

ROLAND SIMON
CHEFE DO LABORATÓRIO DO S.N.P. — MACEIÓ

**CONTRIBUIÇÃO AO ESTUDO DAS
PROVAS BIOLÓGICAS NO DIAGNÓSTICO
DA INFEÇÃO PESTOSA**

574
3594 c

★

Departamento de Imprensa Nacional
Rio de Janeiro - Brasil - 1952

AGRADECIMENTOS

A presente monografia tem por finalidade dar o devido relêvo às provas biológicas ou inoculação em animais sensíveis, no diagnóstico de Laboratório da infecção pestosa.

Os comentários prévios, feitos sobre os diversos fatores que prejudicam as provas culturais, impõem-se para facilitar a compreensão da importância da prática de inoculações *in-loco*, na região em que trabalhamos, isto é, no nordeste do Brasil. E para que a exposição do assunto não se ressentisse da carência de documentação estatística e casos concretos, aproveitamos os estudos realizados no Laboratório deste Setor, durante os surtos de 1947-1948, redigindo-a quase sob a forma de relatório, salientando devidamente as observações de maior interesse.

Valemo-nos desta oportunidade para manifestar a nossa gratidão aos gestos de estímulo e compreensão patenteados pelo Dr. Almir de Castro, estimado Diretor do Serviço Nacional de Peste, o qual vem proporcionando, aos Laboratórios dessa Instituição, as mais modernas e completas instalações e aparelhagem.

Sentimo-nos também penhorados aos Drs. Saul Melo (Chefe do Setor), Luna Filho e José Nobre, os quais, em realizando os inquéritos epidemiológicos, envidaram todos os esforços afim de obter o copioso material, cujos exames constituem o presente trabalho. Finalizando, agradecemos aos Laboratoristas Liberalino Barros, Percida Barros e Luís Bezerra de Lima, pela dedicação e operosidade demonstradas.

MINISTÉRIO DA JUSTIÇA E NEGÓCIOS INTERIORES	
DEPARTAMENTO DE IMPRENSA NACIONAL	
BIBLIOTECA	
NUMERO	DATA
969	22-9-53

ABSTRACT

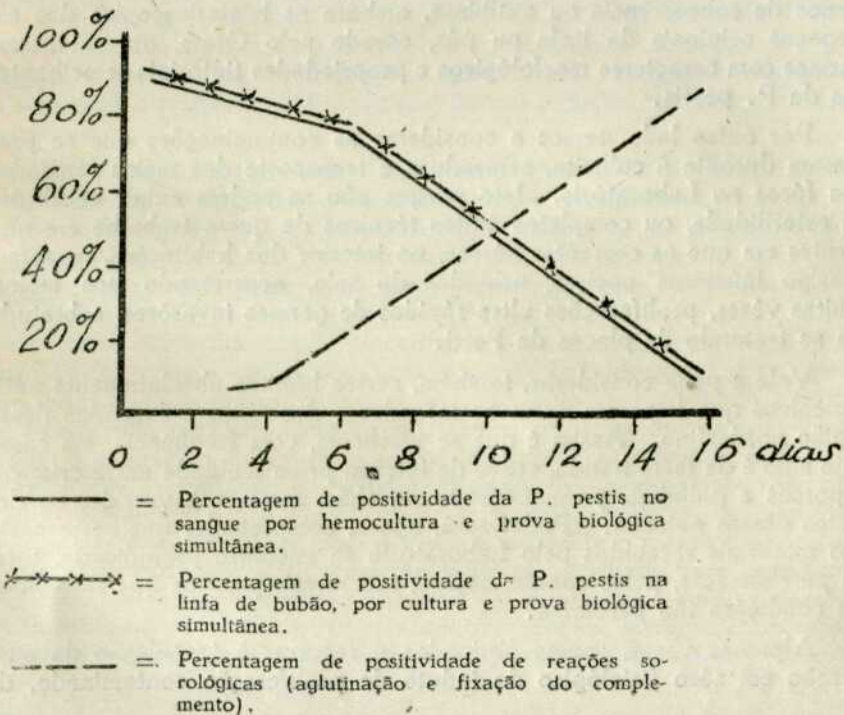
A general introduction to the study of the history of the world, from the beginning of time to the present day. The author discusses the various theories of the origin of life and the development of the human race. He also touches upon the different stages of civilization and the progress of science and art. The work is intended for the general reader and is written in a clear and concise style.

I PARTE



Apesar de grandemente enriquecida a bibliografia nacional sôbre os problemas relativos à peste bubônica, constatamos que ainda não foram devidamente abordadas as questões concernentes às dificuldades de ordem técnica nas pesquisas bacteriológicas dos materiais enviados para análise. Entretanto, tal assunto é dos mais importantes, pois dêle dependem os estudos epidemiológicos e, conseqüentemente, as orientações profiláticas.

Nessa contingência, continuam as unidades encarregadas do importante setor de diagnóstico que é o laboratório, a executar um sem número de provas escolhidas sob critérios heterogêneos, unicamente pela escassês de estudos sistemáticos sôbre a matéria. Dai a necessidade de publicações semelhantes à que ora apresentamos, pois, além de por em fóco as técnicas, suas indicações e os resultados conseguidos, possuem um caráter documentário de valor inestimável para estudos posteriores.



Pela análise geral do assunto, verificamos inicialmente serem comuns no nordeste fatores diversos que vêm dificultar ou prejudicar definitivamente essa ordem de pesquisas, conforme poderemos demonstrar observando os dados coligidos nos diversos quadros e tabelas anexos.

Um desses fatores é o que se relaciona à grande freqüência de colheitas de materiais praticadas em doentes nas fases mais adiantadas da moléstia, em alguns casos, no período da convalescença, o que se deve, geralmente, a denúncias tardias. Ora, como é sabido, as probabilidades de êxito no isolamento da *Pasteurella pestis* dependem sobretudo da precocidade da colheita dos materiais, como se vê pelo gráfico anterior.

Outro inconveniente, aliás não incomum, é a ocorrência de contaminações bacterianas intensas, tão prejudiciais a trabalhos dessa natureza. A origem dessas contaminações pode estar relacionada a bactérias de associação, penetradas no organismo devido à quebra de resistência ou anergia resultante da própria infecção pestosa. É o que ocorre nas culturas de suco bubonático colhido depois do primeiro septenário, onde é comum isolar-se, ao lado da *Pasteurella pestis*, numerosas colônias de coccus piogênicos, como o *Streptococcus*, o *Staphylococcus*, e, mais raramente, o *Diplococcus* e *Neisseria*. Particularmente nos portadores de bubões enormes, com zonas de flutuação, ou então, expontaneamente abertos, é muitas vezes impossível o isolamento da *P. pestis*, por fenômenos de concorrência ou antibiose, embora as bacterioscopias dos esfregaços originais da linfa ou pús, corado pelo Gram, apresentassem germes com caracteres morfológicos e propriedades tintoriais semelhantes aos da *P. pestis*.

Por outro lado, temos a considerar as contaminações que se processam durante a colheita, sementeira e transporte dos meios semeados dos focos ao Laboratório. Isto porque não se podem exigir condições de esterilidade, ou completos êxitos técnicos de quem trabalhe em ambientes em que as correntes aéreas, no interior das habitações, arrastam consigo inúmeras poeiras, oriundas do solo, acarretando nos meios, muitas vezes, proliferações ultra-rápidas de germes invasores, sobretudo em se tratando de placas de Petri.

Vale a pena considerar, também, certos hábitos absolutamente anti-higiênicos que imperam entre os moradores dos sítios e fazendas dessa região nordestina. Assim é que se verificam, com freqüência, em casas cujo solo é de terra batida, cenas de intensa promiscuidade entre crianças e porcos e galinhas, permanecendo no chão raramente varrido, os dejectos desses animais. Poder-se-á, agora, compreender que certa parte dos materiais recebidos pelo Laboratório se encontre prejudicada, total ou parcialmente, pelas contaminações, inevitáveis para os que trabalham em condições tão precárias.

Algumas vezes, somos obrigados a recorrer à inoculação da suspensão em soro fisiológico do induto de proliferação contaminado, de

preferência pela via percutânea, que é seletiva para o germe, e só assim conseguimos a positivação do material.

O emprêgo das vias sub-cutânea e intraperitoneal, em tais casos, resulta geralmente na morte do cobaio ao cabo de 24 a 48 horas, prejudicando definitivamente as possibilidades de êxito. Devemos, finalmente, citar a rapidez com que se ressecam no nordeste os tubos contendo meios sólidos mais usuais na colheita de linfa e sangue. Este fato é de suma importância, sobretudo na época seca, que corresponde mais ou menos ao período no qual a peste grassa nos principais focos da região, abrangendo, de setembro a janeiro, ao todo cinco meses. Já temos tido a oportunidade de ver voltarem ao Laboratório, partidas inteiras de tubos de gelose-sulfito com uma redução de 70 a 90 por cento do volume do meio, por evaporação, após uma curta permanência nos focos. Isto é muito prejudicial para o desenvolvimento da *Pasteurella pestis*, uma vez que esta é semeada na superfície, no caso transformada numa película completamente ressecada.

Tendo em vista afastar algumas das causas que mais influem nos insucessos das provas de isolamento direto, adotamos certas medidas, prosseguindo, entretanto, no estudo de aperfeiçoamentos dos quais trataremos mais adiante. Assim sendo, atualmente o laboratório do Setor Maceió, em comum acôrdo com a chefia do mesmo Setor, vem renovando as partidas de meios de cultura nos Distritos de Assembléia, e Palmeira, por um sistema de distribuição periódica. Os meios remetidos visam proporcionar ao agente da peste bubônica condições eugênicas de crescimento e porisso são testados no Laboratório, procurando satisfazer às seguintes condições: pH, potencial de oxidação-redução, umidade e fatores nutritivos.

Há bastante tempo vimos realizando uma série de experiências, utilizando-nos de fórmulas à base de caldo e enriquecidas com soro e outros fatores proteicos e vitamínicos, que tendem a tornar mais rápido o desenvolvimento da *P. pestis*, sobretudo nos semeios em que seja escasso o número de germes, tal como supomos ocorrer nas hemoculturas de vários casos de peste nesta região. Até agora, pelo menos, as provas a que temos submetido cobaios inoculados experimentalmente, temos tido certo êxito, mesmo em animais nos quais a bacteriemia é pouco pronunciada, dado o inoculum inicial ter sido feito com pequeno número de *Pasteurella pestis*. Também nos temos preocupado com os dispositivos que venham diminuir as possibilidades de contaminação, e acreditamos que a utilização de vênulas contendo os meios acima referidos venha proporcionar aos Laboratórios melhores condições de trabalho, tal como ocorre no diagnóstico da infecção tifoide. Servindo-nos, entretanto, de pequenos tubos com meios de cultura líquidos e hermeticamente fechados com rólhas de borracha, os quais estão muito em moda atualmente na preservação de penicilina e outros medicamentos, conseguimos observar uma considerável diminuição do número de contaminações.

Quanto ao diagnóstico dos casos investigados tardiamente, isto é, pouco antes ou durante a convalescença, quando já se torna mais difícil ou mesmo impossível o isolamento bacteriológico, até agora, temos feito sistematicamente a aglutinação. Embora esta seja uma reação com a qual não se obtenham freqüentemente resultados positivos com títulos elevados, na infecção pestosa, empregando-se um antígeno estável em relação aos eletrolitos (NaCl), revelou-se, em nossas mãos, recurso de certa valia, sobretudo nos casos em que o tempo de infecção foi suficiente para o aparecimento de aglutininas. Apresentamos a seguir um quadro demonstrativo da influência do tempo de infecção nos resultados das sôro-aglutinações :

DIAS DE INFECCÃO	Nº TOTAL DE REAÇÕES	Nº. DE REAÇÕES POSITIVAS	PERCENTUAL DE POSITIVIDADE
1 a 5.....	9	2	22.2%
6 a 10.....	7	6	85.7%
11 a 15.....	4	4	100.0%
16 a 20.....	1	1	100.0%

A reação de fixação de complemento de Bordet e Gengou, que já temos executado em alguns casos, tem mostrado resultados variáveis. É apontada, entretanto, pela maioria dos estudiosos no assunto, como a reação mais específica e sensível, única de real valor no diagnóstico retrospectivo nos doentes restabelecidos. Possui, entretanto, dificuldades de ordem técnica e material, que fizeram com que a mesma não tivesse a divulgação das demais provas e reações. Tais são a obtenção de um antígeno homogêneo e estável, as dosagens auxiliares e finalmente o tempo necessário para sua execução.

De todos os recursos de que o Laboratório dispõe para a elucidação diagnóstica — a prova biológica ou inoculação dos materiais em animal sensível, mostrou-se por diversas razões como o mais elucidativo e prático. Acresce a circunstância de poder ser executada *in loco*, sem que venham influenciar bactérias contaminantes do ar. Mesmo em se tratando de suco bubonático, oriundo de bubão secundariamente infectado com cocos piogênicos, quase sempre apenas a *P. pestis* penetra na circulação (*) (fase bacteriêmica inicial) e se localiza posteriormente nas vísceras, devido ao seu grande poder de invasão, enquanto que os outros germes permanecem no ponto de inoculação, restringindo a sua atividade patogênica aos tecidos vizinhos, não deixando porém de modificar a evolução da infecção.

(*) Isso ocorre com amostras virulentas. Em caso contrário, a atividade patogênica do germe restringe-se ao local da inoculação.

Assim é que de cinco cobaios inoculados pela via sub-cutânea com linfa de bubão de doentes com mais de 10 dias de infecção, em alguns dos quais pode ser observada pela bacterioscopia a coexistência de coccus piogênicos, três foram positivados por isolamento e identificação da *Pasteurella pestis*.

Mais sugestivos, são, neste particular, os resultados das inoculações com sangue venoso (5 cc.), colhido de casos agudos e inoculados pela via intra-peritoneal, de acôrdo com a técnica estudada e preconizada por Marcelo Silva. Por esta técnica, dada a pureza do material em relação a *P. pestis*, apenas excepcionalmente foram estorvados os resultados finais por contaminações.

A prática de inoculação «in loco» é um modo de preservar e enriquecer os materiais inoculados. Este processo goza das vantagens de ser facilmente executado, bastar-se com um mínimo de material, e, como já frizamos, poder ser feito em qualquer ambiente. Uma vez trazido ao laboratório, constitui, em grande número de casos, um valioso repositório de informes, a ser observado e estudado, agora nas melhores condições materiais e técnicas de que dispõem, geralmente, os Laboratórios.

Aponta-se, por vèzes, o retardamento do diagnóstico final dêsse tipo de pesquisas, o que de fato acontece, às vèzes, como um grave inconveniente. Se, porém, na elucidação diagnóstica pelo laboratório, de um caso de peste, as provas culturais resultarem positivas já se tem o necessário para a epidemiologia e as práticas que desta resultam.

Se um caso fôr negativado, no entanto, pelas provas culturais de linfa e sangue, e se os cobaios inoculados permanecerem vivos os 15 dias regulamentares de sobrevida, há ainda a possibilidade de positivar-se o caso, embora com demora.

Nos nossos estudos, tivemos a oportunidade de positivar 10 casos, baseando-nos unicamente nas provas biológicas, enquanto que por provas culturais, apenas 3 casos foram positivados; e, mesmo assim, dêstes 3 casos, 2 deram sôro-aglutinações positivas.

Para melhor evidenciar as vantagens da realização sistemática de provas biológicas, no curso das epidemias de 1947 e 1948, daremos abaixo um quadro comparativo do comportamento das provas biológicas vis-a-vis as provas culturais :

Número de casos das duas epidemias	44
Número de casos examinados no Laboratório	37
Número de casos examinados por provas biológicas :	
Total	33
Positivos	20
%	60.6%

Número de casos examinados por provas culturais :

Total	23
Positivos	7
%	30.4%

Nos casos em que o diagnóstico de Laboratório foi retardado por motivo das provas biológicas, tivemos a oportunidade de lançar mão de um recurso auxiliar valioso, o qual consiste na prática de punções cardíaca, hepática e ganglionar dos animais inoculados. A «punção de prova», feita com agulha e seringa apropriadas, e obedecendo aos pontos de reparo, resultantes do conhecimento da anatomia do animal, serviram, em alguns casos, para esclarecer, com antecipação, o diagnóstico em relação ao que seria estabelecido somente após o êxito letal ou sacrifício. A punção de prova do peritônio, descrita por Gottschlich, foi indicada por Marcelo Silva para os cobaios inoculados com sangue venoso pela via intra-peritoneal.

Como a sua prática é indicada nos seis primeiros dias que se seguem à inoculação, torna-se fácil compreender que surpreenda o germe em processos ativíssimos de multiplicação característicos da fase bacteriêmica e de localização visceral, o que proporciona maiores possibilidades de êxito. É porisso também que a positividade das punções decresce à medida que o animal vence o tempo de infecção.

O que devemos salientar, porém, é o fato de haveremos positivado cobaios com 4 dias de inoculados e que, resistindo ao processo infeccioso, foram depois sacrificados com 15 dias não sendo mais possível o isolamento, embora à necropsia revelassem quadros típicos de peste crônica com microabcessos característicos no baço e no fígado, estando estes órgãos grandemente hipertrofiados.

Obtivemos observações análogas em cobaios que receberam inoculum paucibacilar, o que vem mostrar o interesse da «punção de prova» no estudo da evolução da infecção pestosa experimental, em função do número de germes, via de inoculação, tempo de infecção, etc. Uma das questões ainda muito discutidas nos trabalhos de laboratório em peste, é a que se refere à escolha do animal sensível. Em nossas experiências utilizamo-nos unicamente do cobaio, o que, porém, não significa qualquer preferência nossa, neste particular. Lamentamos não dispor de ratos brancos e camondongos a fim de podermos melhor documentar o estudo comparativo da virulência das amostras regionais, conforme nosso desejo. Quanto ao grau de sensibilidade do cobaio em relação à infecção pestosa, é considerável, consoante nossas observações e as de inúmeros autores. Não conseguimos confirmar a hipótese de haver uma certa imunidade ou resistência por parte dos cobaios da região do nordeste, baseando-nos em dados experimentais irrefutáveis.

Assim é que cobaios da região nordestina, sendo por nós submetidos a inoculações com amostras de *Pasteurella pestis* de virulência

diversa, revelaram quadros em tudo idênticos aos que apresentam os cobaios de outras regiões.

Quanto à pesquisa de anticorpos específicos, jamais, em nossas mãos, forneceu provas em favor da existência de fatores imunitários, o que deduzimos do estudo de um bom número de exames executados : índice opsônico-específico, reação de aglutinação, reação de precipitação, etc. Dêste modo, estamos propensos a admitir que a grande frequência de sobrevida longa em cobaios infectados, e a cura de alguns dêles, prenda-se mais facilmente ao pequeno número de germes no inoculum e à diminuição de virulência do que a uma manifestação de imunidade.

Usando o cobaio como animal de experimentação, procuramos evitar tanto quanto possível a utilização de exemplares jovens e fêmeas em adiantado estado de gestação. Para isso estabelecemos um critério de escolha baseado no pêso do animal, e só realizamos inoculações em cobaios cujo pêso oscilasse entre 250 e 350 gramas. Para os cobaios recém-vindos dos criatórios particulares do Interior do Estado, submetemo-los sempre a um prazo de 20 a 30 dias de observação antes de praticar as inoculações, mesmo porque só assim estaríamos mais seguros das condições de sanidade, particularmente quanto a moléstias infecciosas que grassam entre os roedores.

Seguindo estas normas, de tão simples observância, raramente houve insucesso nas numerosas inoculações que executamos ou que tivemos a oportunidade de acompanhar.

Daremos abaixo os quadros discriminativos das regras gerais referentes à quantidade do inoculum e via de inoculação usados para cada material.

IRMATEIAS HUMANAS	Sangue venoso	Suco bubonático	Medula óssea	
	Volume do inoculum	5 cc.	0.5 a 1 cc.	0.5 a 1 cc.
Via de inoculação	Intra-peritoneal	Sub-cutânea	Sub-cutânea	
MATERIAIS MURINOS	Visceras : (F. B. G.) Frescas	Decomp.	Medula óssea Fresca	Decomp.
	Volume do inoculum	0.5 a 1 cc.	Q. S.	0.5 a 1 cc.
Via de inoculação	Sub-cutânea	Percutânea	Sub-cutânea	Percutânea

As indicações acima foram geralmente obedecidas, salvo em raras exceções, quando não foi possível seguirem-se rigorosamente as prescrições. Assim é que realizamos algumas inoculações percutâneas com linfa bubonática contaminada por piococos, e com medula óssea proveniente de digitotomias de cadáveres exumados, i. e., em franca decomposição. Após a inoculação, os animais foram mantidos em latas

teladas, higienizadas cada dois dias e com substituição da ração duas vezes ao dia. Os animais assim mantidos eram observados três vezes ao dia e quando apresentavam sinais preagônicos eram sacrificados a fim de facilitar os trabalhos bacteriológicos, uma vez que logo após a morte espontânea os roedores, no nosso clima, entram em rápida decomposição.

O período máximo de sobrevida preestabelecido em nossas pesquisas, foi de 15 dias, e todos os que resistiram a esse prazo foram sacrificados, e, uma vez necropsiados, forneceram os materiais necessários para os exames de controle a serem realizados posteriormente. A obtenção de esfregaços para colorações, culturas de sangue, de coração, fígado, baço e gânglio, bem como a colheita de fragmentos dessas mesmas vísceras, para reações de Ascoli dos animais necropsiados, é de grande valor no controle geral das pesquisas. Verificamos, outrossim, haver o máximo interesse em se considerar como suspeito, se bem que a título precário, todo animal que apresentasse sinais ou lesões inflamatórias, mesmo que fôsem em grau mínimo, i. e., quase imperceptíveis.

Dessa maneira, torna-se implicitamente obrigatória a investigação por todos os meios de diagnóstico que a técnica oferece à causa ou às causas determinantes do quadro mórbido. É, como facilmente se deduz, uma orientação tanto mais salutar, quanto se mostra divergente da conceituação dos chamados quadros patognomônicos, tão em moda nos primórdios da medicina anátomo-clínica de Lænnec, mas que, tanto em peste, como em brucelose ou tuberculose, assim como em outros processos infecciosos, não tem nenhuma significação. Essas moléstias, dada a variação extraordinária da incidência, sede, e intensidade das lesões, bem como o modo natural de evoluir, tão mutável, possuem aspectos proteiformes somente compreensíveis à luz dos conhecimentos condicionalistas da patologia hodierna.

No que diz respeito às necropsias, foram executadas visando dois fins principais: fiel descrição do quadro anatomo-patológico e sementeiras isentas de contaminações secundárias. Para isso procuramos proceder obedecendo o seguinte esquema necroscópico:

A) — Abertura da pele e exposição das principais rês ganglionares (inguinais, axilares, cervicais), por meio de uma incisão mento-pubiana seguida de quatro outras laterais. Registro dos sinais observados, sementeira da serosidade ganglionar, obtenção de esfregaços e colheita de fragmentos para reação de Ascoli e exame histopatológico.

B) — Abertura da cavidade abdominal por incisão da parede abdominal e peritônio. Registro dos sinais peritoneais e das vísceras abdominais, particularmente do fígado, baço, suprarrenais. Obtenção de esfregaços e sementeira com serosidade colhida de cada víscera. Colheita de fragmentos para reação de Ascoli e exame histopatológico.

C) — Abertura da cavidade torácica por meio da resseção de plastron externo-costal. Registro dos sinais pleuro-pericardicos e cárdio-pulmonares. Punção cardíaca asséptica com pipeta de Whright e sementeira de dois tubos de caldo.

Ao mesmo tempo em que procedíamos à necropsia, indicávamos ao auxiliar tôdas as modificações anatômicas que apresentavam interesse na alucidação diagnóstica para registro, sob a forma de laudo. A fim de proporcionar maior facilidade na interpretação posterior, julgamos útil sistematizá-las em quatro tipos suspeitos fundamentais.

Assim, classificamos como suspeitos de peste aguda e sub-aguda, os animais que, morrendo em prazo relativamente curto, apresentavam, em grau variável, uma predominância dos sinais resultantes de modificações circulatórias, tais como: congestão, hemorragia, edema gelatinoso, hipertrofia e friabilidade das vísceras parenquimatosas. Quanto aos cobaios cuja sobrevida foi maior, e nos quais estavam ausentes, ou quase imperceptíveis os sinais acima descritos, apresentando, porém, pronunciadas lesões dos tipos necrótico, degenerativo e hiperplásico (necrose, caseose, tumefação turva, degeneração gordurosa, periviscerite e aderências), classificamos, de acôrdo com a intensidade, em crônica e residual.

Naturalmente, esta sistematização não tem caráter absoluto, uma vez que está subordinada a critérios artificiais, e muito depender do grau de aprendizado do técnico que os classifica. Além disso, muito difícil se torna por vezes, a classificação, quer por infecções super-acrescidas, quer por modificações cadavéricas.

Daremos a seguir a descrição detalhada dos principais tipos de lesões, de acôrdo com a localização visceral, mais comumente encontrados nos cobaios, dos quais foi possível isolar-se e identificar-se a *P. pestis*.

Pele: Congestão
Hemorragia
Edema
Escara
Abscessos: necrótico, caseótico, etc.

Tecido celular sub-cutâneo: Congestão
Hiperplasia
Hemorragia: pontilhado e placas
Edemas e infiltrações de exudatos: gelatinoso, seroso, sero-sanguinolento
Abscessos: necrótico, caseótico, etc.
Escara
Aderências.

Sistema linfático-ganglionar : Hipertrofia.
Congestão.
Hemorragia : pontilhado, capsular e parenquimato-
sa ; generalizada
Periadenite : gelatinosa, conjuntiva, etc.
Necrose.
Caseose.
Aderência.

Peritônio : Hipertrofia ou espessamento.
Congestão.
Derrame : seroso, sero-hemorrágico, e sero-fibrinoso.
Modificações do folheto visceral : asperezas, perda de brilho, falsas
membranas e senéquias.
Necrose : pontilhado e placas.

Fígado : Hipertrofia.
Friabilidade.
Congestão.
Hemorragia : pontilhado, focos, placas.
Necrose : microabcessos necróticos branco-amarelados, fino pontilhado
cinzento apenas perceptível, placas e zonas necróticas
Tumefação turva.
Degeneração grânulo-gordurosa.
Periepatite : serofibrinosa, conjuntiva, etc.

Baço : Hipertrofia.
Hipertrofia dos corpúsculos linfoides de Malpighi.
Friabilidade.
Congestão.
Hemorragia : pontilhado, focos e placas.
Necrose : microabcessos necróticos branco-amarelados, fino pontilhado
cinzento apenas perceptível, placas e zonas necróticas.
Tumefação turva.
Periesplenite : sero-fibrinosa, conjuntiva, etc.
Aderência.

Suprarrenais : Hipertrofia.
Congestão.
Hemorragia : pontilhado e placas.

Estômago : Congestão.
Diminuição da capacidade.
Perigastrite.

Intestinos : Congestão.
Diminuição da capacidade.

Pulmões : Congestão : simples e hepatização.
Hemorragia : pontilhado, focos e zonas.
Necrose : microabcessos, placas e zonas.
Caseose : focos, abcessos, e pequenas áreas vermelhas de centro
caseificado amarelo claro.

Pléuras : Congestão.
Hemorragia : pontilhado.
Derrame : seroso, sero-hemorrágico, sero-fibrinoso.
Aderências : senéquia ou brida.

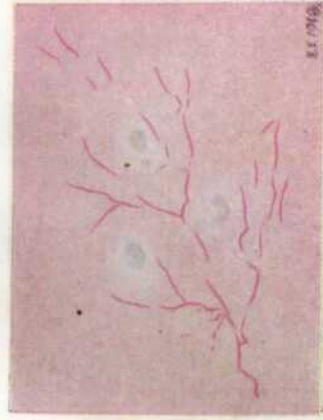
Coração : Congestão.
Dilatação.
Tumefação turva.

Pericárdio : Congestão.
Hemorragia : pontilhado.
Derrame : seroso, sero-hemorrágico e sero-fibrinoso.
Aderências.

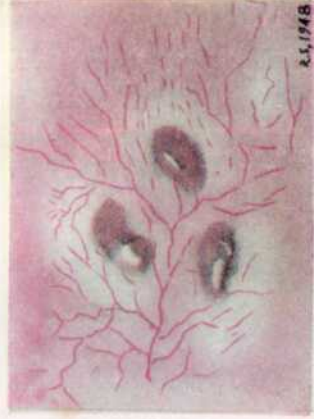
Medula óssea : Congestão.
Hemorragia.

Indubitavelmente, a observação sistemática das alterações patoló-
gicas evidenciadas pela necrópsia, constitui precioso critério na orien-
tação dos trabalhos bacteriológicos e na diagnose diferencial com pro-
cessos infecciosos outros. Para isso, entretanto, não basta unicamente
o conhecimento das principais lesões de que são sede, habitualmente,
cobaios inoculados com amostras virulentas, ou que receberam doses
elevadas de *Pasteurella pestis*.

Não constitui raridade para os que trabalham com materiais
provenientes dos focos do nordeste brasileiro, o aparecimento de quadros
anátomo-patológicos com discretos e escassos sinais, os quais constituem
a única suspeita, e que, no entanto, são positivados pelas provas de
Laboratório complementares.



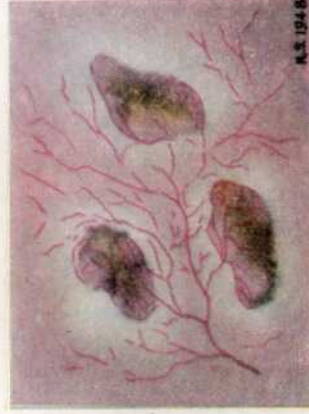
1 — Gânglios normais.



3 — Hipertrofia e congestão acentuadas dos gânglios, e peri-adenite gelatinosa.



2 — Hipertrofia e congestão moderadas dos gânglios, e peri-adenite gelatinosa.



4 — Gânglios com intensa hipertrofia e congestão e focos hemorrágicos antigos.

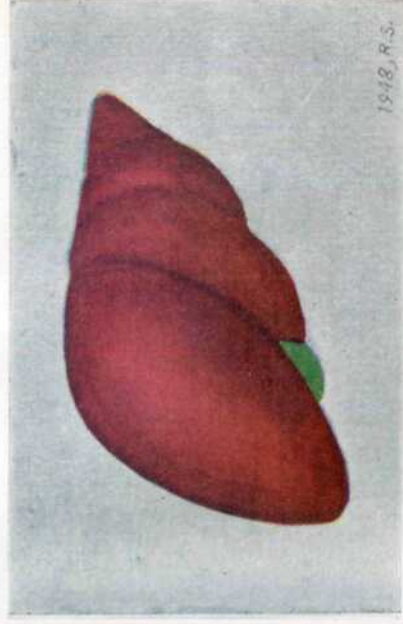


5 — Gânglios com intensa hipertrofia e caseose.

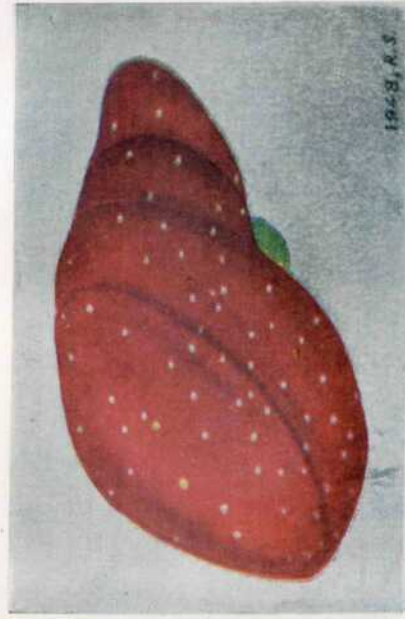
Diferentes aspectos macroscópicos de gânglios de cobaias pestosos observados no Laboratório, durante as epidemias de 1947 e 1948.



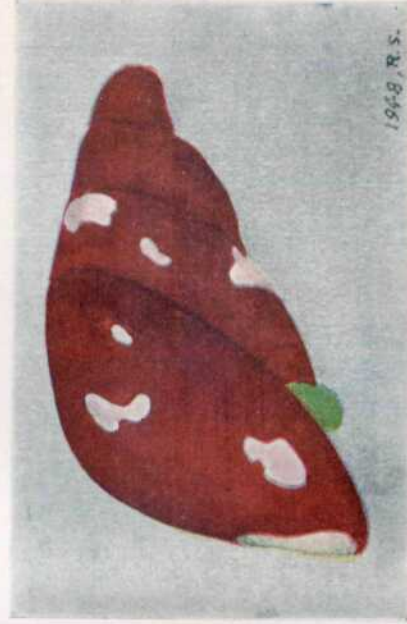
1 — Fígado normal.



2 — Congestão e hipertrofia.

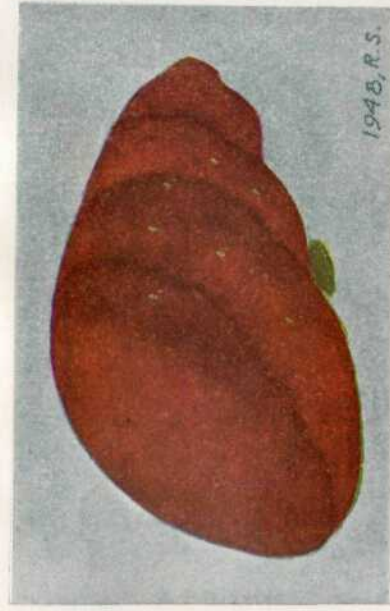
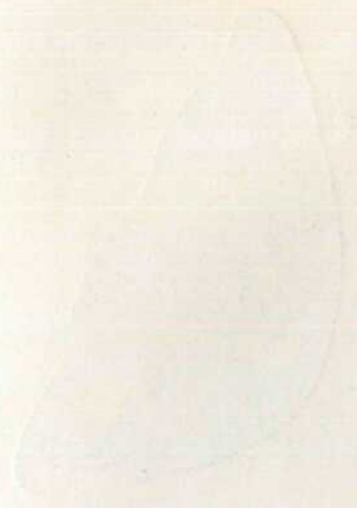
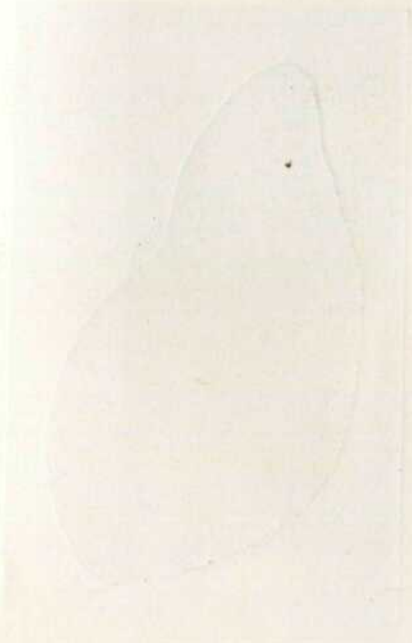


3 — Microabscessos necróticos.

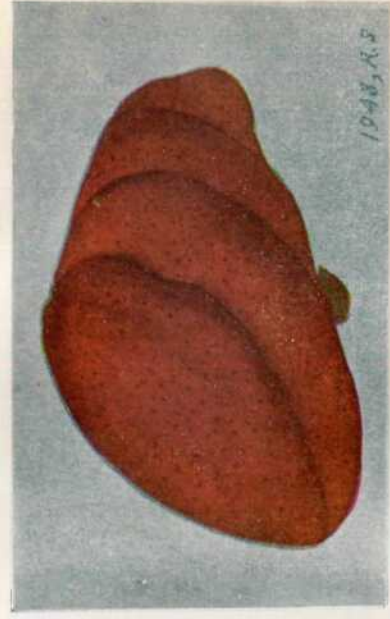


4 — Placas necróticas.

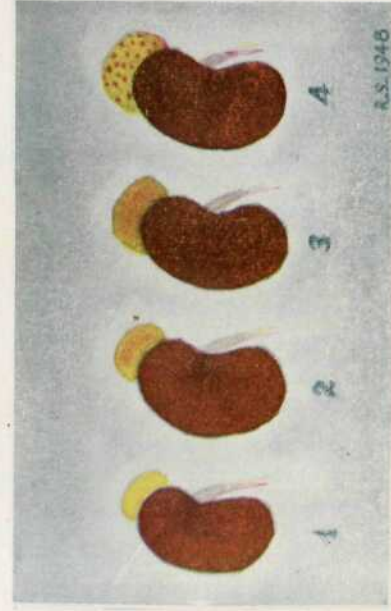
Diferentes aspectos macroscópicos de fígados de cobaias pestosos observados no Laboratório durante as epidemias de 1947 e 1948.



5 — Fino pontilhado cinzento.



6 — Pontilhado hemorrágico.



7 — Suprarrenal --- legenda ao lado

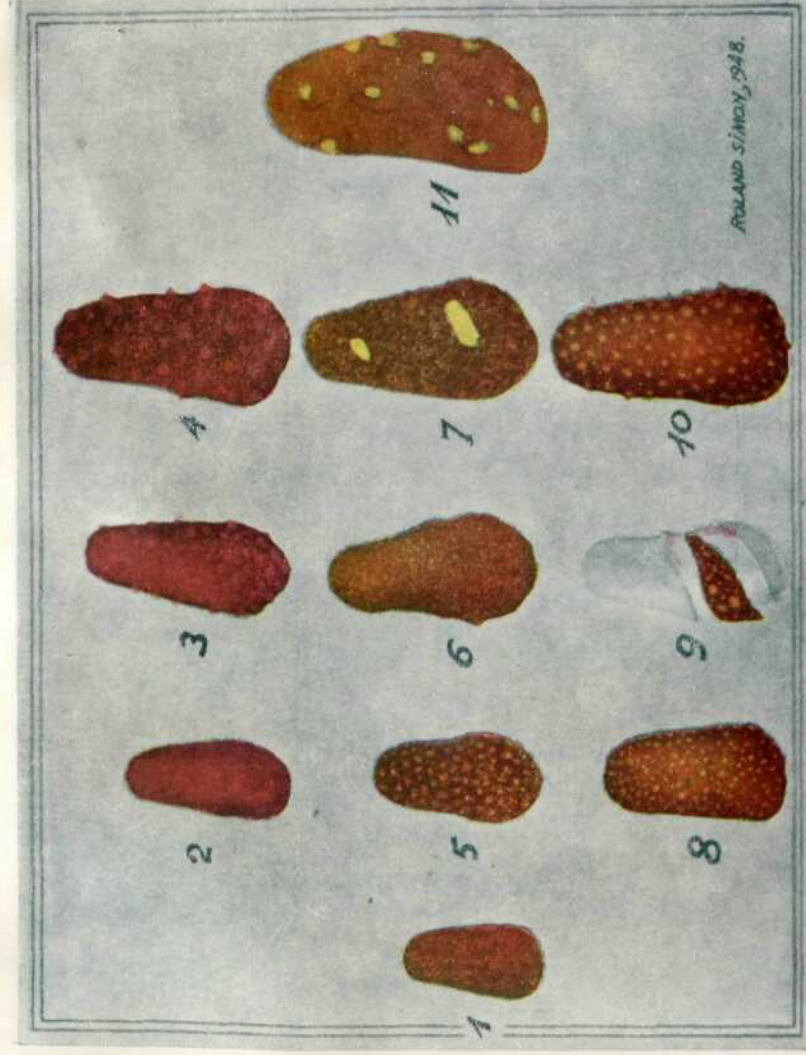
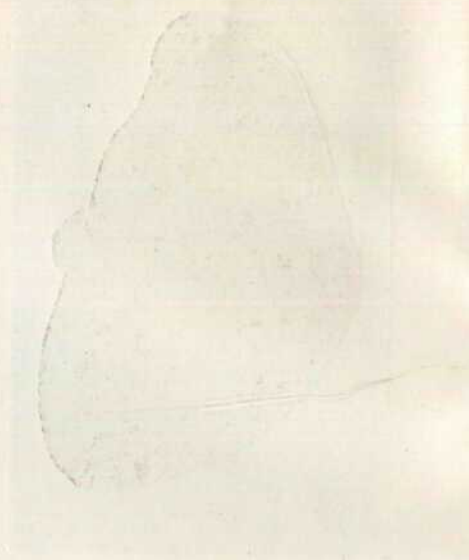
1 — Suprarrenal normal.

2 — Suprarrenal pouco congesta, e hipertrofiada.

3 — Suprarrenal muito congesta, e hipertrofiada.

4 — Pontilhado hemorrágico, e grande hipertrofia.

Diferentes aspectos macroscópicos de suprarenais de cobaias pestosos observados no Laboratorio durante as epidemias de 1947 e 1948.



ROLAND SIMON, 1948.

- 1 — Baço normal.
- 2 — Congestão moderada.
- 3 e 4 — Intensa congestão e hipertrofia do órgão e dos corpúsculos de Malpighi. Friabilidade.
- 5 e 6 — Diferentes aspectos de pontilhado necrótico.
- 7 — Pontilhado hemorrágico e placas necróticas.
- 8 — Pequenos microabscessos necróticos.
- 9 — Periesplenite.
- 10 — Microabscessos médios
- 11 — Microabscessos grandes

Diferentes aspectos macroscópicos de baços de cobaias pestosos observadas no Laboratório durante as epidemias de 1947 e 1948.

II PARTE

Já tivemos a oportunidade de abordar, na primeira parte desta monografia, o valor das provas de inoculação no diagnóstico de laboratório na infecção pestosa. Como no curso dos trabalhos executados durante os surtos epidêmicos e epizooticos de 1947-1948 tivemos o ensejo de estudar 109 cobaios (*) através de minuciosas necropsias, bacterioscopias, culturas e reações serológicas, julgamos de interesse descrever, de um modo analítico o conjunto de observações que poderiam vir a esclarecer pontos obscuros da biologia das amostras de *P. pestis* da região nordestina. Pela sua grande sensibilidade vis-a-vis a infecção pestosa, o cobaio é considerado um precioso critério no julgamento da virulência da *P. pestis*, dada a uniformidade do seu comportamento nas diversas conjunturas experimentais a que este animal pode ser submetido.

Assim, teremos a oportunidade de expor, por meio de quadros e tabelas, devidamente comentados, fatos originais relativos à sobrevida, formas de peste, etc., os quais vêm sugerir novas hipóteses no terreno da epidemiologia.

Antes, porém de tratarmos do assunto supracitado, queremos dar alguns esclarecimentos para a perfeita compreensão dos quadros e tabelas.

Devemos frizar, de imediato, o critério por nós adotado no que diz respeito aos materiais murinos inoculados. Sendo enviados de cada foco, fêmures, figados e baços de numerosos ratos domésticos suspeitos, procuramos, tanto quanto possível, limitar o número de materiais inoculados em cada cobaio, aos provenientes de um mesmo sítio, e quando dispúnhamos de cobaios em número suficiente, no biotério, realizamos as inoculações com materiais de ratos capturados em uma só casa, visando localizar mais acuradamente a epizootia.

Citemos alguns exemplos :

Ficha SNP-2 — Material 57 (1947) — referente ao cobaio nº 171 inoculado com medula óssea de *Rattus rattus frugivorus* capturados no prédio 52 da Fazenda Lunga, no município de Quebrangulo. Resultado dos exames de laboratório : Positivo.

Ficha SNP-2 — Material 81 (1948) — referente ao cobaio nº 69 inoculado com vísceras e medula óssea de *Rattus rattus frugivorus* e

(*) Dêstes, 53 foram inoculados com materiais humanos, 44 com materiais murinos, e os restantes com materiais de outras procedências diversas.

Rattus alexandrinus, capturados nos prédios ns, 15, 33-A, 57-A, 62, 79 e 80 do Sítio Massapé. Resultado dos exames de laboratório: Positivo.

Com o material 57 localizamos a epizootia ao prédio 52 da Fazenda Lunga, enquanto que ficou menos preciso com o material 81, pois o resultado deste último abrange um grande número de casas.

Passemos agora a analisar as características de comportamento das provas biológicas:

a) *Tempo de sobrevida dos cobaios positivados:*

É noção clássica de patologia das doenças infecciosas, o tempo de sobrevida depender da resistência (R) na razão direta, e da virulência do agente (V) na razão inversa, conforme a equação que se segue:

$$T = f\left(\frac{1}{V} \times R\right) \text{ ou } T = f\left(\frac{R}{V}\right)$$

Assim sendo, consideramos como observação de certo interesse o fato de haveremos positivado 26 cobaios dos 75 sacrificados ao cabo do período regulamentar de 15 dias.

SOBREVIDA	NÚMERO	POSITIVIDADE GLOBAL	POSITIVIDADE BACTERIOLOGICA	POSITIVIDADE COMPLEMENTAR (*)
15 dias sacrif.....	75	26	12	14
Morte expont.....	34	21	17	4

(*) Consideramos positividade complementar os resultados das provas necroscópicas, bacterioscópicas e serológicas, excetuando-se, porém, as relativas ao isolamento e identificação de amostras.

Acresce a circunstância de diversos destes apresentarem quadros pestosos de formas crônicas e residuais, tendentes à cura, sendo grande número das inoculações efetuado pelas vias sub-cutânea e intra-peritoneal.

Pela tabela que se segue, referente aos períodos de sobrevida dos cobaios mortos espontaneamente e positivados, depreendemos que houve certo percentual de cobaios com sobrevida mais longa do que a habitualmente encontrada em pesquisas dessa natureza:

Diagnóstico:

PB PB PC PC PB PB PB PB PB PB PC PB PB PB PB PB PB PB PB PC PB PB (*)

Sobrevida:

12 12 12 12 9 9 8 8 8 7 7 5 4 4 3 3 3 3 3 2 2

(*) PC = Provas complementares
PB = Provas bacteriológicas

Finalmente, queremos apresentar um quadro pelo qual se percebe facilmente que a maior incidência de formas agudas ocorre nos cobaios mortos nos cinco primeiros dias após a inoculação, enquanto, à medida que a sobrevida se prolonga, tornam-se mais comuns as formas sub-agudas, crônicas e oligosintomáticas:

DIAS DE INFEÇÃO	PESTE AGUDA	PESTE SUB-AGUDA	PESTE CRÔNICA	PESTE RESIDUAL	AUFÊNCIA DE SINAIS
1 a 5.....	10	2	0	0	3
6 a 10.....	7	4	0	0	0
11 a 15.....	4	11	14	17	37

b) *Formas anátomo-patológicas:*

O registro minucioso dos sinais suspeitos assinalados pela necrópsia dos cobaios inoculados, serviu de base bastante segura, tanto na orientação para o bom êxito das culturas, como na interpretação final ou diagnóstico.

Como grande número dos referidos animais teve sobrevida longa, as principais características anátomo-patológicas foram demonstrativas da existência de forte percentagem de formas de peste de evolução benigna, com nitida tendência à cura. Tratava-se de necrópsias reveladoras de processos caracterizados por fenômenos congestivos e hemorrágicos quase inexistentes, a par de hipertrofias médias ou grandes dos gânglios, atingindo um ou mais grupos ganglionares, com ou sem caseose, aderentes aos planos profundos e superficiais por peri-adenite fibro-conjuntiva; mostrando o fígado ou o baço, ou ambos, mais vezes, lesões necróticas, cujo número, tamanho, nitidez e situação (*), mereceram de nossa parte cuidadosa classificação.

Havendo alguns casos, rotulados por nós como de peste experimental oligosintomática, cuja única suspeita consistia de sinais ganglionares exclusivos e outros, embora mais raros, cujas necrópsias revelaram somente poucos pontos ou placas necróticas, às vezes de limites imprecisos, não foi essa uma tarefa despida de dificuldades.

(*) Sub-capsular, superficial e profunda, visíveis na superfície do corte.

Segue-se um quadro demonstrando a freqüência dos achados anátomo-patológicos em 53 cobaios inoculados com materiais humanos, em relação à espécie do material e via de inoculação :

Nº. DE COBAIOS	ESPÉCIE DE MATERIAL	VIA DE INOCUL. (j)	PESTE AGUDA	PESTE SUB-AGUDA	PESTE CRÔNICA	PESTE RESIDUAL	NEGATIVO
27.....	Sangue venoso	I.P.	8 29,6%	5 18,5%	4 14,8%	4 14,8%	6 22,2%
20.....	Suco bubonático	SC	4 20,0%	4 20,0%	3 15,0%	4 20,0%	5 25,0%
5.....	Medula óssea	S.C.	0 —	1 20,0%	1 20,0%	2 40,0%	1 20,0%
1.....	Medula óssea	P.C.	0 —	0 —	0 —	1 100	0 —
53.....	TOTAL	—	12	10	8	11	12

(j) I.P. = Intra-peritoneal
S.C. = Sub-cutânea
P.C. = Per-cutânea

c) *Bacterioscopias dos esfregaços :*

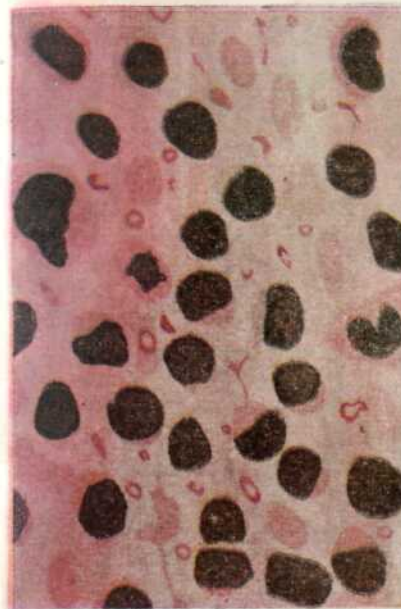
Visando salientar a importância das bacterioscopias no diagnóstico da infecção pestosa experimental, procuramos obter esfregaços delgados, com boa fixação e nítida coloração. Os fixadores por nós utilizados foram o álcool metílico e a mistura de partes iguais de álcool-eter sublimado, preconizada por Uriarte e M. Villazon, por não deformar a morfologia da *P. pestis*. Quanto às colorações, usamos as variantes Gram-Burke e Gram-Nicolle que proporcionaram boa diferenciação do bacilo pestoso, com relação aos elementos celulares, desde que as soluções fossem mantidas em vidros neutros e escuros, e renovadas periódicamente. Em algumas ocasiões, usamos colorações simples, como a Solução de Tionina de Nicolle e o Azul de Toluidina de Sabrazés ou o Azul de Metilene de Loëffler.

Na maioria dos casos de peste aguda, de evolução rápida, com intensos sinais congestivos, hemorrágicos, hipertrofia e friabilidade do baço, fígado e gânglios, derrame peritoneal, a bacterioscopia quase sempre foi muito rica em bastonetes Gram-negativos, curtos, de extremidades arredondadas, com coloração predominante nas extremidades, isto é, bipolares, e outros uniformemente corados, algumas vezes reunidos aos pares (diplobacilos).

Quanto aos exames microscópicos dos casos sub-agudos, crônicos e oligosintomáticos, cuja riqueza em sinais necróticos caracterizou muitas necrópsias, revelaram bacterioscopias pobres, e, em vários casos, com formas semelhantes às observadas nas culturas de *P. pestis* em agar hipercloretado, denominadas «formas de involução». O pleomorfismo desses casos (anulares, piriformes, semi-lunares, etc.), foi acompanhado



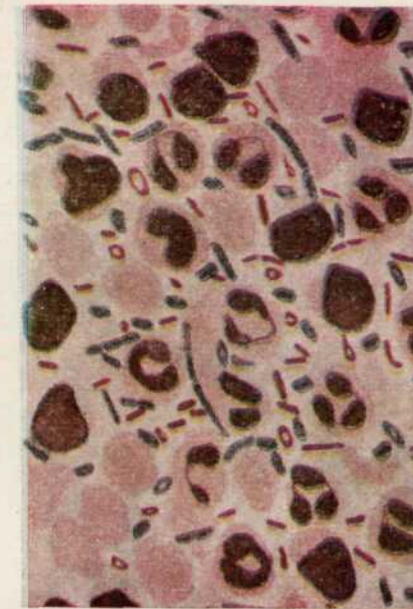
1 — Esfregaço ganglionar. Peste aguda em cobaio.



2 — Esfregaço ganglionar. Peste crônica em cobaio.



3 — Esfregaço de peri-adenite. Peste aguda, em cobaio.



4 — Esfregaço de cobaio pestoso decomposto. (Flora cadavérica).

de alterações de impregnação cromática, mostrando-se algumas mais coradas num dos polos e outras totalmente descoradas e de limites imprecisos.

Damos abaixo um quadro sobre a frequência de exames bacterioscópicos suspeitos em relação aos achados anátomo-patológicos :

N.º DE COBAIOS	ORIGEM DO MATERIAL	PESTE AGUDA	PESTE SUB-AGUDA	PESTE CRÔNICA	PESTE RESIDUAL	NEGATIVO
29/53 54.7%	Humano.....	10/12	8/10	7/8	4/11	0/12
12/44 27.2%	Murino.....	6/8	3/3	3/3	0/4	0/23
3/6 50.0%	Marsupial.....	1/1	1/1	1/1	0/2	0/1
0/4 —	Roedores silvestres	0/0	0/0	0/0	0/0	0/4
1/1 100.0%	Lagomorfo.....	0/0	0/0	1/1	0/0	0/0
1/1 100.0%	Pulfidico.....	0/0	1/0	1/1	0/0	0/0

d) *Isolamento e identificação de amostras :*

Sendo o isolamento em cultura pura um dos principais fins que visa a pesquisa bacteriológica, procuramos cerca-lo, em nossos trabalhos, de condições favoráveis ao crescimento da *P. pestis* nos meios artificiais. Com esta finalidade, realizamos semeios de gânglio, fígado e baço em placas de Petri contendo gelose-sulfito a 0,30% e gelose-sôro ou sangue a 1%, com o pH ajustado para 7.2, bem como sangue de coração em caldo-sôro, sendo todos os meios semeados postos na estufa à temperatura ambiente.

Através do minucioso exame cultural de 109 cobaios inoculados com materiais suspeitos, podemos julgar o valor e a significação das lesões registradas durante a necrópsia. Assim é que não conseguimos positivar nenhum cobaio isento de sinais macroscópicos, apesar do controle sistemático de todos os animais necropsiados, como se pode verificar observando as tabelas sobre o assunto.

N.º DE COBAIOS	PESTE AGUDA	PESTE SUB-AGUDA	PESTE CRÔNICA	PESTE RESIDUAL	AUSÊNCIA DE SINAIS
Total inoculados: 53	12	10	8	11	12
Positivados por provas bacteriológicas e complement: 25	10	7	6	2	0
Positivados por provas bacteriológicas exclusivas: 18	8	5	3	2	0

Quadro comparativo de positividade por provas bacteriológicas e complementares em relação às formas e peste em cobaios inoculados com materiais humanos.

N.º DE COBAIOS	PESTE AGUDA	PESTE SUB-AGUDA	PESTE CRÔNICA	PESTE RESIDUAL	AUS. DE SINAIS
Total inoculados: 44	8	6	3	4	23
Positivados por provas bacteriológicas e complement: 12	6	3	3	0	0
Positivados por provas bacteriológicas exclusivas: 9	6	3	0	0	0

Quadro comparativo da positividade por provas bacteriológicas e complementares em relação às formas de peste em cobaios inoculados com materiais murinos.

É bem verdade que tivemos cobaios com quadros suspeitos de peste, acompanhados de resultados bacterioscópicos muito sugestivos, com reação de Ascoli suspeita ou positiva, e que, no entanto, não conseguimos isolar em cultura pura, quer porque não tenha proliferado o germe, quer por se perder a amostra nas fases do isolamento ou de identificação. Quanto aos cobaios que apresentaram sinais suspeitos de peste aguda e sub-aguda, quando positivos, verificamos, de uma maneira geral, numerosas colônias com caracteres óticos e morfológicos análogos aos de *P. pestis* (*), permitindo facilmente a obtenção de culturas puras.

O mesmo não sucedeu com as culturas dos cobaios que apresentaram as demais formas, os quais, embora submetidos por nós a sementeiras mais extensas e numerosas, apresentaram escassas colônias, quando não se comportaram inteiramente negativos. A esse respeito, queremos mencionar o fato de apenas dois dos 17 cobaios que mostravam quadros lesionais suspeitos de peste residual ou oligosintomática, forneceram culturas viáveis.

O estudo bacteriológico dos achados anátomo-patológicos classificados como suspeitos de peste residual, demonstra que a exigüidade de sinais resulta em alguns cobaios da escassez de germes no inoculum e em outros de alterações de virulência, quer em relação ao poder de invasão (N), quer no que se refere à capacidade tóxica (T), obedecendo a virulência (V) à seguinte equação: $V = N \times T$.

Bem fácil se torna compreender a dificuldade da positividade bacteriológica por semeios, mesmo numerosos e bem conduzidos, se lembrarmos as pesquisas em que Drennan e Teague provaram a quase impossibilidade do desenvolvimento da *P. pestis*, quando escassa e esparsamente semeada na superfície dos meios artificiais.

(*) Pequenas colônias com cêrca de 0.5 a 2.0 mm de diâmetro, arredondadas, brilhantes, transparentes, incolores ou branco-acinzentadas, úmidas, de superfície lisa ou finamente granular, de contorno regular ou levemente eriçado, apresentando o centro saliente e a periferia ou orla achatada.

Dai se deduz que há certa relação entre o aspecto anátomo-patológico e a maior ou menor facilidade de isolamento do germe, razão pela qual, quando o quadro lesional é resultante de um processo mais lento e benigno, procuramos ampliar as sementeiras usando placas separadas para cada víscera, da qual se colhia material de dois ou mais pontos diferentes, ao invés de uma só placa para três vísceras, como é habitual.

Para ilustrar com exemplos o que afirmamos acima, citaremos algumas fichas SNP-2, bastante sugestivas:

Ficha SNP-2 n.º 9, referente ao cobaio n.º 6 — 1948, inoculado pela via intra-peritoneal com sangue venoso de C.I.S., doente suspeito de peste, forma bubônica, com 6 dias de moléstia, residente no prédio n.º 10, do Sítio Goiti II, no município de Limoeiro da Anadia. O animal, sacrificado com 15 dias, apresentou um quadro anátomo-patológico suspeito de peste crônica, tendo no fígado lesões necróticas em via de cicatrização, e derrame peritoneal seroso. Reação de Ascoli positiva. Bacterioscopia suspeita, dada a presença de formas esféricas ôcas, bastonetes dilatados, anulares, etc., Gram-negativos, alguns dos quais fagocitados por leucocitos. O referido material foi considerado positivo apesar de não ter sido possível isolar-se a *P. pestis*, permanecendo estéréis os meios, após seis dias de observação.

Ficha SNP-2 n.º 36, referente ao cobaio n.º 163 — 1947, inoculado pela via intra-peritoneal com sangue venoso de J.E., doente suspeito de peste bubônica com 10 dias de infecção, residente no prédio n.º 52, da Fazenda Lunga, no município de Quebrangulo. O referido cobaio, sendo sacrificado com 15 dias de sobrevida infectada, apresentou quadro lesional suspeito de peste subaguda, com regular congestão e hipertrofia dos gânglios inguinais, fígado e baço, apresentando esta última víscera, pontos necróticos esparsos na superfície. A reação de Ascoli resultou suspeita e a bacterioscopia, particularmente a dos esfregaços de gânglio e baço, revelou a presença de alguns bastonetes bipolares, Gram-negativos, sendo a maioria de formas anulares, bastonetes dilatados, numa das extremidades (piriformes), etc. Das diversas culturas obtidas das vísceras, foi a do baço a única que apresentou, ao cabo de 48 horas, raras e pequeníssimas colônias, que, observadas à lupa, mostraram-se idênticas às de *P. pestis*, embora de menores dimensões. Tais colônias, que morreram nos repiques posteriores, pareceram-nos variantes muito frágeis, inadaptáveis às condições dos meios artificiais usados, sendo, entretanto considerado positivo o material.

Essas duas fichas SNP-2 (ns 9 e 36) são de grande interesse, pois vêm salientar a importância que a origem e a natureza do material inoculado podem ter na interpretação final dos exames. Considerando-se que os referidos cobaios foram inoculados com sangue venoso de casos humanos, dificilmente outro germe poderia determinar os quadros

anátomo-patológicos acima descritos, concomitantemente com achados bacterioscópicos tão característicos, mesmo não se levando em conta as Reações de Ascoli, por julgarmo-las de especificidade relativa.

Contrastando com os fatos acima assinalados, daremos outros exemplos em que os cobaios inoculados com sangue venoso ou suco de bubão de doentes nas fases agudas ou nos primeiros dias de infecção, foram os que forneceram, com raras exceções, quadros anátomo-patológicos mais ricos em sinais, bem como bacterioscopias em que abundavam germes de morfologia e demais caracteres da *P. pestis*, assim como fácil isolamento em cultura pura.

Ficha SNP-2 n.º 53, referente ao cobaio n.º 159 — 1947, inoculado pela via intra-peritoneal com sangue venoso de J.L., doente suspeita de peste bubônica, com 1 a 2 dias de infecção, residente no prédio 53 da Fazenda Lunga, no município de Quebrangulo. O referido cobaio, cuja morte espontânea se verificou 4 dias após a inoculação, apresentou um quadro típico de peste aguda, com muito intensa congestão e hipertrofia dos gânglios inguinais, axilares, e cervicais, os quais estavam envoltos em abundante edema gelatinoso, róseo; tanto o fígado como o baço estavam grandemente congestos e hipertrofiados, com pontos hemorrágicos e os corpúsculos de Malpighi do baço mostravam-se bem salientes; havia também congestão e hipertrofia nas suprarrenais e nos pulmões, assim como derrame peritoneal sero-hemorrágico. A reação de Ascoli resultou positiva, e a bacterioscopia foi positiva em todos os esfregaços, mesmo no de sangue, apresentando os germes sob a forma de bastonetes curtos, cocoides, com coloração bipolar. Quanto às culturas, resultaram positivas para gânglio, fígado, baço e sangue de coração.

Ficha SNP-2 n.º 30, referente ao cobaio n.º 27, 1948, inoculado por via sub-cutânea com suco bubonático de F.E.S., doente suspeito de peste bubônica, com 4 dias de moléstia, residente no prédio n.º 9 do Sítio Porcina do município de Palmeira dos Índios. O referido cobaio, morrendo espontaneamente ao cabo de 5 dias, apresentou um quadro de peste aguda, com intensa congestão e hipertrofia dos gânglios inguinais e axilares, peri-adenite e edema gelatinoso hemorrágico, congestão e hipertrofia do baço e fígado, este último com pontos necróticos muito nítidos; pulmões congestos e com pontos hemorrágicos; peritônio congesto e com derrame seroso, e pericardite sero-fibrinosa. A reação de Ascoli foi fortemente positiva, e a bacterioscopia dos esfregaços evidenciou a presença de bastonetes curtos, cocoides, com coloração bipolar, Gram-negativos. Quanto às culturas, resultaram positivas para gânglio, fígado, baço e sangue de coração.

Não queremos deixar de mencionar o fato de alguns cobaios inoculados com materiais suspeitos, geralmente de origem murina, os quais revelaram à necrópsia quadros lesionais característicos, terem, uma vez estudados bacteriológicamente, evidenciado uma etiologia bacteriana diversa da *P. pestis*, como por exemplo, *Salmonella*, *Eschcrichia*, *Klebsiella*, etc., consoante as noções clássicas.

Ficha SNP-2 n.º 27, referente ao cobaio n.º 25, 1948, inoculado pela via percutânea com macerado de fígados, baços, e medula óssea de 5 *Rattus ratus alexanrinus* e 2 *rattus frugivorus*, capturados nos prédios ns. 1 e 12 do Sítio Goiti II, no município de Limoeiro da Anadia. O referido cobaio, cuja morte espontânea se verificou ao cabo de 7 dias, apresentou quadro suspeito de peste aguda, com pronunciados sinais septicêmico-hemorrágicos. O exame bacteriológico forneceu colônias com caracteres pouco semelhantes aos da *P. pestis*, e que foram posteriormente classificadas como de *Salmonella typhimurium*, por consulta a provas fermentativas e bioquímicas, sendo o cobaio considerado negativo para infecção pestosa.

No que respeita, as contaminações acarretadas pelas modificações cadavéricas precoces, que ocorrem nos cobaios mortos espontaneamente fora dos horários de trabalho, sobretudo no nosso clima, constituem grande obstáculo à obtenção de culturas puras devido à interferência de bactérias móveis, altamente invasoras. Estas se espalham na superfície da placa de Petri, cobrindo-a inteiramente de um véu, tal como acontece com as formas móveis de *Proteus* e outros germes. Daí o grande interesse de se sacrificarem, em momento oportuno, os animais que mostrarem sinais pré-agônicos: inapetência, grande piroxia, eriçamento dos pêlos, marcha cambaleante, e queda em decúbito lateral com contrações dos membros.

Nem sempre as contaminações são inteiramente prejudiciais, uma vez que, no curso das observações das placas de Petri, contendo gelose-sulfito a 0.30%, semeadas com materiais suspeitos, tivemos por vezes o ensejo de comprovar a influência benéfica exercida sobre as colônias de *P. pestis* por algumas contaminantes que se encontravam próximas. Tal fenômeno foi pela primeira vez descrito com o nome de satelitismo por R. Grassberger, em 1897, baseando-se na ação favorável que alguns germes exerciam sobre colônias de *Hemophylus influenzae*. No mesmo ano, Lustig e Galeotti e Markl em 1912, verificaram o fenômeno em culturas de *Pasteurella pestis*. Entre nós, Macchiavello fez interessante e documentado estudo a respeito, abrangendo nos seus experimentos, a ação indiferente, simbiótica ou antibiótica de fungos e de diversos gêneros bacterianos sobre as colônias de *P. pestis*.

Nas nossas observações, tratava-se em geral de colônias redondas de 6 a 10 mm. de diâmetro, tipo liso, opacas, cromogênicas ou não. O exame microscópico de esfregaços revelou bastonetes longos e grossos, Gram-positivos, esporulados, com ou sem cílios peritríquios, i.e., espécies do gênero *Bacillus* Cohn, 1872.

Se tomarmos em consideração que a maioria das espécies do gênero *Bacillus* é heterotrófica com comprovada capacidade oxidante sobre vários compostos orgânicos, reagindo positivamente aos testes da catalase e da oxidase de Gordon e McLeod, é possível que a ação benéfica resulte da modificação da tensão do oxigênio, consoante a opinião de Schütze e Hassanein e outros autores.

Sobre a morfologia das colônias de *P. pestis*, registramos, durante as observações a respeito, diversos tipos que apresentamos a seguir, em desenhos semi-esquemáticos de alguns aspectos originais assinalados. De uma maneira geral, o maior número de colônias obedeceu a um tipo dominante (ver desenhos de 5 a 12), análogo ao tipo rugoso R descrito por Arkwright em 1920, quando estudou o fenômeno da variação das colônias no grupo coli-tífico desintérico. Entretanto, desde os trabalhos de Gotschlich em 1900, descrevendo interessantes variações da morfologia das colônias de *P. pestis*, até o trabalho básico de Hadley em 1927, sobre os fenômenos de dissociação bacteriana, numerosos e heterogêneos tipos de colônias de *P. pestis* foram estudados, não se podendo tirar conclusões definitivas sobre as relações existentes entre tais tipos e modificações correlatas da virulência, propriedades bioquímicas ou serológicas.

O tipo fundamental mais encontradiço em nossas pesquisas, sendo observado à vista desarmada, as primeiras 24-48 horas, mostrou-se constituído por pequenas colônias circulares, pouco salientes, muito transparentes, e brilhantes, assemelhando-se a gotas de orvalho. Observadas, todavia, até o completo desenvolvimento, por meio da lupa ou pelo microscópio entomológico, verificamos que, tanto em relação ao centro, quanto à corôa circular periférica ou orla, havia pequenos desvios morfológicos que passamos a descrever sumariamente:

1 — Centro: Porção circular mais saliente da colônia; hemisférica ou cônica; de contorno regular, nitidamente diferenciada da orla, ou, mais raramente, irregular, e com ela se confundindo; de superfície lisa, fina ou grosseiramente granular, às vezes com rugas ou sulcos pouco profundos, apresentando o epicentro rugoso, acuminado, mamelonado ou crateriforme.

2 — Corôa periférica ou Orla: Porção rasa, transparente, de espessura mínima ou pouco saliente, plana ou de aspecto granular fino, apenas perceptível, ou contendo, além de finos grânulos, outros mais espessos; estreita, medianamente larga ou normal, ou muito larga; confluyente; de contorno regular ou finamente franjado; com ou sem colônias filhas ou secundárias.

Além do tipo R, acima descrito, e suas modalidades, consignamos o aparecimento de colônias isentas de orla, que se mostraram formadas por proliferações circulares, salientes, hemisféricas ou cônicas, de coloração branco-cinza clara, branco-amarelado clara, ou pardacentas e cinza-escuras, de contorno regular ou irregular, de superfície lisa ou finamente granular, raramente com sulcos ou depressões, mostrando-se o epicentro liso, acuminado, mamelonado ou escavado (crateriforme).

Essas variedades de colônias foram por nós assimiladas ao tipo liso S, de Arkwright, e, sendo acompanhadas em repiques posteriores, mostraram colônias S e R, ou exclusivamente R, por uma reversão ao tipo considerado normal.

Considerando-se que o polimorfismo acima descrito foi por nós surpreendido sobretudo em sementeiras provenientes de materiais suspeitos, colhidos em precárias condições (linfas muito contaminadas, cobaios com peste crônica e residual, e, mais comumente, de colônias velhas, disgenéticas, com 6 a 8 dias de incubação à temperatura ambiente), acreditamos, confirmando a opinião da maioria dos autores, tratar-se de variações temporárias, reversíveis, ou flutuações resultantes da influência de condições desfavoráveis ao desenvolvimento da *P. pestis*.

Antes de concluirmos esta explanação sobre os fatos de maior interesse observados na fase de isolamento bacteriológico, em nossos trabalhos, queremos fazer algumas considerações acerca da possibilidade de certo número de colônias de *P. pestis* morrerem precocemente (24 a 72 horas), embora mantidas em meios dotados das condições as mais favoráveis. Vejamos o protocolo de exame que se segue:

Ficha SNP-2 nº 55, referente ao cobaio nº 170 — 1947, inoculado, pela via intra-peritoneal com macerado de 8 pulgas *Xenopsylla cheopis*, colhidas em ninhos, tocas e teto do prédio nº 52 da Fazenda Lunga, no município de Quebrangulo (casa onde houve casos de peste confirmados pelo laboratório). O referido animal, sacrificado com 15 dias, apresentou um quadro lesional suspeito de peste crônica com moderada hipertrofia ganglionar inguinal e peri-adenite conjuntiva; fígado regularmente hipertrofiado e raros pontos necróticos em via de cicatrização no baço. A bacterioscopia revelou raríssimos bastonetes cocoides e formas de involução nos esfragaços de gânglio, fígado e baço, e a reação de Ascoli resultou suspeita por mínima precipitação. O exame cultural consistiu na obtenção de culturas do fígado, baço e gânglio, em três placas de Petri, com gelose-sulfito a 0.30% e de sangue de coração em caldo simples. Ao cabo de 48 horas de incubação, conseguimos registrar no semeio do baço a proliferação de raras colônias com os caracteres gerais das de *P. pestis*, motivo pelo qual fizemos repiques, para a fase intermediária de identificação, que consistiu de passagens das colônias suspeitas para 1 placa de gelose-sulfito, 1 tubo de gelose-sulfito inclinada e um tubo com meio de Russell-Krumwiede (*), e da obtenção de um esfregaço, o qual foi corado pelo Gram. O exame da lâmina revelou a existência de escassas formas bipolares(**) e pequenos grânulos arredondados Gram-negativos, resultado paradoxal, uma vez que o esfregaço foi obtido a partir de uma alça que se pressupõe conter um bilhão de *P. pestis*.

(*) O Professor Mário Ramos, da Faculdade de Medicina do Recife, empregou-o pela primeira vez para a *Pasteurella pestis*, sobretudo como meio de orientação na fase que precede a identificação.

(**) Presumimos, posteriormente, tratar-se de germes mortos, sobre os quais o fago não atua, segundo a opinião de D'Herelle.

Quanto aos repiques permaneceram estéreis, não nos sendo mais possível identificar a amostra. Tentamos isolar o fator determinante da lise, por meio de filtração de um lavado da placa original, não obtendo, porém, sucesso, dada a escassez de material na placa e a grande contaminação secundária por germes do ar, a esse tempo.

Aventamos a hipótese de se tratar de um fenômeno de bacteriofagia, considerando-se os seguintes dados :

1 — As alterações morfológicas das colônias foram semelhantes às descritas por D'Herelle em sua monografia «Le bacteriophage et son comportement» :

2 — A observação do fenômeno verificou-se nas primeiras 72 horas, o que exclui a hipótese de se tratar de uma autólise, fenômeno que ocorre em culturas velhas ;

3 — Os repiques, posteriores ao fenômeno, em meios dotados de condições eugênicas para a P. pestis (*) foram estéreis, provando a inexistência de germes viáveis nas colônias que apresentaram tais alterações ;

4 — A extraordinária pobreza de germes no esfregaço da cultura, opondo-se, paradoxalmente, ao que se observa comumente em bacterioscopias dessa natureza.

A observação de fenômenos de bacteriofagia em culturas de Pasteurella pestis é conhecida de longa data, pela denominação de "suicídio do bacilo pestoso», dada por Haffkine em 1919. D'Herelle, em 1920, isolou bacteriofagos virulentos de fezes de diversos ratos colhidos em Bac Lieu, na Cochinchina, localidade em que acabava de ocorrer uma epidemia de peste, enquanto que em Bombaim, onde reinava, há cerca de 30 anos, uma considerável enzootia, o referido autor só conseguiu isolar bacteriofagos ativos na proporção de 0.3 por 100.

Como o cobaio 170, a que nos referimos foi inoculado com Xenopsylla cheopis, oriunda de uma casa onde se verificaram casos de peste, supomos a possibilidade da existência, naqueles Suctoria, da associação fago-bacteriana a que se referem D'Herelle e outros autores.

Já em 1935 Girard isolou bacteriofago ativo de Xenopsylla cheopis. Sendo o bacteriofago considerado o principal fator de dissociação bacteriana (modificações de virulência, etc.) na Natureza, deve ser tomada em consideração a hipótese de sua possível interferência na epidemiologia da peste.

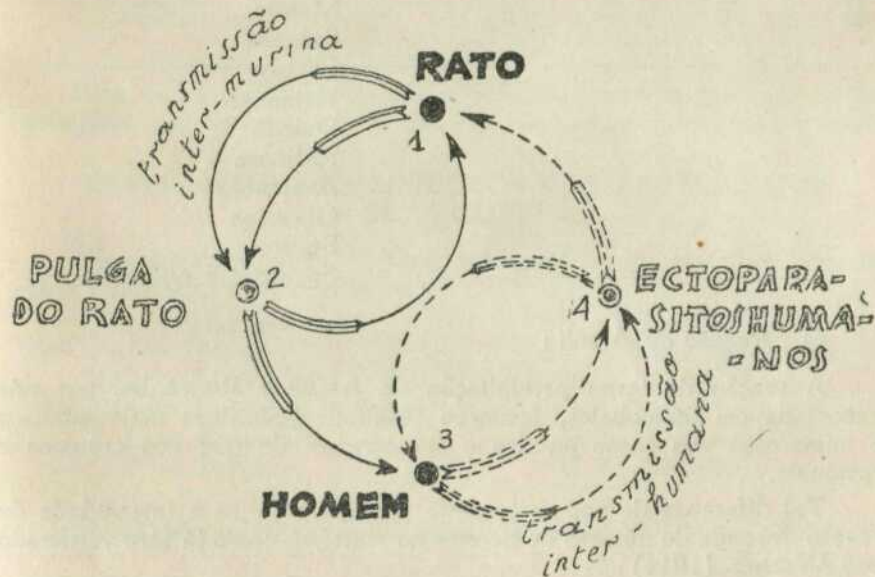
A atenuação da virulência da P. pestis, após longa estadia em pulgas, observada por Bacot e Martin (1914), George e Webster

(*) Todos os meios utilizados são previamente testados com amostras de P. pestis.

(1934), Macchiavello, Hélio Paracampos e Celso Arcoverde (1940), é ainda campo aberto às pesquisas.

A esse respeito, mencionaremos o fato de que a P. pestis, durante o ciclo de transmissão, passa por duas fases absolutamente diferentes. Na primeira, ela entra em contacto com os tecidos de mamíferos, sofrendo a ação dos elementos celulares e humorais (fase Patogênica MURINA (1) e HUMANA (3)). Na outra, o agente da peste bubônica vive na superfície interna da porção anterior do aparelho digestivo da pulga do rato (2), ou de ectoparasitos humanos (4).

Esta fase, facilitando o contacto da P. pestis, com as condições físicas (calor, luminosidade, umidade relativa, raios cósmicos, etc.), químicas (tensão de oxigênio, O₃), e biológicas (fenômenos de antibiose e de bacteriofagia), é, naturalmente, a que maior possibilidade oferece de dissociações, com modificação da virulência, etc. A demonstração dos modos de transmissão da peste bubônica do rato pestoso ao homem susceptível, é expressa no gráfico pela linha cheia 1, 2 e 3, por ser fato comprovado desde 1898 por P. L. Simond.



Quanto à possibilidade da transmissão inter-humana por meio de ectoparasitos do homem e a volta por esse meio aos murinos, são assuntos que vêm sendo estudados com grande intensidade, desde as monografias de Blanc e Balthazard em 1941, baseadas em fatos experimentais, carentes de confirmação, e porisso foram representadas por uma linha pontilhada.



Provas de identificação

Isolada a *P. pestis* em cultura pura, procuramos submetê-la às provas de identificação, partindo de um dos tubos proliferados de gelose inclinada, as quais consistiram do seguinte :

- 1 — Verificação da mobilidade a 22° C.
- 2 — Pesquisa da produção de H₂S.
- 3 — Pesquisa da redução de nitratos a nitritos.
- 4 — Pesquisas da produção de Indol.
- 5 — Reação do Vermelho de Metila.
- 6 — Reação de Voges-Proskauer.
- 7 — Pesquisa de redutase.
- 8 — Pesquisa de catalase.
- 9 — Verificação do aspecto da proliferação no meio de Besson-Uriarte.
- 10 — Verificação das modificações do meio do leite tornesolado.
- 11 — Verificação da proliferação no meio de Mc Conkey.
- 12 — Provas fermentativas dos seguintes açúcares e alcoois:

Glicose
Manita
Salicina
Lactose
Ramnose
Dulcita
Rafinose
Arabinose
Glicerina
Sucrose
Sacarose e outros.

e) *Reação de Ascoli* :

A reação de termo-precipitação de Ascoli e Roncáglio, por nós executada em 66 cobaios, forneceu resultados positivos mais intensos e numerosos nos casos agudos e sub-agudos, do que nos crônicos e residuais.

Tal diferença de comportamento prende-se a que a intensidade da reação depende do número de germes no material, como já fôra verificado por Warner (1914).

Quanto à técnica por nós utilizada, foi a descrita por Piras (1913), procurando obedecer as seguintes normas, quanto ao antígeno e ao anticorpo :

a) Termo-precipitogênio: Trituramos lenta e completamente os fragmentos suspeitos (de preferência os mais ricos em germes, o que verificamos pela bacterioscopia), e maceramo-los com sôro fisiológico a 0,85%; aquecemos o macerado durante 15 minutos, a 80°, preferencial-

mente, a fim de evitar a evaporação excessiva e conseqüente aumento da concentração do eletrolito, fato prejudicial por tornar reação anespecifica; centrifugamos e filtramos até que o termo-precipitogênio ficasse limpo.

b) Sôro-imune: Utilizamos um sôro de reconhecida capacidade precipitante, por teste anterior sôbre antígenos obtidos de infecção pestosa experimental indubitável; clarificamo-lo por filtração lenta.

A reação de Ascoli foi-nos útil nos resultados finais, apesar de ter demonstrado precipitações parciais em alguns poucos cobaios com infecções de etiologia diversa da pestosa, e ter fornecido resultado atípicos em cobaios com peste residual.

Passamos a dar o quadro da freqüência de positividade das Reações de Ascoli em relação às formas anátomo-patológicas :

N. DE COBAIOS	ORIGEM DE MATERIAL	PESTE AGUDA	PESTE SUB-AGUDA	PESTE CRÔNICA	PESTE RESIDUAL	NEGATIVO
11/26	Humano.....	7/9	3/4	1/4	0/3	0/6
8/33	Murino.....	5/7	0/4	3/3	0/3	0/16
2/4	Marsupial.....	0/0	1/1	1/1	0/2	0/0
0/1	Roedores silvestres.....	0/0	0/0	0/0	0/0	0/1
1/1	Lagomorfo.....	0/0	0/0	1/1	0/0	0/0
0/1	Pulidico.....	0/0	0/0	0/1	0/0	0/0

Para concluir, apresentamos a relação completa das 109 provas biológicas, que foram o motivo das explanações contidas neste trabalho.

EXPLICAÇÃO DOS SIMBOLOS DAS TABELAS QUE SE SEGUEM

Na coluna intitulada, "Origem e espécie dos materiais" os simbolos significam, respectivamente:

- | | |
|--------------------------|----------------------|
| H = Humano | SV = Sangue venoso |
| M = Murino | SB = Suco bubonático |
| Ma = Marsupial | MO = Medula óssea |
| RS = Roedores silvestres | B = Baço |
| L = Lagomorfo | F = Fígado |
| P = Pulidico | G = Gânglio |

Na coluna encabeçada pelo titulo "Vias de inoculação", temos:

- IP = Intra-peritoneal
SC = Sub-cutânea
SP = Percutânea

Em bacterioscopia, leia-se :

- | | |
|-----------------------|-----------------|
| F = Fígado | S = suspeito |
| B = Baço | P = positivo |
| G = Gânglio | — = negativo |
| Sg = Sangue | P = prejudicado |
| RA = Reação de Ascoli | D = dispensado |

N.º DA FICHA	ORIGEM E ESPÉCIE DO MATERIAL	VIA DE INOC.	SOBRE-VIDA	ANATOMIA PATOLÓGICA	BACTERIOSCOPIA						ISOLAMENTO BACTERIOLÓGICO E IDENTIFICAÇÃO
					BACTERIOSCOPIA						
					F	B	G	SG	RA	SR	
140	H SE	SC	15	Ausência de sinais.	—	—	—	—	—	—	Aus. de colônias suspeitas — Dispens.
141	H SV	IP	12	Peste residual.	—	—	—	—	—	—	Aus. de colônias suspeitas — Dispens.
144	H SB	SC	15	Ausência de sinais.	—	—	—	—	—	—	Aus. de colônias suspeitas — Dispens.
147	H MO	SC	15	Peste residual.	—	—	—	—	—	—	Aus. de colônias suspeitas — Dispens.
148	H SV	IP	9	Peste aguda, forma hemorrágica e necrótica.	—	—	—	—	—	—	Aus. de colônias suspeitas — Dispens.
149	H SE	SC	15	Peste residual.	S	—	—	—	—	—	Colônias suspeitas — Comport. positivo.
150	M BFGMO	SC	8	Peste aguda, forma septicêmico-hemorrágica e necrótica.	—	—	—	—	—	—	Aus. de colônias suspeitas — Dispens.
151	M BFGMO	SC	5	Ausência de sinais.	S	—	—	—	—	—	Colônias suspeitas — Comport. positivo.
152	M BFGMO	SC	5	Ausência de sinais.	—	—	—	—	—	—	Aus. de colônias suspeitas — Dispens.
153	RS MO	SC	15	Ausência de sinais.	—	—	—	—	—	—	Aus. de colônias suspeitas — Dispens.
157	M _a BFGMO	SC	3	Peste aguda, forma septicêmico-hemorrágica.	—	—	—	—	—	—	Aus. de colônias suspeitas — Dispens.
158	H MO	SC	15	Ausência de sinais.	—	—	—	—	—	—	Colônias suspeitas — Comport. negativo.
158	H SV	IP	4	Peste aguda, forma septicêmico-hemorrágica.	—	—	—	—	—	—	Aus. de colônias suspeitas — Dispens.
160	H SB	SC	15	Peste crônica, forma necrótico-cicatrizial.	—	—	—	—	—	—	Colônias suspeitas — Comport. positivo.
161	H SB	SC	15	Peste crônica, forma necrótica.	—	—	—	—	—	—	Colônias suspeitas — Comport. positivo.
162	H SB	SC	15	Peste sub-aguda, forma necrótica.	—	—	—	—	—	—	Colônias suspeitas — Comport. positivo.
163	H SV	IP	15	Peste sub-aguda, forma necrótica.	—	—	—	—	—	—	Colônias suspeitas — Comport. positivo.
164	H SV	IP	15	Peste sub-aguda, forma necrótica.	—	—	—	—	—	—	Colônias suspeitas — Comport. positivo.
166	H SV	IP	15	Peste sub-aguda, forma necrótica.	—	—	—	—	—	—	Colônias suspeitas — Comport. positivo.
167	H SV	IP	15	Peste sub-aguda, forma necrótica.	—	—	—	—	—	—	Colônias suspeitas — Comport. positivo.
168	H SV	IP	15	Peste sub-aguda, forma exudativa.	—	—	—	—	—	—	Aus. de colônias suspeitas — Dispens.
169	H SV	IP	15	Peste residual.	—	—	—	—	—	—	Colônias suspeitas — Comport. positivo.
170	P	IP	15	Peste crônica, forma necrótica.	—	—	—	—	—	—	Colônias suspeitas — Comport. positivo.
171	M MO	PC	11s	Peste sub-aguda, forma exudativa.	—	—	—	—	—	—	Colônias suspeitas — Comport. positivo.
172	H MO	SC	11s	Peste residual.	—	—	—	—	—	—	Colônias suspeitas — Comport. positivo.
173	M MO	SC	11s	Peste residual.	—	—	—	—	—	—	Colônias suspeitas — Comport. positivo.
174	RS MO	SC	15	Ausência de sinais.	—	—	—	—	—	—	Aus. de colônias suspeitas — Dispens.
175	RS FMO	SC	15	Ausência de sinais.	—	—	—	—	—	—	Aus. de colônias suspeitas — Dispens.
176	H SV	IP	15s	Ausência de sinais.	—	—	—	—	—	—	Aus. de colônias suspeitas — Dispens.
177	H SB	SC	15	Ausência de sinais.	—	—	—	—	—	—	Aus. de colônias suspeitas — Dispens.
178	H SB	SC	7s	Peste sub-aguda, forma exudativa.	—	—	—	—	—	—	Aus. de colônias suspeitas — Dispens.
179	H SV	IP	14	Peste sub-aguda, forma necrótica.	—	—	—	—	—	—	Colônias suspeitas — Comport. positivo.
182	H SV	IP	14	Ausência de sinais.	S	—	—	—	—	—	Aus. de colônias suspeitas — Dispens.
180	M MO	SC	18s	Ausência de sinais.	—	—	—	—	—	—	Aus. de colônias suspeitas — Dispens.

N.º DA FICHA	ORIGEM E ESPÉCIE DO MATERIAL	VIA DE INOC.	SOBRE-VIDA	ANATOMIA PATOLÓGICA	BACTERIOSCOPIA						ISOLAMENTO BACTERIOLÓGICO E IDENTIFICAÇÃO
					BACTERIOSCOPIA						
					F	B	G	SG	RA	SR	
1	M MO	PC	12	Peste sub-aguda, forma exudativa.	S	—	—	—	—	—	Colônias suspeitas — Comport. positivo.
2	M _a BFGMO	PC	15	Ausência de sinais.	—	—	—	—	—	—	Aus. de colônias suspeitas — Dispens.
3	M BFGMO	PC	15	Ausência de sinais.	—	—	—	—	—	—	Aus. de colônias suspeitas — Dispens.
4	M BFGMO	PC	15	Peste residual ou oligosintomática.	—	—	—	—	—	—	Aus. de colônias suspeitas — Dispens.
5	M FB	PC	15	Ausência de sinais.	—	—	—	—	—	—	Aus. de colônias suspeitas — Dispens.
6	H SV	IP	15	Peste crônica, forma necrótico-cicatrizial.	—	—	—	—	—	—	Aus. de colônias suspeitas — Dispens.
7	H SV	IP	15	Peste sub-aguda, forma exudativa.	S	—	—	—	—	—	Colônias suspeitas ausentes — Dispens.
8	M MO	PC	15	Ausência de sinais.	—	—	—	—	—	—	Colônias suspeitas — Comport. no ativo.
9	H MO	PC	15	Peste crônica, forma necrótica.	—	—	—	—	—	—	Aus. de colônias suspeitas — Dispens.
10	H MO	SC	15	Peste crônica, forma necrótico-exudativa.	—	—	—	—	—	—	Aus. de colônias suspeitas — Dispens.
11	H SV	IP	12	Peste aguda, forma septicêmico-hemorrágica e necrótica.	S	—	—	—	—	—	Colônias suspeitas — Comport. positivo.
12	H SV	IP	15	Peste crônica, forma necrótico-cicatrizial.	S	—	—	—	—	—	Colônias suspeitas — Comport. positivo.
13	M BFGMO	PC	8	Peste aguda, forma septicêmico-hemorrágica e exudativa.	S	—	—	—	—	—	Aus. de colônias suspeitas — Dispens.
14	M BF	PC	15	Peste crônica, forma necrótica.	S	—	—	—	—	—	Colônias suspeitas — Comport. positivo.
15	M MO	PC	15	Peste crônica, forma necrótico-cicatrizial e exudativa.	S	—	—	—	—	—	Aus. de colônias suspeitas — Dispens.
16	H SV	IP	15	Peste aguda, forma septicêmico-hemorrágica e necrótica.	—	—	—	—	—	—	Colônias suspeitas — Impossível
17	H SV	IP	13	Ausência de sinais.	—	—	—	—	—	—	Colônias suspeitas — Comport. negativo.
18	H SV	IP	3	Peste aguda, forma septicêmico-hemorrágica e exudativa.	S	—	—	—	—	—	Aus. de colônias — Dispens.
19	M BFGMO	PC	10	Peste aguda, forma septicêmico-hemorrágica e exudativa.	S	—	—	—	—	—	Colônias suspeitas — Impossível
20	M MO	PC	15	Peste residual.	—	—	—	—	—	—	Aus. de colônias suspeitas — Dispens.
21	M BFGMO	PC	2	Peste aguda, forma septicêmico-hemorrágica e exudativa.	—	—	—	—	—	—	Aus. de colônias suspeitas — Dispens.
22	M BFGMO	PC	3	Peste aguda, forma septicêmico-hemorrágica e exudativa.	S	—	—	—	—	—	Colônias suspeitas — Comport. positivo.
23	H SB	SC	15	Peste residual.	S	—	—	—	—	—	Colônias suspeitas — Comport. positivo.
24	M MO	PC	15	Peste aguda, forma septicêmico-hemorrágica e exudativa.	S	—	—	—	—	—	Aus. de colônias suspeitas — Dispens.
25	M BFGMO	PC	15	Peste aguda, forma septicêmico-hemorrágica e exudativa.	S	—	—	—	—	—	Colônias suspeitas — Comport. positivo.
26	M BFGMO	PC	15	Ausência de sinais.	—	—	—	—	—	—	Aus. de colônias suspeitas — Dispens.

N.º DA FICHA	ORIGEM E ESPÉCIE DO MATERIAL	VIA DE INOC.	SORREVIDA	ANATOMIA PATOLÓGICA	BACTERIOSCOPIA						ISOLAMENTO BACTERIOLÓGICO E IDENTIFICAÇÃO
					F	B	G	Sg.	RA		
47	H SB	SC	5	Peste aguda, forma septicémico-hemorragica, necrótica e exudativa.	S	S	S	S	P	Colônias suspeitas — Comport. positivo	
28	H SV	IP	3	Peste aguda, forma septicémico-hemorragica e exudativa.	S	—	S	S	P	Colônias suspeitas Comport. positivo	
29	M BFMO	PC	15	Ausência de sinais.	—	—	—	—	—	Aus. de colônias suspeitas — Dispens.	
30	H SB	SC	15	Ausência de sinais.	—	—	—	—	—	Aus. de colônias suspeitas — Dispens.	
31	H SV	IP	15	Ausência de sinais.	—	—	—	—	—	Aus. de colônias suspeitas — Dispens.	
32	H SV	IP	9	Peste sub-aguda, forma necrótico-exudativa.	S	—	S	—	P	Colônias suspeitas — Comport. positivo	
33	M BFMO	PC	15	Ausência de sinais.	—	—	—	—	—	Aus. de colônias suspeitas — Dispens.	
34	H MO	SC	7	Peste sub-aguda, forma necrótico-exudativa.	S	S	S	—	P	Colônias suspeitas — Comport. positivo	
35	M BFMO	PC	15	Ausência de sinais.	S	S	—	—	—	Aus. de colônias suspeitas — Dispens.	
36	M ₁₈ MO	PC;	12	Peste crônica, forma necrótica.	S	S	—	—	—	Aus. de colônias suspeitas — Dispens.	
40	L FMO	PC;	15	Peste crônica, forma necrótica.	S	S	—	—	—	Colônias suspeitas — Comport. positivo	
41	M BFMO	PC;	15	Ausência de sinais.	—	—	—	—	—	Colônias suspeitas — Comport. positivo	
42	M ₁₈ MO;	PC;	15	Peste sub-aguda, forma necrótica.	—	—	—	—	—	Colônias suspeitas — Comport. positivo	
43	H SV	IP	15	Peste crônica, forma necrótico-exudativa.	—	—	—	—	—	Colônias suspeitas — Comport. positivo	
44	H SB	SC	15	Peste crônica, forma necrótica.	S	S	—	—	S	Colônias suspeitas — Comport. positivo	
45	H SB	SC	15	Ausência de sinais.	—	—	—	—	—	Colônias suspeitas — Comport. positivo	
46	M BFMO	PC;	15	Peste crônica, forma necrótica.	—	—	—	—	—	Aus. de colônias suspeitas — Dispens.	
49	H Cult.	SC	3	Peste aguda, forma septicémico-hemorragica, necrótica e exudativa.	—	—	—	—	—	Colônias suspeitas — impositivo	
50	H SV	IP	15	Peste residual.	S	—	S	—	P	Colônias suspeitas — Comport. positivo	
51	H SB	SC	8	Peste aguda, forma septicémico-hemorragica e necrótica.	S	—	S	—	P	Colônias suspeitas — Comport. negativo;	
52	H SB	SC	12	Peste sub-aguda, forma necrótico-exudativa.	S	S	—	—	P	Colônias suspeitas — Comport. positivo	
53	H SV	IP	15	Peste crônica, forma necrótica.	—	—	—	—	—	Colônias suspeitas — Impossível	
54	M BFME	PC;	15	Peste sub-aguda, forma necrótico-exudativa.	—	—	—	—	—	Aus. de colônias suspeitas — Dispens.	
55	M BFMO	PC	13	Peste sub-aguda, forma necrótico-exudativa.	S	S	—	—	S	Colônias suspeitas — Comport. positivo	
56	M BFMO	PC	15	Ausência de sinais.	S	S	—	—	S	Colônias suspeitas — Comport. negativo	
67	M MO	PC	5	Peste sub-aguda, forma exudativa típica	—	—	—	—	—	Aus. de colônias suspeitas — Dispens.	
68	RS MO	PC	15	Ausência de sinais.	—	—	—	—	—	Aus. de colônias suspeitas — Dispens.	
69	M BFMO	PC;	2	Peste aguda, forma septicémico-hemorragica, necrótica e exudativa.	—	—	—	—	—	Aus. de colônias suspeitas — Dispens.	

N.º DA FICHA	ORIGEM E ESPÉCIE DO MATERIAL	VIA DE INOC.	SORREVIDA	ANATOMIA PATOLÓGICA	BACTERIOSCOPIA						ISOLAMENTO BACTERIOLÓGICO E IDENTIFICAÇÃO
					F	B	G	Sg.	RA		
70	M BFMO	PC	15	rágica, necrótica e exudativa.	S	—	S	—	P	Colônias suspeitas — Comport. positivo	
75	M ₁₈ MO	PC	15	Ausência de sinais.	—	—	—	—	—	Aus. de colônias suspeitas — Dispens.	
76	M MO	PC	15	Peste residual.	—	—	—	—	—	Aus. de colônias suspeitas — Dispens.	
77	M MO	PC	15	Ausência de sinais.	—	—	—	—	—	Aus. de colônias suspeitas — Dispens.	
78	H SV	IP	4	Peste aguda, forma septicémico-hemorragica, necrótica e exudativa.	S	—	S	—	P	Colônias suspeitas — Comport. positivo	
79	H SB	SC	15	Peste residual.	S	S	—	—	P	Colônias suspeitas — Comport. positivo	
80	H SV	IP	9	Peste aguda, forma septicémico-hemorragica exudativa.	S	S	—	—	S	Aus. de colônias ² suspeitas — Dispens.	
81	H SB	SC	7	Peste aguda, forma septicémico-hemorragica, necrótica e exudativa.	S	—	S	—	—	Colônias suspeitas — Comport. negativo;	
82	M BFMO	PC	15	Ausência de sinais.	S	S	—	—	P	Colônias suspeitas — Impossível	
83	M BFMO	PC	15	Ausência de sinais.	—	—	—	—	—	Aus. de colônias suspeitas — Dispens.	
84	M ₁₈ BFMO	PC	15	Peste residual.	—	—	—	—	—	Aus. de colônias suspeitas — Dispens.	
85	H SB	SC	15	Ausência de sinais.	—	—	—	—	—	Aus. de colônias suspeitas — Dispens.	
85	H SV	IP	1	Prejudicado.	—	—	—	—	—	Aus. de colônias suspeitas — Dispens.	
88	M BFMO	PC	15	Peste residual.	—	—	—	—	—	Aus. de colônias suspeitas — Dispens.	
89	M MO	PC	12	Peste residual.	—	—	—	—	—	Aus. de colônias suspeitas — Dispens.	
90	M BFMO	PC	4	Peste sub-aguda, forma necrótico-exudativa.	—	—	—	—	—	Aus. de colônias suspeitas — Dispens.	
91	M BFMO	PC	15	Ausência de sinais.	—	—	—	—	S	Colônias suspeitas — Comport. negativo	
95	M BFMO	PC	15	Ausência de sinais.	—	—	—	—	—	Aus. de colônias suspeitas — Dispens.	
99	M BFMO	PC	15	Ausência de sinais.	—	—	—	—	—	Aus. de colônias suspeitas — Dispens.	
100	M BFMO	PC	15	Ausência de sinais.	—	—	—	—	—	Aus. de colônias suspeitas — Dispens.	
101	M BFMO	PC	15	Ausência de sinais.	—	—	—	—	—	Aus. de colônias suspeitas — Dispens.	

Departamento de Imprensa Nacional
Rio de Janeiro - Brasil - 1952