## Sobre o Polymorphismo do Bacillo Pyocyanico

DR. CICERO NEJVA Veterinario do S. de Ind. Pastoril do Estado

A acção dos antisepticos sobre o bacillo pyocyanico serviu de assumpto para os trabalhos experimentaes de Guignard e Charrin, que em 1887 verificaram as modificações que em sua forma experimenta o microbio de Gessard sob a acção de substancias varias, taes o acido phenico, o creozoto, o naphtol B, o thymol, o alcool, o bichromato de potassio, etc. Estudando cada producto addicionado á culturas do germen viram elles as mudanças morphologicas que ora eram formas longas ou filamentosas, ou formas curvas, espiraladas ou em coccus. Provaram assim que o meio de cultura não sendo normal, não apresentando a composição optima para a vida dos microbios, o bacillo vegeta, a principio modificado, para depois se acostumar, chegando ao seu typo característico.

Em outra serie de pequizas, Charrin e Roger tiveram a opportunidade de verificar a acção impedidora do sublimado, do gás sulphydrico. do oxigenio e do carvão animal sobre a producção da pyocyanina.

Gessard, em magnifico estudo sobre o microbio por elle descoberto, analysa a chromogenese, terminando por classificar 4 raças de seu bacillo . raça A, que produz pyocyanina e fluorescencia verde; raça P, só produzindo pyocyanina; raça F, productora de fluorescencia verde; e raça S, que não gera nem fluorescencia nem pyocyanina. A primeira se cultiva bem em caldo simples, emquanto que a segunda vegeta em meio de gelose pepto glycerinada, tendo a raça F a albumina do ovo como o seu melhor meio e é obtida pelo calor a 57°, por 5 minutos, sendo que a raça P, á mesma temperatura, semeada em caldo, não dá senão turvação, sem pigmento nenhum, isto é, a raça S.

In vitro, quizemos repetir parte dessas experiencias e conseguimos nosso desejo, confirmando os trabalhos já realizados anteriormente.

Partindo de amostras de bacillo pyocyanico, retiradas de bovinos, fizemos sementeiras em caldo simples, obtendo a pigmentação característica do germen, isto é, mistura de pyocyanina e fluorescencia verde. Empregando o meio aconselhado por Gessard, a gelose pepto glycerinada, conseguimos de repiques das nossas primeiras culturas, magnifica producção do pigmento azul, somente. Era a raça P. Pelo emprego do chloroformio fizemos a extracção da pyocyanina, que se depositou, após evaporação do liquido azul resultante, em finas agulhas.

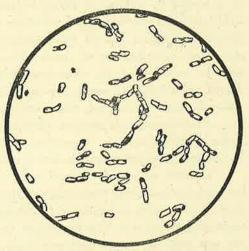
Com o tempo a côr azul dos meio das cultura escurece, vindo a ficar ennegrecida. Desta raça P fizemos successivos repiques em outros meios que não o então empregado e proprio, obtendo sempre culturas com

as duas pigmentações.

A albumnina do ovo serviu nos para a demonstração da fluorescencia verde, conseguida facilmente nesie meio. Gessard conclue em seus trabalhos que as raças P e S, semeadas na albumina não geram mais a fluorescencia verde. Entretando, repicando essas duas raças, em meio de albumina de ovo, foi-nos dado verificar o apparecimento da fluorescencia. Haveria con-

taminação em nossas culturas? Parece nos improvavel, porque, tudo fizemos systematicamente, verificando, isolando, annotando toda a marcha de nossas pesquizas. O que é verdade é que, mais de uma vez, conseguimos a fluorescencia verde. Não apparecia ella, após 24 horas, senão em dois tubos, caracterisando-se, em outros tubos, depois de varios dias.

Experimentamos cultivar o bacillo em meios francamente acidos e o conse-

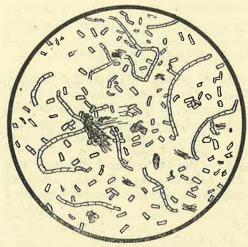


Cultura de bacillo pyocyanico addicionada de bichromato de potassio (Desenho do autor)

guimos, mas ahi perde elle a propriedade de secretar seus pigmentos. Com pH 5,8, repicamos não somente a raça A, como a raça P e obtinhamos sempre vegetação do germen com apenas turvação do meio. Gessard conseguia a sua raça despigmentada, pelo calor. Não teriamos nos conseguido em meio acido, a raça S? Continuando o emprego de meios menos acidos, notamos que em pH 6,0 já se esboça francamente na turvação obtida, qualquer coisa de colorido, um pouco mais notavel em pH 6,2 colorido, todavia, não bem definida. E' evidente que o ponto optimo pára a vida normal do b. pyocyanico é a zona neutra ou tendendo para alcalanidade. A prova disso é que todas as demais experiencias que fizemos, eram fei-

tas em meios que accusavam pH 7,2 ou mesmo 7,4. Passando, sempre das culturas obtidas em meio acido, isto é, do microbio sem pigmento, para meios de pH optimo, as pigmentações voltam immediatamente, o bacillo torna a secretar a pyocyanina e a fluorescencia verde.

Estendemos tambem, nossas pesquizas sobre a acção dos varios antisepticos Faziamos culturas, em geral, de A e P, mas em alguns casos partiamos de germens F e S. Tratava se de verificação da morphologia, de maneira que a raca em nada influia Em meios addicionados de bichromato de potassio e alcool a 70° e examinados após 20 horas de estufa a 37°, appareceram formas longas, filamentosas. Após 44 horas de vegetação ha via ainda filamentos, tendendo as formas longas verificadas para divisões,



Cultura de bacillo pyocyan co, addicionada de alcool a creosoto dao predominancia de 700. (Desenho do autor)

dando bacillos mais ou menos regulares, havendo a presenca de coccobacillos. Nota-se que a proporção que envelhece a cultura as formas regulares apparecem, em meio ainda de raros bacillos disformes, curtos cu grossos ou em forma de coccos.

Com addição de acido borico na razão de 0,70 º/o appareciam modificações lembrando espiraes, raras entretanto, formas recurvadas, em coccobacillos e mesmo alguns bacillos longos.

O acido phenico e o formas em coccos e alguns

bastinetes modificados. Verificamos que, em geral, nos meios de culturas addicionados de antisepticos o bacillo vegetava, em alguns casos por exemplo, como com o creosoto sem pigmentação alguma. Neste caso havia turvação somente e nenhum colorido. De um modo geral as culturas se verificam com os antisepticos em doses não toxicas a vida do germen, mas apresentando modificações de morphologia e tambem de aspecto que, quasi sempre, é incolor ou de pigmentação duvidosa.

Como querem mesmo os auctores, estas modificações de formas, são verdadeiras involuções que soffrem os bacillos, para chegarem, mais tarde, a forma typica. E valemo-nos do bacillo pyocyanico, porque é elle, entre os demais germens, que se presta bem para experiencias como estas, demonstradoras das modificações morphologicas. Esta claro, aqui as involuções tornamse frequentes devido ao meio que encontram os gemens para a sua vegetação.

Manguinhos, 1927.