escuros*, provenientes dos bronchios de menor calibre e facéis de distinguir das mucosidades viscosas secretadas pelo larynge e pela trachea.

« Isolando estes globulos, fazendo com elles culturas, obtive um *diplococcus*, que considero o agente pathogenico da coqueluche.

« Este é acrobio; a temperatura que melhor convem ao seu desenvolvimento é a de 36° a 38°; elle não se cultiva abaixo de 30° nem acima de 42°. Os *cocci* reunidos se dispõem de todos os modos possíveis: em grupos, em cadeias rectilíneas ou curvas.

« O melhor terreno de cultura parece ser o *agar-agar puro*.

« Este *diplococcus* é extremamente pequeno; os *cocci* isolados são redondos com um leve achatamento em seu ponto de contacto. O microbio não pôde ser confundido com qualquer dos micro-organismos até aqui descritos e, em particular, com os que se encontram nos *crachats* normaes ou catarraes; pôde-se d'ahi concluir a sua especificidade.

« Fiz sobre os animaes muitas experiencias com este microbio; se bem que não estejam ainda terminadas, posso já annunciar que conseguí, inoculando na trachea de dous cães, determinar nelles uma tosse similhante a da coqueluche ».

Dos termos desta resumida nota deprehende-se sem grande esforço que J. Ritter, desconhecendo absolutamente os trabalhos do Dr. Moncorvo e os nossos proprios, já tão divulgados na Europa e na America, julgou ter sido o primeiro a isolar e a caracterisar o germen especifico da coqueluche, ignorando não haver feito mais do que comprovar as nossas investigações.

Por outro lado, o Sr. Weber, em 29 de Novembro, ainda de 1892, leu na sessão da Academia de Medicina de Paris uma comunicação do Sr. Galtier, Professor da Escola Veterinaria de Lyon, sobre o germen pathogenico da coqueluche.

Para maior esclarecimento da questão, transcrevemos na integra as palavras daquelle experimentador, acompanhadas de suas conclusões:

« Durante os mezes de Dezembro de 1886, Janeiro e Fevereiro de 1887, onze pessoas (das quaes 7 creanças) da familia Galtier contrahiram coqueluche. Aproveitei o ensejo para fazer algumas preparações, culturas e inoculações.

« Nas preparações do catarrho, coloridas de maneiras diversas, observei *numerosos microbios redondos, reunidos dous a dous ou em grupos*; elles eram sobretudo abundantes nas partes mais consistentes das materias expectoradas. Nas culturas, repetidas um grande numero de vezes em meios solido—sgelatina e gelose—isolei outros microbios que acompanham o *microoccus*, muito abundantes nos *crachats*.

« Uma collecção destas culturas figurou na exposição de 1889.

« Tentativas de transmissão têm sido feitas em um grande numero de animaes com os *crachats* e com as culturas puras não encerrando senão o germen citado. Ellas se fizeram em veados, carneiros, cabras, cães, gatos, gallinhas, coelhos e cobayas.

« Geralmente foram praticadas, pulverisando nas cavidades nasaes e na bocca uma mistura de catarrho e agua distillada quente ou uma mistura de agua e de cultura em injeccão sobre a mucosa nasal ou palatina.

« Eis os resultados obtidos:

« 1.º Uma gallinha executava, seis dias depois de ter sido infectada com catarrho, movimentos de cabeça insolitos; dava em seguida signaes inequivocos da molestia; saliva viscosa se escapava de quando em vez do bico; uma das aberturas nasaes estava obs-

truida pelas mucosidades; o larynge era muito sensível; accentuando-se tudo vinte dias depois da infecção.

«Encontrou-se nas mucosidades o mesmo microbio que no catarrho e sendo o mesmo isolado pela cultura. A doente restabeleceu-se.

«2.º Uma cobaya, infectada em 12 de Janeiro (pulverisações), morreu a 26; o larynge estava inflammado; reconheceu-se ainda o microbio da coqueluche no muco que cobre o larynge e no pulmão, o qual se mostrou congestionado.

3.º Um cão *bull-dog* muito robusto, infectado (pulverisações) com o escarro, começou a tossir alguns dias depois. Em 18 de Fevereiro é accommetido de uma tosse sonora, guttural e quintosa, que se repete muito frequentemente. Em 23 de Fevereiro começou a melhorar; sendo sacrificado por effusão de sangue. Pela autopsia encontrou-se uma placa de congestão no pulmão, da extensão de uma moeda de 5 francos de prata; catarrho tracheo-bronchico sobre a muito manifesto; numerosos pontos de congestão mucosa da epiglote e do larynge, assim como na porção inicial da mucosa tracheal.

«O microbio da coqueluche é abundante no muco e nas lesões; é cultivado em duas gallinhas e um gallo, que offerecem os mesmos symptomas que o primeiro inoculado.

«4.º Um coelho, infectado pela injeccção intravenosa da cultura, morre no quarto dia com congestão do pulmão e da mucosa laryngo-tracheal.

«Nada consegui sobre o veado, sobre o carneiro, nem sobre a cabra; entre os numerosos coelhos e não menos numerosos porcos da India, submettidos á infecção, diz Galtier, obtive sómente dous resultados positivos; os cães e sobretudo as gallinhas deram melhor resultado.

«As pessoas de minha familia, continúa elle, que puderam, como eu proprio, submeter-se ás inhalações terebentinadas e aos gargarejos com emulsões de essencia de terebentina curaram-se mais rapida-

mente que os outros.

« Eis as conclusões das minhas experiencias e observações :

« 1.º Que a coqueluche é uma *molestia microbiana*.

« 2.º Que é determinada por um microbio *acrobio*, facil de cultivar, existindo em abundancia nas partes mais consistentes dos escarros e mostrando-se sob a *forma arredondada*.

« 3.º Que os gargarejos e as inalações terebentinadas podem ser muito uteis em seu tratamento.

« 4.º Que a coqueluche é *transmissivel* a certos animaes (*coelhos, porcos da India, cões e gallinhas*) e que notoriamente o *cão* e a *gallinha* são mais susceptivos de adquiril-a, melhor se prestam a seu estudo experimental.

Mais recentemente, Cohn e Neumann (3) encontraram no escarro da coqueluche, de modo quasi constante, *pequenos cocci*, muitas vezes *diplococcus*, mais raramente em *curtas cadeias*. Estes auctores não acreditam que seja este microbio o agente pathogenico da coqueluche, do mesmo modo que o bacillo de Afanassiew e o diplococco de Ritter.

O anno passado J. Ritter voltou a publicar um trabalho sobre este assumpto (4), no qual diz que, no periodo de 5 annos, teve occasião de encontrar 1.161 casos de coqueluche, em 147 dos quaes, examinados debaixo do ponto de vista microscopico, verificou sem excepção o *diplococco especifico*.

A respeito destas conclusões de J. Ritter, Schlosman chama a attenção para a extraordinaria similhaça que offerecem as culturas d'aquelle com as do *gonococcus* (5).

(3) *Wurtz*—Précis de Bacteriologie Clinique Paris—1895.

(4) J. Ritter—Ueber den Keuchkusten—Berlin. Klin. Woch. ns. 47, 49;—23 e 8) de Novembro de 1896.

(5) *Pediatrics*—Vol. 4 n. 1—July ist 1897—New-York.

Por seu lado Heubrier relata que o *meningococcus*, por elle descoberto, apresenta-se em cultura no agar-agar com o mesmo aspecto que o germen descripto por J. Ritter na tosse convulsiva (6).

Dessa minuciosa exposição, nos é licito concluir que o germen, descripto pelo Dr. Moncorvo de 1883 a 1889, e depois por nós estudado até esta data com todos os preceitos da bacteriologia moderna, obteve destas ultimas pesquisas plena confirmação, visto como com pequenas variantes chegaram estes ultimos auctores a conclusões identicas ás nossas.

O que torna-se injustificavel, repetimos ao terminar esta parte do nosso trabalho, é desconhecer a maior parte dos auctores, por vezes verdadeiras notabilidades do Mundo Medico, o quanto já se tem feito entre nós acerca da microbiologia da coqueluche.

Ainda recentemente Richardière (7), que escreveu uma extensa monographia sobre o assumpto, e o Professor Jacobi (8), que publicou um trabalho sobre a therapeutica das molestias das creanças, referindo-se á natureza da coqueluche, relatam apenas de passagem os trabalhos de Letzerich, praticados em 1873, justificando dest'arte a justiça desta nossa rectificação.

(7) Richardière—*Coqueluche*—Biblioteque Medicale Charcot—Debove.

(8) Jacobi—*Therapeutics of Infancy and Childhood*—Philadelphia 1896.

II PARTE

THERAPEUTICA DA COQUELUCHE

Os meios therapeuticos, desde as mais remotas épocas, preconizados contra a coqueluche, absurdos uns, engenhosos outros, foram completamente derrocados pelo inolvidavel edificio levantado pelo immortal Pasteur. O *tratamento parasitico*, unico racional e logico, é aquelle que a clinica e a longa experimentação de laboratorio vieram sobejamente demonstrar ser o verdadeiro methodo therapeutico a empregar contra tão cruel affecção, que ceifa annualmente não pequeno numero de victimas.

Não iremos, pois, fazer aqui o historico do tratamento da coqueluche; tal seria demasiado longo.

Tem-se com tal intuito suggerido uma infinidade de meios os mais diversos, chegando mesmo clinicos de certa época, em vista dos insuccessos, ás raias de um verdadeiro desanimo, renunciando até outros toda e qualquer therapeutica.

O nosso fito na segunda parte deste trabalho é occupar-nos exclusivamente do *tratamento topico-antiseptico*, o qual conseguiu, como se devia esperar, o mais benefico resultado, nas mãos de todos os clinicos sérios, que o têm empregado rigorosamente.

Em que se basea esse methodo therapeutico? Podemos resumil-o em poucas palavras.

O que expuzemos no primeiro capitulo leva-nos

a convicção exacta de que o *contagium* é devido a um microbio que penetra nas vias aereas e se localisa na parte superior da arvore bronchica, sobretudo no larynge, ahi encontrando terreno favoravel onde prospera.

E d'ahi que parte a irritação das terminações nervosas que occasionam os accessos de tosse; é tambem ahi que tem origem as colonias microbianas que produzem o catarrho especifico. Essa doutrina não exprime méra concepção ideal; é o resultado de todas as leis scientificas, creadas pela rigorosa demonstração de laboratorio.

Que o processo coqueluchal parte do larynge, não são só as nossas investigações brasileiras que o provam.

Além das asserções de Gendrin e Beau e, depois delles, as do Dr. Watson, de Glasgow, a quem coube a gloria de ter sido o primeiro a aconselhar a applicação directa no larynge dos agentes medicamentosos, outras demonstrações vieram dar ganho de causa a doutrina que sustentamos.

E senão vejamos:

Em suas pesquisas laryngoscopicas, Meyer e Kerf demonstraram que na coqueluche o maximo da congestão laryngéa corresponde a região inter-arythnoidiana.

Bidder e Nothnagel provaram que a irritação da mucosa da parte posterior do larynge determina accessos de tosse convulsiva.

Rosenthal, por outro lado, produziu experimentalmente, pela irritação do larynge superior, cujos filetes innervam essa porção da mucosa, accidentes semelhantes aos da tosse da coqueluche, isto é, o relaxamento do diaphragma, a estenose glotticá e um espasmo dos musculos espiradores.

Parrot, Vannebroug e Lebe partilham unisonamente da mesma opinião.

Desde longa data o Dr. Moncorvo sustenta ser o larynge a séde da coqueluche.

Uma indicação fundamental se conclue dessas rapidas considerações: a localização precisa do microbio pathogenico da coqueluche no organismo humano e, dahi, a sua destruição por meio dos agentes antisepticos.

O *acido phenico* (Domingos Carlos, Orfila, Seemann, Davézac, Goldschmidt, Pick e outros), o *phenato de sodio* (Parrot), o *salicylato de sodio* (Heubrier e Neubert), a *quinina* (Cullen), o *thymol*, o *benzoato de sodio* (Tordeus) e muitas outras substancias, que longo seria ennumerar, têm sido ensaiadas no tratamento antiseptico da coqueluche.

O methodo therapeutico iniciado pelo Dr. Moncorvo em 1880, que consiste nas embrocações repetidas de uma solução resorcínica (10 %^o) sobre a região peri-glottica, por meio de um pincel de haste longa de arame, levou-o aos resultados os mais completos e mais promptos, os quaes têm sido de então em diante incessantemente corroborados por um stock excedente a 1000 observações.

Logo depois de lançado no mundo medico o processo do tratamento germicida pela resorcina, não tardaram as confirmações da parte de clinicos de todos os pontos da Europa e da America.

Em 1885, o Dr. Barlow, de Manchester, tratando por esse methodo 50 doentes daquella affecção, obteve promptamente *cincoenta curas*.

Da Hollanda veiu depois a confirmação de Arutzenius.

De França partiu ainda, em 1885, uma lisongeira confirmação da parte do Dr. E. Mauriac, que commu-

nicou á Sociedade de Medicina de Bordeaux o resultado de seus ensaios acerca do methodo therapeutico em questão.

Em 1886, o Sr. Hyppocrate Callias se declarou partidario entusiasta do methodo de tratamento da coqueluche pela resorcina, taxando-o de *maravilhoso* em muitos casos.

Em uma carta, pelo Dr. Guaita (de Milão) escripta em 1886 ao Dr. Moncorvo, annunciava aquelle clinico os resultados felizes colhidos pelo emprego da resorcina no tratamento da coqueluche.

Notaveis communicações sobre o mesmo assumpto foram feitas ao Congresso internacional de Barcelona em 1886. Taes são as de Viuras y Carreras, Calatravenõ e Guerra y Estapé.

Muitos medicos americanos, querendo verificar o methodo do Dr. Moncorvo na clinica, obtiveram os mais beneficos resultados. O Dr. E. W. Hedges, por exemplo, não se limitou tão sómente a empregar-o na infancia, fel-o tambem em adultos.

Na Allemanha, em 1889, o Dr. J. Andeer (de Muenich) poudo, por sua parte, verificar os successos por seus predecessores já assignalados.

Ainda em 1889, o Dr. Guidi, de Florenza, foi um dos primeiros na Italia a contraprovar o methodo therapeutico das embrocações de resorcina, registrando, em 309 *doentes*, 302 *curas*, no curto espaço de dez dias e meio na média.

Em Abril do corrente anno, o Dr. Roskan communicou á Sociedade de Medicina de Liege que, empregando a solução de resorcina em 290 casos de coqueluche, teve em 200 a cura radical, em um lapso de tempo não excedente a quinze dias. Os outros noventa doentes restabeleceram-se antes de um mez.

No Brazil, desde longa data, muitos clinicos distinctos têm-se utilisado da resorcina, no tratamento da tosse convulsiva, com o mais brilhante exito.

Assim, entre outros, os Drs. Rodrigues Gilião, Baptista Velloso, Jayme Silvado e Clemente Ferreira escreveram trabalhos com o intuito de provar a efficacia therapeutica do methodo do Dr. Moncorvo. 22

Mais tarde, quando já eram fóra de duvida as vantagens da resorcina, o Dr. Moncorvo achou conveniente, nos casos de hyper-coqueluche, em que a excitabilidade da mucosa do larynge era muito exaggerada, auxiliar o tratamento, precedendo as pincelladas peri-glotticas antisepticas com as de um anesthesico, escolhendo para isso uma solução de cocaina de 5 ou 10 por cento.

Foi ainda o Dr. Moncorvo o primeiro a usar da cocaina na coqueluche.

O distincto collega Dr. Jayme Silvado, já acima citado, publicou em 1889 um estudo (1) em que propõe-se a demonstrar a efficacia da *creolina* na coqueluche, d'ella conseguindo bons resultados.

Elle utilisou-se para isso de soluções fortes, até 3 por cento, referindo nesse trabalho varias observações de casos de cura relativamente rapida.

Na parte em que assignalamos nossas pesquisas bacteriologicas mostramos qual o resultado obtido pela acção de diversos agentes therapeuticos sobre o micro-organismo da coqueluche, quer no campo do microscopio, quer nas culturas. Entre aquelles fomos intuitivamente levados a estudar o *acido citrico*, que forneceu-nos resultados muito satisfactorios, produzindo a destruição completa do referido microbio.

O utilisamos na clinica em diversos casos de coqueluche. Esses primeiros resultados foram logo dados a publicidade (2).

(1) Nota sobre a natureza parasitaria da coqueluche e o tratamento d'esta pelos parasiticidas, especialmente a *creolina*, *União Medica* — Rio de Janeiro—Abril e Maio de 1889.

(2) Moncorvo Filho—*Pesquisas Scientificas*—N. 3—O *acido citrico* na Coqueluche—Junho de 1893.

Moncorvo Filho—*Comunicacão apresentada ao Gremio dos Internos dos Hospitaes em 22 de Junho de 1894.*

Moncorvo Filho—*Quarto caso de Coqueluche curado pelo acido citrico.*—Setembro de 1894.

O processo empregado foi o mesmo do Dr. Moncorvo, isto é, embrocações peri-glotticas, por meio de um pincel, com uma solução a 10^o/_o de acido citrico, adoçando o liquido por meio de xarope simples.

Os mais lisongeiros resultados conduziram-nos a proseguir neste ensaio, alcançando um *stock* de mais de 30 casos felizes, alguns dos quaes de hyper-coqueluche.

Da demonstração que nos foi dado ser o primeiro a fazer, relativa á acção germicida do acido citrico contra esta affecção, resultaram deducções muito practicas e fructuosas em referencia a prophylaxia. Foi assim que conseguimos evitar em grande numero de tenras creanças, que conviviam com coqueluchentos, o contagio, pela administração diaria de pequenas quantidades de limonadas citricas.

Esse meio prophylatico nunca falhou em nossas mãos.

Muitos clinicos brasileiros têm empregado nosso processo de tratamento da coqueluche.

Entre elles, citaremos o nome do Dr. Antero Manhães, de Campos (Estado do Rio de Janeiro), que nos communicou os beneficios por elle colhidos com o acido citrico em sua clinica e como meio prophylatico.

Empregaram-n'o, tambem com excellente exito, os Drs. Ernesto Cunha, Saldanha Sobrinho, Azevedo Junior, Bonifacio Castro, Leonel Rocha e outros.

Os resultados do emprego das soluções citricas na coqueluche pareceram-nos equivalentes aos da resorcina.

Nos logares pouco populosos, onde esta ultima

O processo empregado foi o mesmo do Dr. Moncorvo, isto é, embrocações peri-glótticas, por meio de um pincel, com uma solução a 10^o/_o de ácido cítrico, adoçando o líquido por meio de xarope simples.

Os mais lisongeiros resultados conduziram-nos a proseguir neste ensaio, alcançando um *stock* de mais de 30 casos felizes, alguns dos quaes de hyper-coqueluche.

Da demonstração que nos foi dado ser o primeiro a fazer, relativa á acção germicida do ácido cítrico contra esta affecção, resultaram deducções muito practicas e fructuosas em referencia a prophylaxia. Foi assim que conseguimos evitar em grande numero de tenras creanças, que conviviam com coqueluchentos, o contagio, pela administração diaria de pequenas quantidades de limonadas cítricas.

Esse meio prophylatico nunca falhou em nossas mãos.

Muitos clinicos brasileiros têm empregado nosso processo de tratamento da coqueluche.

Entre elles, citaremos o nome do Dr. Antero Manhães, de Campos (Estado do Rio de Janeiro), que nos communicou os beneficios por elle colhidos com o ácido cítrico em sua clinica e como meio prophylatico.

Empregaram-n'o, tambem com excellente exito, os Drs. Ernesto Cunha, Saldanha Sobrinho, Azevedo Junior, Bonifacio Castro, Leonel Rocha e outros.

Os resultados do emprego das soluções cítricas na coqueluche pareceram-nos equivalentes aos da resorcina.

Nos logares pouco populosos, onde esta ultima

substancia não é encontrada, ou mesmo quando estiver alterada e, portanto, prejudicial pela irritação que produz, o acido citrico ou o proprio limão apresenta a vantagem de poder ser com facilidade adquirido.

Havendo verificado a influencia nociva do benzonaphtol sob as culturas do germen da coqueluche, era licito supponmos pudesse ser o principal agente desta combinação o *naphthol B*, aproveitando-o no tratamento da affecção. Esta hypothese, entretanto, não encontrou pratica realisação, em virtude de sua insolubilidade, bem como pela sua acção irritante sobre a delicada mucosa laryngéa. Desde, porém, que teve ao seu alcance um derivado soluvel desta substancia, o *asaprol*, introduzido na therapeutica por Dujardin Beaumetz e Stackler, a ella recorreu o Dr. Moncorvo com o mais provado exito, como se deprehe de suas primeiras observações publicadas em 1895 (3).

De grande numero de outros factos analogos temos sido, em seu serviço, testemunha. Desde que foi ensaiado o tratamento topico pelo *asaprol* (1:100), pareceu-nos, provado, ser esse novo agente um dos poderosos parasiticidas contra aquella affecção, que tanto afflige a infancia.

De tudo o que precede, julgamos poder tirar as seguintes conclusões :

1.° Que as pesquisas de Ritter e Galtier não fizeram mais do que comprovar as que houveramos anteriormente publicado.

2.° Que a coqueluche é evidentemente uma affecção local, cuja séde está bem verificado ser o larynge.

(3) *Contr. à l'Etude de l'Asaprol dans la Therap. Infantile. Bull. Gen. de Thérap. 1895.*

3.° Que o seu microbio pathogenico é um *coccus*, que apresenta mais geralmente a forma allongada, simulando um *bastonete*, grupando-se de modo differente, ora sob a forma de *diptococcus* de *cadeias rectas* ou *curvas*, ora em *grupos* ou *zooglias*, sendo quasi sempre o seu *hobital* as *cellulas epitheliaes*, que d'elle se infiltram consideravelmente.

4.° Que esse germen é susceptivel de cultura em varios meios; é no *agar-agar* solido que melhor se cultiva. A sua inoculação em certos animaes reproduz a molestia com os seus caracteres.

5.° Que a medicação topica por meio de certos antisepticos é a unica racional e aquella que tem fornecido á clinica as maiores vantagens. A *resorcina*, o *acido citrico* e o *asaprol*, como provamos, parecem ser até hoje os mais poderosos e activos recursos contra a coqueluche.

6.° Que o *acido citrico* ou o proprio *limão* demonstrou ser não só excellente meio curativo, mais tambem prophylatico de vantagem inconcussa.