

Dr. Carlos Affonso Alves

*Ex-interno de clinica cirurgica
(Prof. Sarmiento Leite)
Ex-interno do ambulatório de
cirurgia da Santa Casa.*

CULTURA DO GONOCOCCO DE NEISSER

(SOBRE O VALOR DE DOIS NOVOS MEIOS)

(CADEIRA DE MICROBIOLOGIA)

Trabalho feito no Laboratório de Pesquisas Clinicas do Dr. Waldemar Castro

THESE DE DOUTORAMENTO

Approvada plenamente

Commissão examinadora:

Prof. Marques Pereira (presidente)
Prof. Ulyses Nonohay
Prof. Pereira Filho

1925

GLOBO — Barcellos, Bertaso & Cia.
Alegre, Santa Maria e Pelotas

ED

76.85

474c

925

H 474c

FACULDADE DE MEDICINA DE PORTO ALEGRE

THESE

apresentada á

Faculdade de Medicina de Porto Alegre

em 10 - XII - 1925 e defendida em 22 - XII - 1925

pelo

DR. CARLOS AFFONSO ALVES

Natural do Estado do Rio Grande do Sul

Filho legítimo de Olavo Affonso Alves e D. Bernardina Nunes Alves

Afim de obter o gráo de doutor em Medicina

DISSERTAÇÃO :

CULTURA DO GONOCOCCO DE NEISSER

(SOBRE O VALOR DE DOIS NOVOS MEIOS)

(Cadeira de Microbiologia)

Approvada plenamente

Trabalho feito no Laboratorio de Pesquisas Clinicas do Dr. Waldemar Castro.



1925

LIVRARIA DO GLOBO — Barcellos, Bertaso & Cia
Porto Alegre, Santa Maria e Pelotas



Faculdade de Medicina de Porto Alegre

Director: Prof. Sarmento Leite
 Vice Director: Prof. Serapião Mariante
 Secretario: Prof. Sarmento Leite Filho

DOCENCIA EM 1926

CADEIRAS

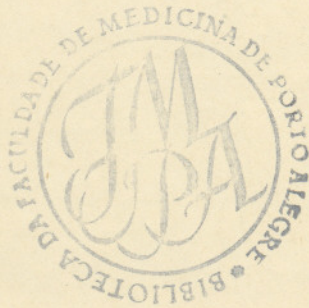
Physica medica
 Clinica medica
 Historia natural medica
 Histologia e embryologia
 Anatomia descriptiva (1.ª parte)
 Physiologia (1.ª parte)
 Anatomia descriptiva (2.ª parte)
 Physiologia (2.ª parte)
 Microbiologia
 Clinica Propedeutica
 Clinica Propedeutica cirurgica
 Pathologia Geral
 Anatomia e Physiologia pathologica
 Pharmacologia e arte de Formular
 Pathologia Cirurgica
 Clinica Dermatologica e Syphilligraphica
 Clinica Ophthalmologica
 Clinica Cirurgica
 Anatomia Medico-Cirurgica e Operações
 Therapeutica
 Clinica Medica (1)
 Clinica Pediatrica Medica e Hygiene Infantil
 Clinica Pediatrica Cirurgica e Orthopedia
 Clinica Oto-rhino-laryngologica
 Pathologia medica (1.ª parte) (2)
 (2.ª parte)
 Hygiene (3)
 Medicina Legal
 Clinica Obstetrica
 Clinica Gynecologica (4)
 Clinica neurological
 Clinica Psychiatrica
 Clinica Analytica
 Pharmacologia (1.ª parte)
 Hygiene (parte geral)
 Bromatologia
 Toxicologia
 Pharmacologia (2.ª parte)
 Clinica Odontologica
 Prótese
 Substituto da 7.ª Secção
 Substituto da 9.ª Secção
 Substituto da 15.ª Secção
 Substituto da 16.ª Secção
 Professores Jubilados
 Professoes Honorarios
 Prof. cathedratico em disponibilidade
 Prof. cathedratico em disponibilidade
 1. E' Cathedratico da 3.ª cadeira
 2. E' Cathedratico o Professor
 3. E' Cathedratico o Professor
 4. E' Cathedratico o Professor

PROFESSORES:

Ney Cabral
 Christiano Fischer
 Sarmento Barata
 Marques Pereira
 Moysés Menezes
 Raul Pilla (interino)
 Sarmento Leite
 Fabio Barros
 Pereira Filho
 Plinio Gama (interino)
 Guerra Blessmann (interino)
 Gonçalves Vianna (interino)
 Gonçalves Vianna
 A. Galvão (interino)
 Diogo Ferrás
 Ulysses Nonohay
 Freire de Figueiredo
 Guerra Blessmann
 Frederico Falk
 Octacilio Rosa
 Paula Esteves
 Annes Dias (interino)
 Aurelio Py
 Octavio de Souza
 Gonçalves Carneiro
 Nogueira Flóres
 Alberto de Souza (interino)
 Sarmento Leite Filho
 (Substituto)
 Freitas e Castro
 Annes Dias
 Mario Totta
 Martim Gomes
 Luis Guedes (interino)
 Luis Guedes
 Henrique Oliveira (interino)
 Carlos Leite (interino)
 Waldemar Castro (interino)
 João de Deus Parbachan (inter.)
 Argymiro Galvão
 José Paranhos
 Cirne Lima
 Freitas e Castro
 Sarmento Leite Filho
 Carlos Leite
 Raul Moreira
 Carlos Freitas e Dias Campos
 Carlos Barbosa, Olinto de Oliveira
 e Protasio Alves
 Fróes da Fonseca
 Mario Bittencourt
 Thomaz Mariante
 Alberto de Souza
 Velho Py, está licenciado.
 Serapião Mariante, está licenciado.

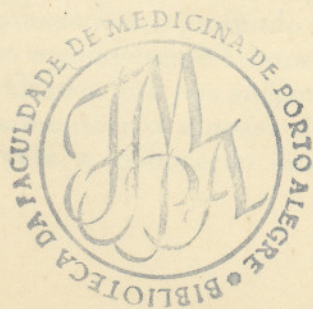
A Faculdade não aprova nem reprova as opiniões emitidas nas Theses por seus autores

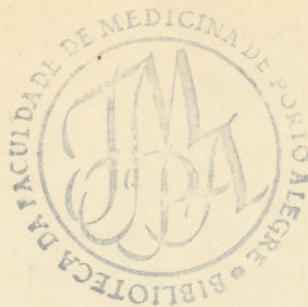
A meus Paes



A meus Irmãos

e Cunhados





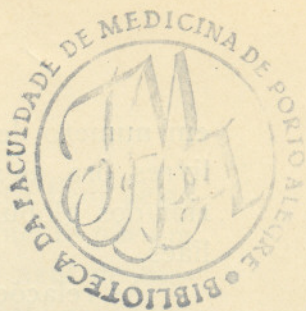
Duas palavras

O thema escolhido para nossa dissertação inaugural — cultura do gonococco — é daquelles que entre os bacteriologistas grande interesse desperta.

Representa esta these nosso esforço exclusivamente pessoal e por bem empregados daremos o tempo e o trabalho que expendemos em sua feitura, si houvermos cooperado, embóra com pequenissima parcella de valor, para o estudo de tão importante questão.

Dividimol-a em quatro capitulos: no primeiro fazemos ligeiras considerações sobre o gonococco; no segundo tratamos de sua cultura; no terceiro consignamos os resultados obtidos em nossas experiencias e no quarto e ultimo, assentamos algumas conclusões.

Antes de darmos inicio á nossa dissertação queremos deixar aqui expresso nosso profundo reconhecimento ao distincto e competente laboratoriolista Dr. Waldemar Castro, que nos suggeriu o assumpto e tão bondosamente poz á nossa disposição seu laboratorio para a elaboração deste trabalho.



CAPITULO I

BREVES CONSIDERAÇÕES SOBRE O GONOCOCCO

Entrevisto successivamente por Hallier (1872) Salisbury (1873) e Bouchard (1878), o microbio da blenorragia, o gonococco, foi em verdade descoberto por Neisser em 1879.

Filiados ao genero micrococco os gonococcos se apresentam quasi sempre associados dois a dois, em diplococcos, dispostos lado a lado ; cada um dos elementos constitutivos do par, ovoide e concavo em sua face interna, tem a fórma de um rim ou de um grão de café, cujas dimensões, variaveis, são em media de 0,6 a 0,7 micro para o grande eixo e 0,5 para o pequeno.

Nos esfregaços de pus blenorragico, convenientemente corados pelo liquido de Loeffler ou pela violeta, os gonococcos se mostram, sob um augmento de 400 ou 500 diametros, raramente isolados, mas quasi sempre agrupados

em numero de 20, 30, 40, e mesmo mais, óra livres, óra, as mais das vezes, situados no interior dos globulos de pus e das cellulas epitheliaes.

As relações que o germen affecta com os elementos cellulares do pús blenorrhagico, minuciosamente estudadas por Legrain, são sobremodo variaveis e dependem da phase clinica em que se acha a infecção.

E' assim que no inicio da blenorrhagia os gonococcus, pouco numerosos, acham-se incluídos nos leucocytos polynucleares (sómente 2 a 3 p.100). Desde o fim do segundo dia o numero de leucocytos invadidos augmenta.

As cellulas epitheliaes, no inicio bastante numerosas, desaparecem quasi que inteiramente no periodo agudo, encontrando-se um leucocyto para cinco ou seis, contendo o gonococco.

No periodo sub-agudo os elementos epitheliaes tornam-se, novamente, muito numerosos, mas excepcionalmente apresentam gonococcus em sua superficie; estes se acham nos globulos de pús, cujo numero augmenta sensivelmente nessa phase.

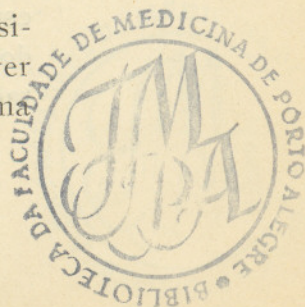
Quando, emfim, a blenorrhagia passa á chronicidade os pyocitos desaparecem e quasi todas as cellulas epitheliaes são então invadidas pelo microbio.

Os gonococcus se córam muito bem pelas côres de anilina e se os pôde facilmente pôr em evidencia pela solução aquosa de azul de methyleno, pelo azul de Loeffler ou pelo azul phenicado de Kuhne. Elles são descorados pelo methodo de Gram.

Durante muito tempo se acreditou que essa Gram-negatividade dos gonococcus era de qualquer sorte característica, por isso que seriam elles os unicos germens da urethra susceptiveis de se descorar pelo methodo de Gram; era isso um erro, porquanto nella habitam muitos outros microorganismos, morphologicamente visinhos, que apresentam essa propriedade.

Egualmente infiel é a coloração dos gonococcus pela eosina, após descoramento pelo Gram, como recommenda Steinschneider. Estas reacções microchimicas só são realmente uteis, quando a ellas se vem juntar o modo de agrupamento dos diplococcus nas cellulas epitheliaes e nos leucocytos, como anteriormente assignalamos.

O gonococco é um germen strictamente aerobio; de vitalidade extremamente fraca, elle resiste mal ao frio, ao calor, á dessecção, aos antisepticos. As culturas morrem em poucos dias si não forem replantadas. E' muito sensivel ás mudanças de temperatura; pôde viver entre 32° e 38°, mas a temperatura optim



acha-se comprehendida entre 36° e 38°; morre, se mantido durante doze horas a 39° e durante 6 horas a 40°. As colónias germinam mal abaixo de 20° e morrem abaixo de 18°. No pús blenorragico o gonococco póde, uma vez realizadas as condições de humidade necessarias á sua existencia, conservar, fóra do organismo, durante muitos dias sua vitalidade e virulencia. As culturas quando novas são virulentas, mas perdem rapidamente sua actividade. Os antisepticos, taes como o permanganato de potassio, o nitrato de prata, o sublimado, o acido phenico não esterilizam as culturas; isso é devido, provavelmente, como diz Finger, ás coagulações albuminosas por elles determinadas em sua superficie, protegendo dessa maneira as camadas subjacentes.

O gonococco é agglutinado pelo sôro anti-gonococico; este sôro apresenta egualmente para o meningococco propriedades agglutinantes, mas trata-se, como mostraram Dopter e Koch, não de agglutininas especificas e sim de coagglutininas, como se póde verificar pela prova de Castellani.

O sôro anti-gonococico, segundo as pesquisas de Vannod, contem uma sensibilisadora especifica para o gonococco; esta sensibilisadora foi evidenciada no sôro de doentes portadores de affecções gonococcicas chronicas ;

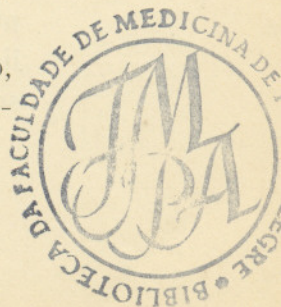
segundo Finkelstein e Gerschum ella é constante.

A inoculação de culturas puras de gonococcus em urethras humanas foi praticada por Bum, Wertheim, Finger e Aufuso; estes auctores chegaram a reproduzir experimentalmente uma blenorrhagia typica, o que demonstra a natureza especifica do gonococco.

A inoculação de culturas e de pús gonococcico na urethra dos animaes nunca deu resultados positivos, sendo isso, talvez, devido á sua temperatura que é um pouco superior a 39°, limite da vegetação do gonococco nas culturas. Fonseca, entretanto, diz ter provocado na urethra do coelho uma blenorrhagia attenuada, desaparecendo espontaneamente depois de dez dias.

As pesquisas de Christmas mostraram que no caldo addicionado de sôro, no qual se cultiva o gonococco, existe um producto toxico cuja inoculação na urethra do homem, determina uma inflammação muito intensa acompanhada de abundante suppuração que não se distingue de uma verdadeira blenorrhagia senão pela ausencia de gonococcus. A urethra não fica immunisada, podendo-se repetir, com exito, varias vezes a mesma experiencia.

Precipitando pelo alcool o liquido filtrado, Christmas obteve uma toxina com a qual de-



termina rapidamente a morte dos animaes, inoculando-a na substancia cerebral. Para elle a toxina gonococicca é uma toxina soluvel e não o resultado de uma diffusão de toxinas de gonococcus mortos; é destruida por um aquecimento a mais de 70° e não é dyalisavel.

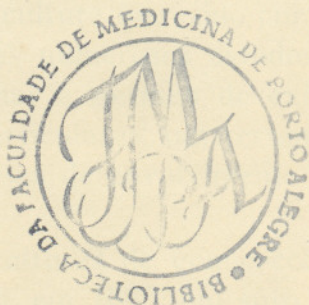
Wassermann e Nicolaysen são de opinião que a gonotoxina acha-se contida no corpo microbiano, sendo posta em liberdade pela morte ou pela destruição do gonococco. As culturas novas são menos ricas em toxina do que as culturas velhas. Essa toxina não é precipitavel pelo alcool e é muito resistente ao calor. Sua inoculação na urethra do homem determina egualmente uma suppuração abundante que desaparece no fim de dez dias; ella é toxica para o coelho e o ratinho.

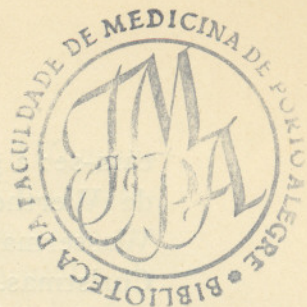
O gonococco não é um saprophyta da urethra normal. Elle é o agente da blenorrhagia. Encontra-se-o no pús das affecções blenorrhagicas da urethra, da vagina, da bexiga, do utero, do recto; no pús da ophtalmia do adulto ou do recém-nascido. Poucas são as complicações da blenorrhagia, nas quaes o gonococco não tenha sido encontrado.

Existe em todos os fócios metastasicos suppurados ou não que elle provoca na economia: liquido articular, fócios de endocardite, abcessos distantes etc.; encontra-se-o nas suppura-

ções conjunctivas visinhas do fóco e nas raras adenites de que se acompanha a blenorragia; donde se segue que muito excepcionalmente elle póde utilizar a via lymphatica.

Lofaro demonstrou que os gonococcus se encontram no sangue em 58 p. 100 das urethrites chronicas, em 100 p. 100 das urethrites complicadas de estreitamento, em 73 por 100 das epididymites e em 50 p. 100 das vulvites e vaginites. Esses trabalhos de Lofaro foram integralmente confirmados por Tantonet Picher e outros experimentadores.





CAPITULO II

CULTURA DO GONOCOCCO

O gonococco germina difficilmente nos meios de cultura usuaes taes como a gelose, o caldo ou a gelatina; elle requer para o seu desenvolvimento meios nutritivos especiaes de uma composição mais ou menos complexa.

Por isso tem sua cultura merecido por parte dos bacteriologistas numerosos estudos, no sentido de proporcionar a germen de exigencias nutritivas tão particulares, um terreno de cultura favoravel ao seu desenvolvimento perfeito.

As primeiras culturas de gonococco foram obtidas por Bum, em 1885, em sôro sanguineo humano coagulado. Bockart e Legrain foram os primeiros que cultivaram o germen em gelatina e gelose.

Numerosos têm sido nestes ultimos annos os meios indicados para a cultura do microbio de Neisser. D'entre os mais utilizados desta-

cam-se: a gelose-ascite, o caldo-ascite, a gelose de Wertheim, o sangue gelosado, o meio de Wassermann, gelose de Heiman e o meio de Christmas.

Os dois meios, clara de ovo e gelose amidonada por nós estudados neste trabalho, foram propostos recentemente por Mlle. Le Sou-dier e J. Verge e por L. Blaizot.

Fizemos seu estudo comparativamente á gelose-ascite e ao caldo-ascite, meios geralmente preferidos pelos bacteriologistas para cultivar o gonococco.

Vejamos agóra como realizamos a preparação destes diversos meios.

Gelose-ascite

a) Preparação do caldo de carne peptonado :

Deixamos macerar a frio em 1000 grammas de agua distillada, durante vinte e quatro horas, 500 grammas de carne de boi escolhida, desembaraçada dos ossos, gordura, tendões, etc. e dividida em pequenos pedaços. Passado esse tempo exprimimos a mistura atravez de um panno fino humedecido e adicionamos-lhe a agua necessaria para completar um litro.

Isto feito, juntamos ao liquido obtido 10 grammas de peptona e 5 grammas de chloreto

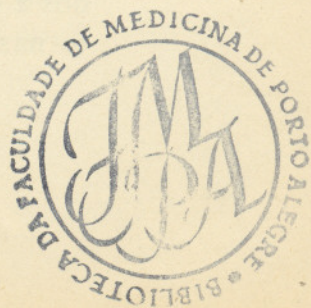
de sodio. Levamol-o ao autoclave a 115 graus durante dez minutos, para coagular as materias albuminoides, e filtramol-o em seguida em filtro humedecido, afim de desembaraçal-o da gordura. Verificada sua reacção, que éra fortemente acida ao papel de tornasol, procedemos á sua neutralisação, adicionando-lhe, gotta a gotta, alguns centímetros cubicos de uma solução saturada de carbonato de sodio até dar-lhe uma reacção levemente alcalina.

Após isto levamos o liquido novamente ao autoclave onde soffreu, durante um quarto de hora, um aquecimento a 120 graus para que se desse a precipitação dos saes alcalino-terrosos. Filtramol-o e repartimol-o em recipientes apropriados que levamos ao autoclave, durante um quarto de hora a 115 graus, para esterilisação definitiva.

b) Preparação da gelose :

A gelose peptona é o caldo peptonado e alcalinizado que se solidifica com a geléa de agar-agar.

Existem varios processos para a preparação da gelose; os mais usados são o de Roux e o de Macé, modificado por Thoinot e Masselín. Demos preferencia ao ultimo por permitir elle a obtenção de uma gelose mais clara do que a obtida pelo processo de Roux.



Vejamos como procedemos para preparal-a :

Em meio litro de agua acidulada por 30 grammas de acido chlorhydrico puzemos 15 grammas de agar-agar cortada em pequenos fragmentos; deixamos em contacto durante 24 horas, agitando varias vezes.

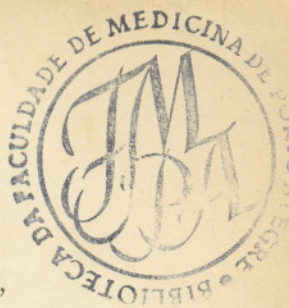
Filtramos atravez de um panno fino, lavando a gelose que ficou sobre elle com agua distillada e depois com uma soluçao de carbonato de sodio, até que a agua de lavagem não apresentasse mais traços de acidez.

Feito isto lançamos a alga em 500 grammas de caldo peptonado aquecido previamente a 100 graus em banho-maria, prolongando o aquecimento durante 10 minutos, afim de assegurar a inteira fusão da gelose.

Após isto verificamos a reacção do liquido que éra ligeiramente alcalina e o deitamos sobre um filtro Chardin humedecido e collocado no funil de filtração a quente.

Filtrada que foi a gelose, fizemos sua distribuição em tubos convenientemente preparados, levando-os depois ao autoclave, onde permaneceram 20 minutos a 115 graus, ficando assim esterilizados.

Retirados os tubos do autoclave e resfriados a 40 graus incorporamos-lhes asepticamente nas devidas proporções (tres partes de ge-



lose para uma de ascite) o liquido de ascite, dispondo-os sobre um plano inclinado, afim de que a gelose se solidificasse em superficie obliqua. Deixamol -os nessa posição durante 36 horas, recobrando-os depois com capuzes de borracha, esterilizados pelo sublimado.

Cumpre assignalar que o liquido de ascite que empregamos para nossas experiencias, retirado asepticamente de um doente da nona enfermaria do hospital da Santa Casa, continha, segundo dosagem por nós effectuada, (albuminometro de Esbach), 22 grammas de albumina por mil, satisfazendo assim perfeitamente as condições exigidas para sua utilização.

A gelose-ascite é para muitos bacteriologistas o meio de escolha para a cultura do gonococco. Ella offerece na verdade reaes vantagens, não só por ser um meio de grande sensibilidade e facil preparação, como tambem por permittir facilmente o isolamento do germen.

Entretanto, devemos dizer que sob o ponto de vista de sua sensibilidade, a gelose-ascite se mostrou inferior aos novos meios por nós estudados. Em quarenta tubos semeados para cada meio, tivemos com a gelose-ascite nove

resultados negativos, dois com o meio clara de ovo e cinco com a gelose amidonada de Blaizot.

As colonias de gonococcus desenvolvidas nesse meio offerecem um aspecto caracteristico: ellas são hemisphericas, punctiformes, (vide estampa I), semitranslucidas, com bordos ligeiramente sinuosos sob um fraco augmento.

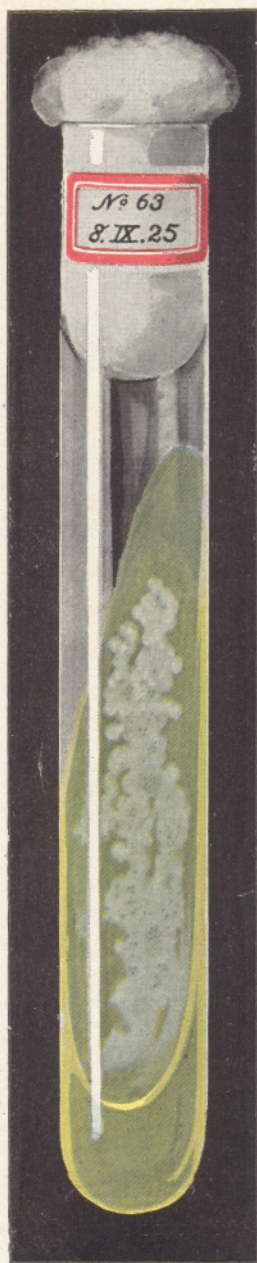
Quasi incolores ellas têm, entretanto, um leve matiz cinzento um pouco azulado por reflexão e amarello fulvo por transparencia. As colonias se estendem um pouco, podendo attingir um millimetro de diametro no terceiro ou no quarto dia. São viscosas e destacam-se com alguma difficuldade do meio.

As culturas pôdem, sobre esse meio, ser replantadas com exito, indefinidamente.

Caldo-ascite

Para preparar este meio nada mais tivemos que fazer senão incorporar asepticamente ao caldo peptonado e esterilizado, preparado como atraz dissemos, a serosidade ascitica (uma parte de serosidade para tres partes de caldo) e distribuir a mistura nos tubos de ensaio previamente esterilizados na estufa de Pasteur a 180 graus, encapuzando-os depois com borracha.

ESTAMPA I



Cultura do
gonococco em
gelose-ascite
(pus urethral)

Este meio se mostrou relativamente aos novos meios ainda menos sensível do que a gelose-ascite; em quarenta tubos semeados tivemos treze resultados negativos.

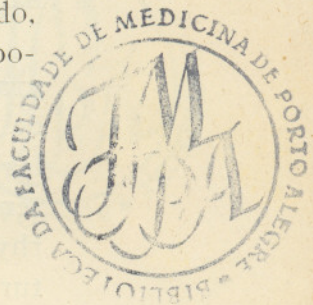
Cumprido dizer que, como se tratasse de um meio líquido, sempre tivemos o cuidado de semeal-o com grande quantidade de material.

O gonococco desenvolvendo-se nesse meio determina sua turvação, perceptível já no fim de doze horas; depois de dois ou tres dias forma-se em sua superficie um véo esbranquiçado, fino e viscoso, ao passo que no fundo se depositam flócos (vide estampa II).

Meio clara de ovo

Este meio foi proposto este anno por Mlle. Le Soudier e J. Verge. Sua preparação, conforme noticia consignada no Boletim do Instituto Pasteur (n.º 9, 15 de Maio, pag. 386), é a seguinte :

“Mistura-se uma parte de clara de ovo cuidadosamente desembaraçada da gemma e 3 partes d’agua distillada; agita-se com perolas de vidro, depois filtra-se sobre algodão de vidro e ajunta-se a 100 c.c. de filtrado 6 c.c. de glicerina pura. Esterilisar 30 minutos a 115°



e incorporar asepticamente uma parte a duas partes de caldo Martin gelosado sahindo do autoclave.”

Para preparar o caldo Martin gelosado empregamos a seguinte technica :

Fizemos macerar a frio durante vinte e quatro horas, num litro d'agua 500 grammas de carne de boi, convenientemente picada; puzemos a mistura, durante algumas horas na estufa, afin de fermentar e serem assim eliminados os assucares.

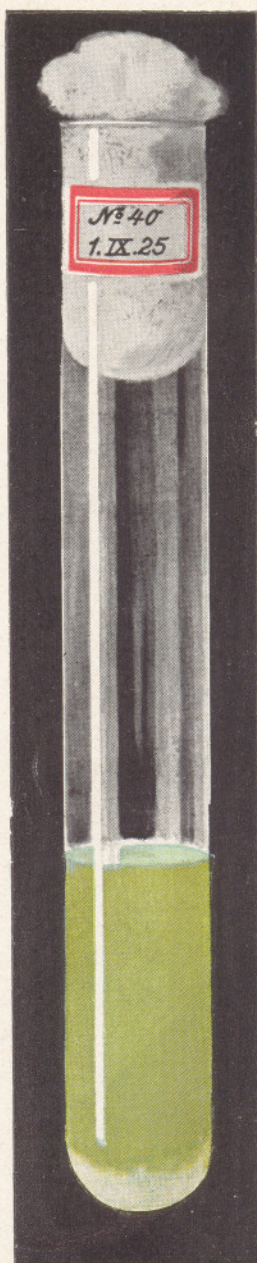
Simultaneamente a isto puzemos 200 grammas de estomago de porco, (utilisamo-nos de 4 estomagos, 50 grammas de cada um delles) finamente picado, num litro d'agua, contendo dez centimetros cubicos de acido chlorhydrico a 16 graus Reaumur, deixando a mistura vinte e quatro horas a 50 graus.

Filtramos a maceração de carne em algodão hydrophilo, alcalinizamol-a pela solução saturada de carbonato de sodio e juntamos-lhe 5 grammas de chloreto de sodio.

Filtramos num panno fino a maceração de estomago e a juntamos á maceração de carne.

Verificada a reacção da mistura que éa levemente acida, alcalinizamol-a novamente, levando-a depois ao autoclave onde permaneceu um quarto de hora a 115 graus.

ESTAMPA II

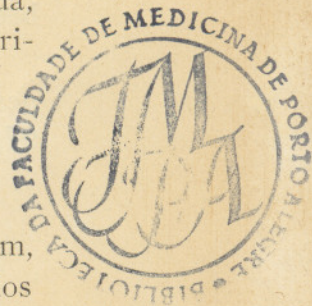


Cultura do
gonococco em
caldo-ascite
(pus urethral)

Feito isto adicionamos á mistura, afim de tornal-a mais clara, um fragmento de chloreto de calcio e outro de phosphato de sodio. Juntamos-lhe 15 grammas de agar-agar (utilizamos-nos sómente de 500 grammas de caldo) e levamos a mistura ao autoclave afim de dissolver a gelose.

Filtramol-a em papel Chardin no funil de filtração a quente e esterilizamol-a no autoclave a 115 graus durante um quarto de hora. Isto feito incorporamos asepticamente 500 centimetros cubicos do caldo Martin gelosado, assim preparado, a 250 centimetros cubicos da mistura constituida por clara de ovo, agua distillada e glicerina, preparada como acima dissemos. Fizemos a distribuição em tubos previamente esterilizados na estufa de Pasteur, dispondo-os sobre um plano inclinado, para que o meio se solidificasse em superficie obliqua, e os cobrimos com capuzes de borracha esterilizados.

Este novo meio, pelo grande valor que tem, merece figurar entre os meios mais reputados para a cultura do gonococco. E' bem mais sensivel que a gelose-ascite e o caldo-ascite e mesmo o meio de Blaizot; em quarenta tubos se



meados tivemos sómente dois resultados negativos.

O gonococco desenvolve-se no meio clara de ovo exuberantemente, dando em quarenta e oito horas culturas tão abundantes como na gelose-ascite. Entretanto este meio, conforme assignalam seus auctores, não se presta para o isolamento do germen, pois rarissimas foram as vezes, que semeando-o com pús urethral, conseguimos ver as colonias características. Ellas acham-se quasi sempre de mistura com as colonias de outros germens que mui frequentemente se desenvolvem sobre o meio, sobretudo ás de estaphilococcus.

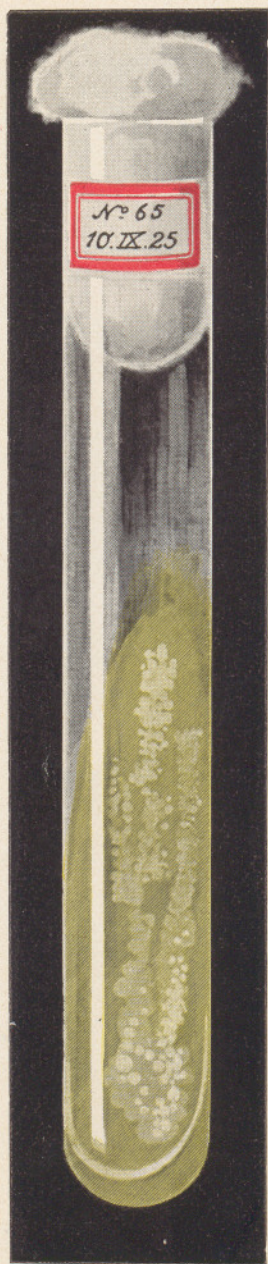
A estampa III mostra uma cultura de gonococco na qual não se divisa nenhuma colonia typica do germen, estando ellas misturadas ás colonias de estaphilococcus que se veem sobre o meio.

Segundo seus auctores o gonococco poude neste meio, ser replantado depois de 68, 83, 97, 108 e 113 dias de permanencia na estufa.

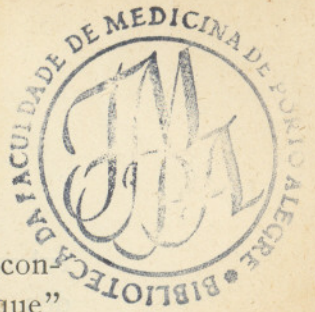
Meio semi-sólido amidonado de Blaizot

Este novo meio, proposto por L. Blaizot, é de preparação ainda mais facil que o precedente.

ESTAMPA III



Cultura do
gonococco no meio
clara de ovo
(pus urethral)



Transcrevemol-o aqui tal como o encontramos no livro "La Pratique Microscopique" de A. Juillet e L. Galavielle (primeira edição, 1923) :

"Lançar 500 grammas de carne de boi picada em 1100 grs. de agua commum; fazer macerar seis horas na estufa a 37.º; filtrar em panno; exprimir o picado; fazer ferver o filtrado; filtral-o em papel Chardin. Retomar o segundo filtrado, completar um litro com agua commum, ajuntar 5 grs. de Na Cl e 20 grs. de peptona (Chapoteaut). Neutralizar, depois alcalinisar, ajuntando-lhe 7,5 centimetros cubicos d'uma solução de Na OH 4/100. Aquecer este caldo até á ebulição. Dissolver numa pequena capsula 10 grs. de amido com alguns centimetros cubicos de agua distillada. No momento em que o caldo chega á ebulição ajunta-se-lhe o conteudo da capsula e mantem-se a ebulição um minuto.

Ajunta-se ao caldo 2,5 grs. de gelose, leva-se ao autoclave para fundir a gelose, reparte-se em tubos e esterilisa-se. Os tubos serão mantidos verticalmente á sahida do autoclave, a gelose assim diluida ficando molle depois do resfriamento."

Os resultados que obtivemos neste meio foram igualmente excellentes; em quarenta

tubos semeados tivemos apenas cinco resultados negativos, o que demonstra sua grande sensibilidade.

O gonococco vegetando neste meio fórma em quarenta e oito horas em sua superficie uma camada esbranquiçada, semelhante á clara de ovo, da qual partem ramificações para a profundidade. (vide estampa IV).

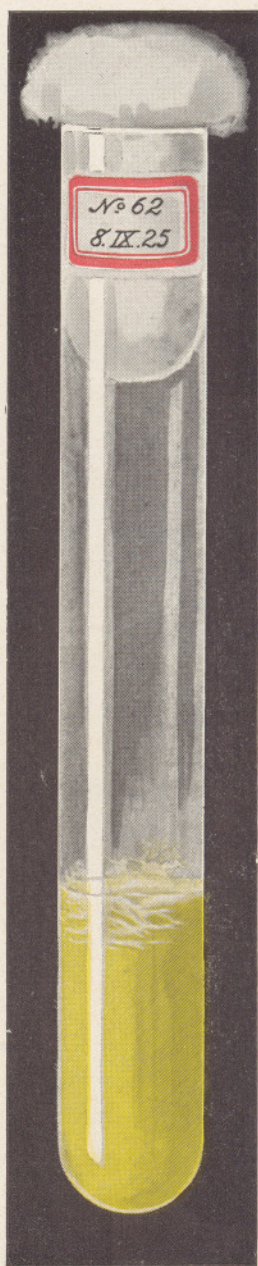
Segundo seu auctor este meio convem tambem para a cultura do pneumococco, do meningococco e do estreptococco, germinando este ultimo melhor com addição de glycose.

O material de que nos utilizamos para nossas experiencias (pus urethral) foi fornecido por doentes portadores de urethrites agudas (segunda e terceira semana), cuja natureza gonococica foi sempre por nós evidenciada microscopicamente. (methodo de Gram).

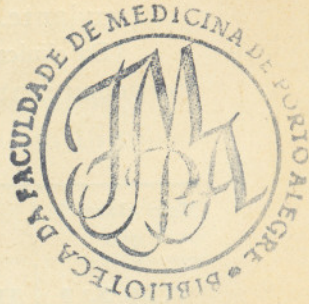
As sementeiras foram effectuadas no laboratorio nos meios previamente aquecidos a 37 graus, temperatura em que cultivamos o germen.

Cumpre ainda dizer que a positividade das culturas foi sempre comprovada pelo exame microscopico.

ESTAMPA IV



Cultura do
gonococco no
meio de Blai Zot
(pus urethral)



CAPITULO III

RESULTADOS

I

A. F. R. 32 annos, de côr mixta, casado, brasileiro, funcionario estadual.

(Da clinica do Dispensario Eduardo Rabello).

Forneceu material para sementeira em 8 tubos.

RESULTADOS :

Meio clara de ovo	Meio de Blaizot	Gelose-Ascite	Caldo-Ascite
TUBO N.º 1 Cultura positiva	TUBO N.º 2 Cultura positiva	TUBO N.º 3 Cultura positiva	TUBO N.º 4 Cultura positiva
TUBO N.º 5 Cultura positiva	TUBO N.º 6 Cultura positiva	TUBO N.º 7 Cultura positiva	TUBO N.º 8 Cultura positiva

II

C. D. 17 annos, branco, solteiro, brasileiro, estudante.

(Da clinica do Dr. Alfeu Bicca de Medeiros)

Forneceu material para sementeira em 8 tubos.

RESULTADOS :

Meio clara de ovo	Meio de Blaizot	Gelose-Ascite	Caldo-Ascite
TUBO N.º 9 Cultura positiva	TUBO N.º 10 Cultura positiva	TUBO N.º 11 Cultura positiva	TUBO N.º 12 Cultura positiva
TUBO N.º 13 Cultura positiva	TUBO N.º 14 Cultura positiva	TUBO N.º 15 Cultura positiva	TUBO N.º 16 Cultura positiva

III

D. F. S. 26 annos, de côr mixta, solteiro, brasileiro, carteiro.

(Da clinica do Dispensario Eduardo Rabello).

Forneceu material para sementeira em 8 tubos.

RESULTADOS :

Meio clara de ovo	Meio de Blaizot	Gelose-Ascite	Caldo-Ascite
TUBO N.º 17 Cultura positiva	TUBO N.º 18 Cultura positiva	TUBO N.º 19 Cultura negativa	TUBO N.º 20 Cultura positiva
TUBO N.º 21 positiva Cultura	TUBO N.º 22 Cultura positiva	TUBO N.º 23 Cultura negativa	TUBO N.º 24 Cultura positiva

IV

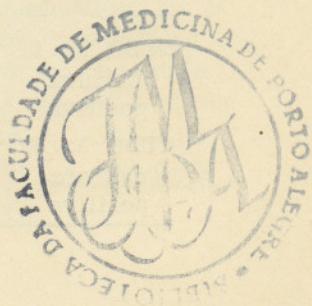
J. S. 20 annos, branco, solteiro, brasileiro,
guarda civil.

(Da clinica do Dispensario Eduardo Rabello).

Forneceu material para sementeira em 16 tubos

RESULTADOS :

Meio clara de ovo	Meio de Blaizot	Gelose-Ascite	Caldo-Ascite
TUBO N.º 25 Cultura positiva	TUBO N.º 26 Cultura positiva	TUBO N.º 27 Cultura negativa	TUBO N.º 28 Cultura negativa
TUBO N.º 29 Cultura positiva	TUBO N.º 30 Cultura positiva	TUBO N.º 31 Cultura negativa	TUBO N.º 32 Cultura negativa
TUBO N.º 33 Cultura positiva	TUBO N.º 34 Cultura positiva	TUBO N.º 35 Cultura positiva	TUBO N.º 36 Cultura negativa
TUBO N.º 37 Cultura positiva	TUBO N.º 38 Cultura positiva	TUBO N.º 39 Cultura negativa	TUBO N.º 40 Cultura positiva



V

L. F. 24 annos, branco, solteiro, brasileiro, carpinteiro.

(Da clinica do Dispensario Eduardo Rabello).

Forneceu material para sementeira em 8 tubos.

RESULTADOS :

Meio clara de ovo	Meio de Blaizot	Gelose-Ascite	Caldo-Ascite
TUBO N.º 41 Cultura positiva	TUBO N.º 42 Cultura positiva	TUBO N.º 43 Cultura negativa	TUBO N.º 44 Cultura positiva
TUBO N.º 45 Cultura positiva	TUBO N.º 46 Cultura positiva	TUBO N.º 47 Cultura negativa	TUBO N.º 48 Cultura negativa

VI

F. M. 25 annos, branco, solteiro, brasileiro, empregado no commercio.

(Da clinica do Dr. Armin Niemeyer).

Forneceu material para sementeira em 8 tubos.

RESULTADOS :

Meio clara de ovo	Meio de Blaizot	Gelose-Ascite	Caldo-Ascite
TUBO N.º 49 Cultura positiva	TUBO N.º 50 Cultura negativa	TUBO N.º 51 Cultura positiva	TUBO N.º 52 Cultura negativa
TUBO N.º 53 Cultura positiva	TUBO N.º 54 Cultura positiva	TUBO N.º 55 Cultura positiva	TUBO N.º 56 Cultura negativa

VII

A. S. 20 annos, branco, solteiro, allemão, em
pregado no commercio.

(Da clinica do Dr. Armin Niemeyer).

Forneceu material para sementeira em 8 tubos.

RESULTADOS :

Meio clara de ovo	Meio de Blaizot	Gelose-Ascite	Caldo-Ascite
TUBO N.º 57 Cultura positiva	TUBO N.º 58 Cultura negativa	TUBO N.º 59 Cultura negativa	TUBO N.º 60 Cultura negativa
TUBO N.º 61 Cultura positiva	TUBO N.º 62 Cultura positiva	TUBO N.º 63 Cultura positiva	TUBO N.º 64 Cultura negativa

VIII

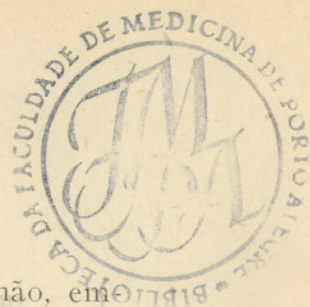
C. B. 18 annos, de côr mixta, solteiro, brasileiro,
chauffeur.

(Da clinica do Dispensario Eduardo Rabello).

Forneceu material para sementeira em 8 tubos.

RESULTADOS :

Meio clara de ovo	Meio de Blaizot	Gelose-Ascite	Caldo-Ascite
TUBO N.º 65 Cultura positiva	TUBO N.º 66 Cultura negativa	TUBO N.º 67 Cultura positiva	TUBO N.º 68 Cultura negativa
TUBO N.º 69 Cultura positiva	TUBO N.º 70 Cultura positiva	TUBO N.º 71 Cultura positiva	TUBO N.º 72 Cultura negativa



IX

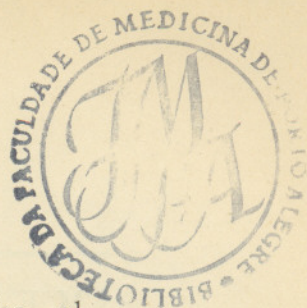
J. N. 15 annos, branco, brasileiro, collegial.

(Da clinica do Dispensario Eduardo Rabello).

Forneceu material para sementeira em 16 tubos

RESULTADOS :

Meio clara de ovo	Meio de Blaizot	Gelose-Ascite	Caldo-Ascite
TUBO N.º 73 Cultura negativa	TUBO N.º 74 Cultura positiva	TUBO N.º 75 Cultura negativa	TUBO N.º 76 Cultura positiva
TUBO N.º 77 Cultura negativa	TUBO N.º 78 Cultura positiva	TUBO N.º 79 Cultura positiva	TUBO N.º 80 Cultura negativa
TUBO N.º 81 Cultura positiva	TUBO N.º 82 Cultura negativa	TUBO N.º 83 Cultura positiva	TUBO N.º 84 Cultura negativa
TUBO N.º 85 Cultura positiva	TUBO N.º 86 Cultura negativa	TUBO N.º 87 Cultura positiva	TUBO N.º 88 Cultura negativa



X

I. A. 23 annos, branco, solteiro, rumaico, alfaiate

(Da clinica do Dispensario Eduardo Rabello).

Forneceu material para sementeira em 8 tubos.

RESULTADOS :

Meio clara de ovo	Meio de Blaizot	Gelose-Ascite	Caldo-Ascite
TUBO N.º 89 Cultura positiva	TUBO N.º 90 Cultura positiva	TUBO N.º 91 Cultura positiva	TUBO N.º 92 Cultura positiva
TUBO N.º 93 Cultura positiva	TUBO N.º 94 Cultura positiva	TUBO N.º 95 Cultura positiva	TUBO N.º 96 Cultura positiva

XI

F. P. 22 annos, branco, solteiro, allemão, mechanico.

(Da clinica do Dispensario Eduardo Rabello).

RESULTADOS :

Meio clara de ovo	Meio de Blaizot	Gelose-Ascite	Caldo-Ascite
TUBO N.º 97 Cultura positiva	TUBO N.º 98 Cultura positiva	TUBO N.º 99 Cultura positiva	TUBO N.º 100 Cultura positiva
TUBO N.º 101 Cultura positiva	TUBO N.º 102 Cultura positiva	TUBO N.º 103 Cultura positiva	TUBO N.º 104 Cultura positiva

XII

M. E. 30 annos, branco, solteiro, brasileiro,
empregado no commercio.

(Da clinica do Dispensario Eduardo Rabello).

Forneceu material para sementeira em 8 tubos.

RESULTADOS :

Meio clara de ovo	Meio de Blaizot	Gelose-Ascite	Caldo-Ascite
TUBO N.º 105 Cultura positiva	TUBO N.º 106 Cultura positiva	TUBO N.º 107 Cultura positiva	TUBO N.º 108 Cultura positiva
TUBO N.º 109 Cultura positiva	TUBO N.º 110 Cultura positiva	TUBO N.º 111 Cultura positiva	TUBO N.º 112 Cultura positiva

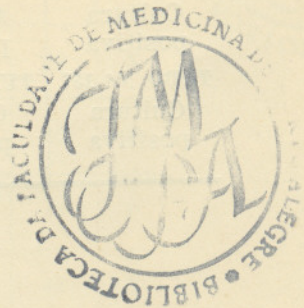
XIII

O material para a sementeira dos 32 tubos seguintes, foi fornecido pelas culturas precedentes, obtidas nos meios novos.

RESULTADOS DA REPLANTAÇÃO :

Meio clara de ovo	Meio de Blaizot	Gelose-Ascite	Caldo-Ascite
TUBO N.º 113 Cultura positiva	TUBO N.º 114 Cultura positiva	TUBO N.º 115 Cultura positiva	TUBO N.º 116 Cultura positiva
TUBO N.º 117 Cultura positiva	TUBO N.º 118 Cultura positiva	TUBO N.º 119 Cultura positiva	TUBO N.º 120 Cultura positiva

Meio clara de ovo	Meio de Blaizot	Gelose-Ascite	Caldo-Ascite
TUBO N.º 121 positiva Cultura	TUBO N.º 122 Cultura positiva	TUBO N.º 123 Cultura positiva	TUBO N.º 124 Cultura positiva
TUBO N.º 125 Cultura positiva	TUBO N.º 126 Cultura positiva	TUBO N.º 127 Cultura positiva	TUBO N.º 128 Cultura positiva
TUBO N.º 129 Cultura positiva	TUBO N.º 130 Cultura positiva	TUBO N.º 131 Cultura positiva	TUBO N.º 132 Cultura positiva
TUBO N.º 133 Cultura positiva	TUBO N.º 134 Cultura positiva	TUBO N.º 135 Cultura positiva	TUBO N.º 136 Cultura positiva
TUBO N.º 137 Cultura positiva	TUBO N.º 138 Cultura positiva	TUBO N.º 139 Cultura positiva	TUBO N.º 140 Cultura positiva
TUBO N.º 141 Cultura positiva	TUBO N.º 142 Cultura positiva	TUBO N.º 143 Cultura positiva	TUBO N.º 144 Cultura positiva



XIV

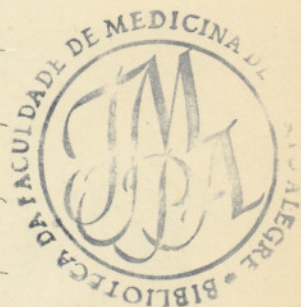
O material de que nos utilizamos para se-
meiar os 16 tubos restantes, foi retirado de uma
cultura de esperma, feita em gelose-sangue,
solicitada ao Laboratorio de Pesquisas Clinicas
pelo Dr. Armin Niemeyer para um doente de
sua clinica.

RESULTADOS DA REPLANTAÇÃO :

Meio clara de ovo	Meio de Blaizot	Gelose-Ascite	Caldo-Ascite
TUBO N.º 145 Cultura positiva	TUBO N.º 146 Cultura positiva	TUBO N.º 147 Cultura positiva	TUBO N.º 148 Cultura positiva
TUBO N.º 149 Cultura positiva	TUBO N.º 150 Cultura positiva	TUBO N.º 151 Cultura positiva	TUBO N.º 152 Cultura positiva
TUBO N.º 153 Cultura positiva	TUBO N.º 154 Cultura positiva	TUBO N.º 155 Cultura positiva	TUBO N.º 156 Cultura positiva
TUBO N.º 157 Cultura positiva	TUBO N.º 158 Cultura positiva	TUBO N.º 159 Cultura positiva	TUBO N.º 160 Cultura positiva

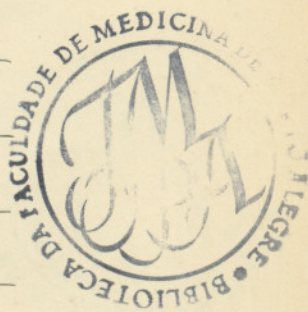
Quadro geral dos resultados

Meio Clara de ovo		Meio de Blaizot		Gelose-Ascite		Caldo-Ascite	
N.º dos tubos	Cultura	N.º dos tubos	Cultura	N.º dos tubos	Cultura	N.º dos tubos	Cultura
1	P	2	P	3	P	4	P
5	P	6	P	7	P	8	P
9	P	10	P	11	P	12	P
13	P	14	P	15	P	16	P
17	P	18	P	19	N	20	P
21	P	22	P	23	N	24	P
25	P	26	P	27	N	28	N
29	P	30	P	31	N	32	N
33	P	34	P	35	P	36	N
37	P	38	P	39	N	40	P
41	P	42	P	43	N	44	P
45	P	46	P	47	N	48	N
49	P	50	N	51	P	52	N



Meio Clara de ovo		Meio de Blaizot		Gelose-Ascite		Caldo-Ascite	
N.º dos tubos	Cultura	N.º dos tubos	Cultura	N.º dos tubos	Cultura	N.º dos tubos	Cultura
53	P	54	P	55	P	56	N
57	P	58	N	59	N	60	N
61	P	62	P	63	P	64	N
65	P	66	N	67	P	68	N
69	P	70	P	71	P	72	N
73	N	74	P	75	N	76	P
77	N	78	P	79	P	80	N
81	P	82	N	83	P	84	N
85	P	86	N	87	P	88	N
89	P	90	P	91	P	92	P
93	P	94	P	95	P	96	P
97	P	98	P	99	P	100	P
101	P	102	P	103	P	104	P

Meio Clara de ovo		Meio de Blaizot		Gelose-Ascite		Caldo-Ascite	
N.º dos tubos	Cultura	N.º dos tubos	Cultura	N.º dos tubos	Cultura	N.º dos tubos	Cultura
105	P	106	P	107	P	108	P
109	P	110	P	111	P	112	P
113	P	114	P	115	P	116	P
117	P	118	P	119	P	120	P
121	P	122	P	123	P	124	P
125	P	126	P	127	P	128	P
129	P	130	P	131	P	132	P
133	P	134	P	135	P	136	P
137	P	138	P	139	P	140	P
141	P	141	P	143	P	144	P
145	P	146	P	147	P	148	P
149	P	150	P	151	P	152	P
153	P	154	P	155	P	156	P
157	P	158	P	159	P	160	P



CAPITULO IV

CONCLUSÕES

I

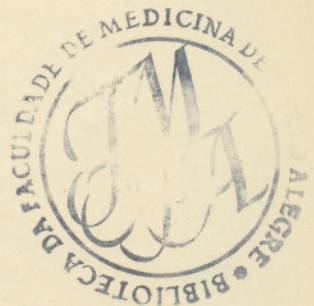
Os novos meios - clara de ovo e meio de Blaizot — são favoráveis ao desenvolvimento do gonococco.

II

Possuem grande sensibilidade.

III

São de preparação relativamente facil.



IV

São mais sensíveis do que a gelose-ascite e o caldo-ascite.

V

O meio clara de ovo não se presta para o isolamento do gonococco.